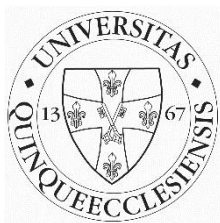

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET NEUROPROTEKTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA



DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Horváth Gábor

Anatómiai Intézet

Általános Orvostudományi Kar

Pécsi Tudományegyetem, Pécs

Témavezető:

Dr. Reglődi Dóra
egyetemi tanár

Dr. Kiss Péter
egyetemi adjunktus

Programvezető:

Dr. Csernus Valér
egyetemi tanár

Doktori Iskola vezetője:

Dr. Szekeres Júlia
egyetemi tanár

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	1
BEVEZETÉS	3
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET.....	3
A ZENEI INGERGAZDAGSÁG.....	7
SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ.....	9
HIPOFÍZIS ADENILÁT CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP).....	10
NÁTRIUM-GLUTAMÁT (MONOSODIUM-GLUTAMÁT, MSG).....	11
ASPHYXIA.....	13
KORAI POSZTNATÁLIS FEJLŐDÉS.....	15
CÉLKITŰZÉSEK	16
ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	17
KÍSÉRLETI ÁLLATOK.....	17
<i>Patkány modell</i>	17
<i>Tengerimalac modell</i>	18
KEZELÉSEK.....	19
<i>Ingergazdag környezet</i>	19
<i>Zenei ingergazdagság</i>	21
<i>Nátrium-glutamát kezelés</i>	22
<i>Kétoldali artéria carotis communis lekötése</i>	22
<i>Asphyxia</i>	23
A NEUROLÓGIAI JELEK ÉS REFLEXEK VIZSGÁLATA.....	23
<i>Felegyenesedési (righting) reflexek</i>	25
<i>Negatív geotaxis</i>	26
<i>Keresztezett extensor reflex</i>	26
<i>Fülrángás reflex</i>	27
<i>Szemhéjreflex</i>	28
<i>Végtag kontakt ráhelyezési (placing) reflex</i>	28
<i>Taktilis fogóreflex (grasping)</i>	29
<i>Elmozdulási reflex (gait)</i>	30
<i>Akusztikus megrettenési reflex</i>	30
MOTOROS KOORDINÁCIÓ VIZSGÁLATA.....	31
<i>Lépésszám és lépéshiba teszt</i>	31
<i>Függeszkedési teszt kötélén</i>	32
<i>Rotarod (mókuserék) teszt</i>	33
<i>Mozgás iniciációs teszt</i>	33
<i>Kapaszkodási teszt megdöntött deszkán</i>	33
TEJMINTA GYŰJTÉS (FEJÉS).....	34
SZÖVETTANI VIZSGÁLATOK.....	34
RADIOIMMUNOASSAY MÉRÉS.....	36
STATISZTIKAI ELEMZÉS.....	37
EREDMÉNYEK	39
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE.....	39
<i>Szomatikus fejlődés</i>	39
A testtömeg változása.....	39
Fizikális paraméterek és reflexfejlődés.....	40
<i>Motoros koordináció</i>	42
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE.....	45
<i>Szomatikus fejlődés</i>	45
A testtömeg változása.....	45
Fizikális paraméterek és reflexfejlődés.....	46
<i>Motoros koordináció</i>	49

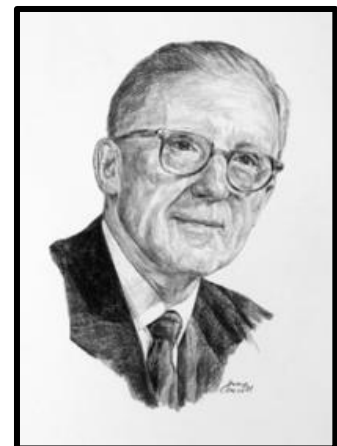
A ZENEI INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE.....	51
<i>Szomatikus fejlődés</i>	51
A testtömeg változása	51
Fizikális paraméterek és reflexfejlődés	52
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENSZERI PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA FIATAL ÉS FELNŐTT PATKÁNYOKBAN.....	54
<i>PACAP szintek a 3 hetes patkányok központi idegrendszerében</i>	55
<i>PACAP szintek a felnőtt patkányok központi idegrendszerében</i>	56
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA TENGERIMALAC TEJBE.....	58
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ ÁLTAL INDUKÁLT NEMI KÜLÖNBSÉGEK ISCHEMIÁS RETINA LÉZIÓS PATKÁNYMODELLBEN	59
<i>A kétoldali arteria carotis communis lekötés hatása kis ketrechen való regeneráció esetén</i>	60
<i>A kétoldali arteria carotis communis lekötés hatása komplex ingergazdag környezetben való regeneráció esetén</i>	60
<i>A kétoldali arteria carotis communis lekötés hatása szociálisan izolált környezetben való regeneráció esetén</i>	61
MEGBESZÉLÉS	64
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE	64
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE	66
A ZENEI INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE.....	69
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENSZERBEN ÉS TEJBE EXPRESSZÁLÓDÓ PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA	70
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ ÁLTAL INDUKÁLT NEMI KÜLÖNBSÉGEK ISCHEMIÁS RETINA LÉZIÓS PATKÁNYMODELLBEN	72
ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TÁVLATI CÉLOK	74
IRODALOMJEGYZÉK	76
A DOLGOZATBAN SZEREPLŐ KÉPEK FORRÁSA	99
A PHD DOLGOZAT ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK	100
EGYÉB KÖZLEMÉNYEK	100
TUDOMÁNYOS MUTATÓK	101
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	102

BEVEZETÉS

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET

Az agyi struktúrák kialakulása, kifejlődése és a megfelelő kapcsolatok létrehozása egy komplex folyamat, amit in utero genetikai, környezeti és farmakológiai faktorok is befolyásolnak. A genetikai és farmakológiai tényezők viszonylag széles körben már régebb óta vizsgált faktorok, mivel könnyebb azokat valamilyen fejlődési rendellenességgel összekapcsolni, vagy külső gyógyszeres hatással befolyásolni. A környezet központi idegrendszeri fejlődésre kifejtett jelentőségét - azon belül is az ingergazdag környezet pozitív hatását és annak fontosságát - először egy véletlen kapcsán sikerült bizonyítani.

Donald O. Hebb (1. ábra), kanadai neuropszichológus 1947-ben hazavitt néhány újszülött patkányt laboratóriumából gyermekeinek, akik háziállatnak kapták a patkányokat, játszottak velük, ingergazdaggá tették az állatok környezetét. Mikor a gyermekek érdeklődése csökkent az állatok iránt, a kutató visszavitte őket laborjába, ahol véletlenül vette észre, hogy az ideiglenesen ingergazdag környezetben tartott állatok feladatmegoldó képessége jobb lett, mint a folyamatosan laborban tartott társaiké (Hebb, 1947).



1. ábra: Donald O. Hebb (1904-1985)

Hebb első észrevételeit követően kísérletek sorozata kezdődött meg az ingergazdag környezet hatásaival kapcsolatban. A véletlen felfedezés óta eltelt 68 év során sok kutató, kutatócsoport munkája által sikerült bizonyítani az ingergazdag környezet szerteágazó pozitív hatásait. Az ingergazdag környezettel szorosan összefügg a neuronális plaszticitás, a modernkori neurobiológia egyik központi témája. A környezeti ingergazdagság részletes leírása több oldalról is megközelíthető: molekuláris mechanizmusoktól kezdve a celluláris folyamatokon át az állatok és emberek viselkedésén/magatartásán keresztül. Annak ellenére, hogy az ingergazdag környezettel kapcsolatos kutatások immár több mint hat évtizedre tekintenek vissza, még ma is a

neurobiológia aktívan kutatott területe, mivel számtalan kérdés vár még megválaszolásra.

Az ingergazdag környezet következő típusait különíthetjük el (Young, 2003):

1. szenzoros ingergazdagság: vizuális, olfaktorikus, auditoros és taktilis stimulusokkal;

2. táplálkozási ingergazdagság: az állatok táplálék megszerzési magatartásán keresztül hat (a természetes környezetet utánozza fogságban tartott állatok esetén);

3. manipulatív ingergazdagság: játékok, eszközök segítségével az állatok explorációját lehet fokozni;

4. motoros ingergazdagság: mozgási lehetőséget nyújtó eszközökkel;

5. szociális ingergazdagság: szociális interakciókon keresztül hat.

Az ingergazdag környezetben tartott állatok esetén az egyik legfontosabb, leghatékonyabb változás Hebb eredeti megfigyeléseinek megfelelően egyes motoros, memória és tanulási képességek javulása. Az ingergazdag környezetben tartott egerek a water-maze tesztet jobban teljesítették, mint hagyományos laboratóriumi körülmények között tartott társaik (Wainwright et al., 1993). A térbeli memória tesztekben (T-maze teszt) is jobb eredményt mutatnak az ingergazdag állatok (Bernstein, 1973). A tanulás hatékonyabb akkor, ha a több mozgást ingergazdagsággal kombináljuk, mint ha ingergazdag környezet nélkül önmagában több mozgást végeznek az állatok. (Bekinschtein et al., 2011; Bechara és Kelly, 2013; Xie et al., 2013)

Az ingergazdag környezet által okozott viselkedésbeli változások okai, azok fő mechanizmusai részben ismertek:

Megváltozik a neurotrófikus faktorok expressziója: az IGF (insulin-like growth factor, Aberg et al., 2000), a BDNF (brain-derived neurotrophic factor, Falkenberg et al., 1992; Neeper et al., 1995; Rasika et al., 1999), az NGF (nerve growth factor, Mohammed et al., 1993; Pham et al., 1999), a GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor, Young et al., 1999), az FGF (fibroblast growth factor, Kuhn et al., 1997) szint nő. Ezek közösen szintén hozzájárulnak az agyi plaszticitáshoz. Ezeken túl egyes neurotranszmitterek szintjét is befolyásolja a környezet. Nő az acetilkolin szintje

(Por et al., 1982), és a szerotonin 1A receptor mennyisége (Rasmuson et al., 1998), valamint a szerotoninon keresztüli útvonalak aktiválása (Chaouloff, 1989), így segíti elő az ingergazdag környezet a szerotonin hatását. Fokozott az opioid rendszer aktivitása (Sforzo et al., 1986), valamint a noradrenaliné is (Soares et al., 1999).

Ezek mellett az ingergazdag környezet csökkenti az apoptózist (Young et al., 1999), növeli a kapcsolatok számát az agykéreg, kisagy és striátum, valamint a hippocampus területén, ez utóbbi agyterületen pedig a glutamát rendszer serkentése révén javítja a memóriát (Falkenberg et al., 1992; Rosenzweig és Bennett, 1976; Takuma et al., 2014).

Az ingergazdag környezet nemcsak neurokémiai, hanem mikroszkópos és makroszkópos anatómiai eltérésekhez is vezet: Altman volt az első kutató, aki leírta a hippocampusban történő felnőttkori neurogenézist. Eredményei arra utalnak, hogy az agykéregben nő a gliogenezis ingergazdag környezet hatására (Altman, 1962). Főként az oligodendroglia sejtek száma mutat növekedést, de az astrocyta sejtszám is magasabb (Szeligo és Leblond, 1977). Az ingergazdagság serkenti a neurogenézist is egyes agyterületeken (gyrus dentatus - Kemperman et al., 1997, 1998). Ezen kívül elősegíti a szinapszisok képződését (Rosenzweig és Bennett, 1976), fokozza az angiogenezist (Blacket al., 1990), növeli az agy tömegét, a kéreg vastagságát (Altman et al., 1968; Klein et al., 1996), valamint a kérgi neuronok perikarion és a sejtmag mérete is nő (Diamond et al., 1967). Dúsabb a dendritek elágazódása és a fokozott a dendrit tüskék száma az ingergazdag környezet hatására (Globus et al., 1973; Greer et al., 1982).

Az ingergazdag környezet elektrofiziológiai elváltozásokat is okoz. Ingergazdagság hatására az excitátoros posztszinaptikus potenciál fokozott a gyrus dentatusban (Foster et al., 2000; Green et al., 1986), valamint a hippocampusban (Sharp et al., 1985).

Két fő hipotézis létezik azzal kapcsolatban, hogy az ingergazdag környezet pontosan hogyan, milyen mechanizmusokon keresztül fejti ki fent részletezett hatását.

1. Az ún. arousal (ébredési) teória szerint az ingergazdag környezet által kiváltott „ébredési válasz” a döntő tényező.

2. A tanulási és memória hipotézis alapján viszont a tanulási folyamat molekuláris mechanizmusai töltenek be lényeges szerepet a morfológiai változások kialakításában.

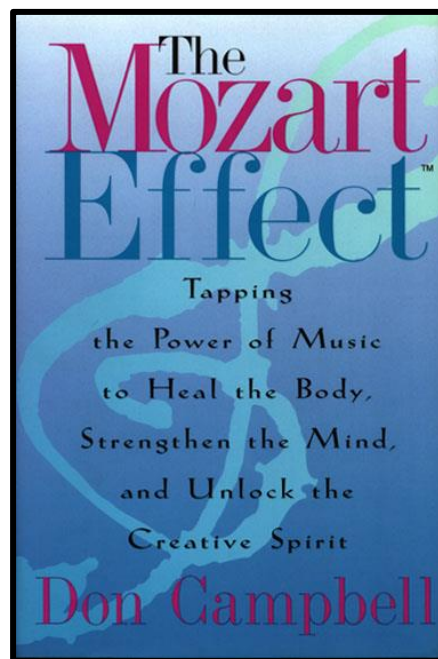
Az utóbbi elmélet széles körben elfogadott. Az ingergazdag környezet hatásmechanizmusával kapcsolatos egyik kérdés, hogy a tanuláshoz, vagy a nagyobb élettérben való több önkéntes mozgáshoz köthető-e a kiváltott pozitív hatás? A szakirodalomban ezzel kapcsolatban több, egymással látszólag ellentétes kutatási eredmény olvasható. Kempermann 1997-ben leírta, hogy a hippocampus területén az újszülöttkori neuronok nagyobb számban túlélnek az ingergazdag környezet hatására. A gyrus dentatusban 57%-al több sejt maradt életben, de a sejtproliferációra a környezet nem volt hatással. Van Praag és munkatársai (1999) azt találták, hogy a gyrus dentatusban tanulás hatására nem változott a neuronok száma, vagyis a hippocampus-függő tanuláshoz nem volt erre vonatkozó hatása. Ugyanebben az évben Gould és munkatársai (1999) megfigyelték, hogy tanulás hatására a felnőttkorban létrejövő idegsejtek száma megduplázódott. A látszólagos ellentét feloldásaként Greenough és munkatársai (1999) azt a következtetést vonták le, hogy a két munkacsoport kísérletei közötti jelentős különbség az eltérő technikából fakadhat. A tanulás hatékonyságára utal Ambrogini és munkatársainak (2000) eredménye is, ami megerősítette Gould és kollégáinak (1999) felismerését. Az ingergazdag környezet hatásainak manifesztációihoz szükséges az abban való aktív részvétel. Az ingergazdagságnak a megfigyelése egyedül nem jár pozitív hatásokkal (Ferchmin és Bennett, 1975). Az önkéntes mozgás befolyásolja a sejtproliferációt és a neuronok átrendeződését a gyrus dentatusban (Van Praag et al., 1999). A fentebb említett ismeretek alapján elmondható, hogy az ingergazdag környezet különböző tényezői (tanulás, mozgás) egyaránt befolyásolják az agyi plaszticitást. A több, részletesebben fel nem térképezett molekuláris és celluláris útvonalakon keresztül ható folyamat végső soron teljesen azonos, vagy nagyon hasonló mértékű anatómiai és fiziológiai eredményekhez vezet (van Praag et al., 2000).

Munkacsoportunk kísérletei során különböző ingergazdag környezeti típusokat használtunk fel állatmodelljeinkben. A szenzoros, motoros és szociális ingergazdagságot megnövelt élettérbe helyezett különféle tárgyakkal hoztuk létre. Használtunk speciális szenzoros ingergazdag környezetet („zenei ingergazdagság”) is, valamint az ingergazdagság hatásait egyéb, nem környezeti faktorról együtt is vizsgáltuk. Ezek között negatív hatások (asphyxia, glutamát kezelés) és pozitív hatások (PACAP kezelés) szerepeltek. Vizsgáltuk továbbá az ingergazdagság ellentétéként a szociális izolációt.

A zenei ingergazdagság a már korábbiakban említett ingergazdag környezeti típusok szenzoros csoportjához sorolható. Az alkalmazott auditoros környezeti faktor főként a hallópályán keresztül stimulálja a központi idegrendszert, azonban nem csak a hallókéregben fejt ki hatását, hanem annál komplexebben, más agyterületeken is aktivációt eredményez (Roy et al., 2014).

A zene hatásairól ember viszonylatában számos tudományos vizsgálat, eredmény született már. Ismert a klasszikus zene jótékony pszichológiai hatása a mentális egészségre. Irodalmi adatok igazolják, hogy mind a szubjektív kedvre (McCraty et al., 1998; Sousou, 1997), mind a viselkedésre (Ragneskog et al., 1996; Yalch és Spangenberg, 2000) hatással van a zene. Egyes úgynevezett ‘designer’ zenék (speciális hatások kiváltására komponált művek) növelni tudják a mentális frissességet, az ellazulást és energizáló hatással bírhatnak, míg egyes alternatív rock zenék növelik az ellenséges érzéseket, a szomorúságot, a feszültséget és a fáradtságot (McCraty et al., 1998), vagyis az eltérő típusú zenék eltérő hatással bírhatnak.

Irodalmi adatok azt mutatják, hogy a zenei képzésben részt vevő emberek verbális memóriája, nyelvtanulási-, olvasási-, és egyéb kognitív képességei is szignifikánsan jobbak, mint azoké, akik zenei tanulmányokat nem folytattak (Miendlarzewska és Trost, 2014). A zene emberekre gyakorolt hatása kapcsán közismert, elterjedt a Mozart hatásnak nevezett feltételezés. E szerint a komolyzene (például a Mozart szonáták hallgatása) előnyösen hat az emberekre. A Bellarmine Egyetem vizsgálatai alátámasztják ezt a térbeli gondolkodás tekintetében. Electroencephalográfiás (EEG) vizsgálatok igazolják, hogy a Mozart szonáták képesek epilepsziás betegek esetében az epileptiform jelek csökkenését előidézni. Ismert, hogy a klasszikus zene pozitív hatású a hosszú távú memóriára, valamint strukturális és funkcionális változásokat indukál a hippocampus



2. ábra: Don Campbell: *The Mozart Effect* című kötete

területén (Groussard et al., 2010). A Mozart effektus a tudományon túl azonban a popularitás irányában is teret hódított, ezt mutatja Don Campbell két ezzel kapcsolatos kötete (The Mozart Effect: Tapping the Power of Music to Heal the Body, Strengthen the Mind, and Unlock the Creative Spirit. Quill, 2001, ISBN-10: 0060937203; The Mozart Effect for Children: Awakening Your Child's Mind, Health, and Creativity with Music. William Morrow, 2002, ISBN-10: 0380807440) és zeneválogatása (2. ábra). Fontos megjegyezni azonban, hogy a Mozart hatás tudományos cáfolatai is megjelentek (Chabris 1999), így a hatás „mindenhatóságával” kapcsolatos hittel vagy tévhittel összefüggő következtetések alapos körütekintést igényelnek.

A klasszikus zene nemcsak az emberek, hanem az állatok magatartására és élettani folyamataira is hatással van (Fekete és Theodora, 2013; Fekete és Korsos, 2013; Fekete et al., 2014). Gvaryahu és munkatársai (1989) leírták, hogy csirkékben a klasszikus zene hatására a növekedés mértéke nőtt, bár ezen kísérlet kapcsán néhány évvel később Newberry (1995) aggálllyal élt, hogy valóban standardizálva voltak-e a vizsgálat körülményei. Viszont egy későbbi vizsgálat (Papoutsoglou et al., 2007) azt találta, hogy Mozart szonáták hatására a közönséges pontyok növekedése fokozódott. Nem csak a növekedésre, de gyulladássos faktorokra is hatással van a klasszikus, Mozart szonátákból álló zene: patkány asthma bronchiale modellben csökkent az interleukin és corticosteron szint az állatokban (Lu et al., 2010). Magatartásvizsgálatok megerősítik és támogatják a klasszikus zene potenciálisan pozitív hatását az állatok jólétének fenntartása kapcsán. Wells és munkatársai (2002a, 2006, 2008) tanulmányok sorozatát végezték Strauss, Mozart, Bach, Grieg és más klasszikus szerzők alkotásaival.

Egyéb állatmodellek tekintetében is ismertek irodalmi adatok a zene hatásairól (Wells, 2009). Már a késői gesztáció időszakában hatással van az embrióra a kívülről érkező hanginger (Kim et al., 2006; Rauscher et al., 1998; Sheikhi és Saboory, 2015). Ebben az időszakban a zajártalom bizonyítottan negatív hatású: növeli a prenatális mortalitást, központi idegrendszeri fejlődési rendellenességek kialakulásához vezet, hatással van a későbbi immunrendszeri működésre (Lu et al., 2010) és a szociális kapcsolatokra (Videan et al., 2007). A szakirodalomban ismertek a prenatális zene pozitív hatásai: elősegíti az agy fejlődését, fokozza a neurogenézist a hippocampus területén, valamint pozitív hatással van a posztnatális motoros fejlődésre és tanulási képességekre (Kim et al., 2006). A komplex ritmusos zene csirkékben növeli a synaptophysin és a PSD-95 expresszióját, valamint a látó és hallórendszer plaszticitását. (Roy et al., 2014). Számos más tanulmány igazolja, hogy a perinatális zene többféle

mechanizmuson keresztül hatva (fokozott neurogenesis a hippocampus területén, fokozott neurotrophin szintézis és glutamát jelátvitel) modulálja a rágsálókban a központi idegrendszer fejlődését és a neuroplaszticitást (Amagdei et al., 2010).

Jonge és munkacsoportja 2008-ban bizonyította, hogy a posztnatális zene növeli az állatok játékosságát, vagyis az állatok jólétében fontos szereppel bír. Kutyák esetén a zene szignifikánsan csökkentette az ugatás mennyiségét, ezzel párhuzamosan növelte a nyugalomban eltöltött időt (Wells et al., 2002a). Tengerimalacok esetén a háttér zaj elmaszkírozásával a zene az alapjában véve félnék és ideges természetű állatfaj esetén szintén pozitív hatással rendelkezett (van de Weerd és Baumans, 1995). A zene patkányokban a vese erek szimpatikus tónusának csökkentésén keresztül a vérnyomást csökkentette (Nakamura et al., 2007).

Vizsgálataink során felmerült a zenei adaptáció kérdése. A zenei ingergazdagság és adaptáció összefüggése kapcsán adatok nem ismertek. Rövid idejű, egyszerű hangingerek auditoros adaptációjáról ismert néhány - főként elektrofiziológiai és celluláris - vizsgálati eredmény (Abolafia et al., 2011; Herrmann et al., 2015; Ulanovsky et al., 2004), viszont az általunk alkalmazott hosszútávú és összetett hangingerekkel kapcsolatos adaptáció részletei nem ismertek.

SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ

Mivel a környezeti faktorok között fontos szerepe van a társas kapcsolatoknak, így az ingerszegény környezet jól modellezhető szociálisan izolált rágsáló állatmodellben (van Praag et al., 2000). A szociális érintkezés jelentős hatással van az idegrendszer alakulására, fejlődésére. A szociális izoláció során az elkülönített állatoknál a központi idegrendszer szerkezetét és funkcióját érintő negatív hatások jelentkeznek (Leasure és Decker, 2009; Takemoto et al., 1975), és számos sérülés kimenetele súlyosabb formában manifesztálódik. Görcsök esetén szociálisan izolált állatoknál nagyobb mértékű neuron károsodás és fokozottabb microglia aktiváció lép fel (Kazl et al., 2009). Ezek az eltérések az esetek többségében ellentétes előjelűek az ingergazdag környezet által okozott elváltozásokhoz képest, ezért választottuk kísérletsorozatunkban mint negatív hatású környezeti faktort.

Az értekezésben nem csak a környezeti faktorokat önmagukban, hanem különféle módon kezelt állatok esetén is vizsgáltuk. A kezelések között pozitív (hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid) és negatív (nátrium-glutamát) hatású is volt.

HIPOFÍZIS ADENILÁT CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP)

A hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid (angol nevének rövidítéséből PACAP) egy neuropeptid, amit először Arimura és munkatársai (Miyata et al., 1989) izoláltak birka hipotalamusból, de később igazolták jelenlétét a központi és a környéki idegrendszer más területein is. A PACAP a VIP-secretin-glukagon peptidcsaládkhoz tartozik, két biológiailag aktív formája van, a PACAP27 és a PACAP38. Nem sokkal az 1989-es felfedezést követően világossá vált, hogy a PACAP elősegíti a neuronális növekedést és differenciációt, valamint jelentős szerepet játszik az idegrendszer fejlődésében is (Basille-Dugay et al., 2013; Holighaus et al., 2012; Kambe és Miyata, 2012; Lee et al., 2015; Nakamachi et al., 2011; Yan et al., 2013).

PACAP génhányos (KO) egerek makroszkóposan nem különböznek a vad egerektől, de alaposabb vizsgálatokkal kimutathatóan különféle rendellenességeket mutatnak. Ugyanez jellemzi a PAC1 receptor hiányos állatokat is (Allais et al., 2007; Falluel-Morel et al., 2008). Az agy teljes kifejlődését követően a PACAP expresszió csökkenést mutat, de a neuropeptidnek fontos szerepe van még a felnőtt idegrendszerben. A neuronális plaszticitás egy sérülést követő idegrendszeri átrendeződés, újraszerveződés, ami különböző mechanizmusokkal történik. Az egyik ilyen mechanizmus a PACAP, ami up-regulálódik különféle sérülések esetén. Jelentős neuroprotektív hatása van traumás, ischemiás és toxikus károsodások, valamint különféle neurodegeneratív megbetegedések esetén (Bourgault et al., 2009; Nakamachi et al., 2012; Reglodi et al., 2011; Tsuchikawa et al. 2012; Waschek, 2013). A PACAP KO egerek érzékenyebbek különböző toxikus és ischemiás károsodásokra (Hori et al. 2013; Purrier et al., 2014; Reglodi et al., 2012; Tsumuraya et al., 2015).

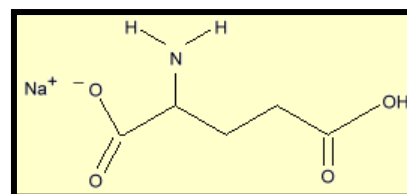
Tanulmányunkban a PACAP-pal kapcsolatos kutatás célja egy eddig még kevésbé vizsgált terület, az ingergazdag környezet és PACAP kapcsolata. Bizonyított, hogy ingergazdag körülmények között az endogén PACAP részben szerepet játszik a

gyrus dentatus területén új sejtek képzésében (Ago et al., 2011). A fejlődés korai időszakában a PACAP hiányos állatok abnormális viselkedését az ingergazdag környezet nagymértékben képes befolyásolni és a normális irányba elmozdítani (Ischihama et al., 2010). Ezt megerősítve a közelmúltban Takuma és munkatársai (2014) leírták, hogy az ingergazdag környezet csökkenti a PACAP KO egerekben a hiperaktivitást, az ugráló magatartást, a szociális kapcsolati problémákat, és depressziószerű viselkedést. Az ingergazdag környezet képes hosszú távon csökkenteni a PACAP KO állatok memóriazavarát.

A PACAP nem csak az idegrendszerben, hanem különböző testnedvekben, így például az anyatejben is megtalálható. Munkacsoportunk ezt már korábban kimutatta különféle emlősállatokban, valamint emberben (Csanaky et al., 2012; Csanaky et al., 2013; Czeglédi et al., 2011). Igazoltuk, hogy a tejben a szérum szintjéhez viszonyítva tízszeres mennyiségben fordul elő a PACAP. Ennek jelentősége egyelőre nem ismert. Feltételezzük, hogy az anyatej PACAP tartalma fontos lehet az utódokban a bélrendszer fejlődésében, de hozzájárulhat az idegrendszer fejlődéséhez is.

NÁTRIUM-GLUTAMÁT (MONOSODIUM-GLUTAMÁT, MSG)

A glutamát az egyik leggyakrabban előforduló excitátoros neurotranszmitter az agyban, de ugyanakkor excitotoxin is (Segura-Aguilar és Kostrzewa, 2004): a nagyobb mennyiségben felszabaduló glutamát az NMDA Ca^{2+} -csatorna receptorokon keresztül túlserkentést létrehozva neuronpusztulást idéz elő (Chaparro-Huerta et al., 2002; Dawson et al., 1981; Pesini et al., 2004). Ennek megfelelően az MSG (3. ábra) a motoros, valamint kognitív és egyéb (endokrin) funkciókban egyaránt károsodásokat hoz létre (Archer et al., 2002, 2003; Beninger et al., 2002; Harry, 1998; Kostrzewa et al., 2003; Palomo et al., 2003; Reddy et al., 2002). A nátrium-glutamát élelmiszer adalékanyagként is ismert, ízfokozóként széles körben alkalmazott szer (E621 ételízesítő adalék) az élelmiszeriparban. Felnőtt emberben csak minimális hatást tulajdonítanak a nátrium-glutamátnak. Egyik jelentősebb, az ún. kínai étterem szindrómaként ismert hiperszenzitív reakció, melyet



3. ábra: A nátrium-glutamát kémiai szerkezete

nagy mennyiségben az ételekbe adagolt ízfokozók hatásainak tulajdonítanak. A reakció az étkezés közben vagy röviddel utána jelentkezhethet hányingerrel, hideg verítékezéssel, szédüléssel, ájulással, forróságérzettel az arcon, nyakon, vállakon és a gerinc mentén, valamint fejfájás, heves szívdobogásérzet kísérheti. Mivel az MSG a kifejlett és megfelelően záródott vér-agy gáton normál körülmények között nem jut át jelentős mennyiségben, így felnőtt emberben maradandó idegrendszeri károsodást jelenlegi ismereteink szerint nem okoz (McCall et al., 1979). Újszülöttkori káros hatásai azonban bizonyítottak (Gudino-Cabrera et al., 2014). Emiatt több nemzetközi (főként az Egyesült Államokban bejegyzett) szervezet tiltakozik az MSG élelmiszeripari alkalmazása ellen, és annak betiltását követelik.

Az újszülött patkányoknak adott nagy dózisú subcutan MSG kezelés súlyos elváltozásokat okoz: neuronpusztulást a nucleus arcuatusban, a retina belső rétegeiben és számos egyéb agyterületen (Arees és Mayer, 1970; Beas-Zarate et al., 2002; Chaparro-Huerta et al., 2002; Gonzalez-Burgos et al., 2001; Heiman és Ben-Jonathan, 1983; Ishikawa et al., 1997; Kubo et al., 1993; Olney, 1969; Pesini et al., 2004; Stricker-Krongrad és Beck, 2004; van Rijn et al., 1986). A retinális károsodást és ennek kivédési lehetőségeit munkacsoportunk már korábban vizsgálta (Atlasz et al., 2008; Babai et al., 2005, 2006; Tamás et al., 2004). Ezen kívül kimutathatóak endokrinológiai, neurokémiai és cirkadián változások (Dawson és Lorden, 1981; Kim et al., 2005; Lengvári, 1977; Mistlberger és Antle, 1999; Miyabo et al., 1985; Schoelch et al., 2002; Urena-Guerrero et al., 2003). A glutamát neurotoxicitása a motoros, a szenzoros és a tanulási képességek változásaiban is megnyilvánul (Dubovicky et al., 1997; Fisher et al., 1991; Iwata et al., 1979; Saari et al., 1990). Irodalmi adatok vannak arra vonatkozóan, hogy a glutamát-kezelt patkányok farokrángási reflexideje megnyúlik, és mancsuk markolásának ereje csökken (Fisher et al., 1991; Iwata et al., 1979; Squibb et al., 1981). A fent említetteken túl munkacsoportunk korábban már széles körben vizsgálta a neurológiai reflexteljesítményre és motoros koordinációra vonatkozó hatásait (Kiss et al., 2005). A lokomotoros aktivitásról szóló adatok ugyanakkor nem egyöntetűek: különböző szerzők mind hyper-, mind hypoaktivitást figyeltek meg (Araujo és Mayer, 1973; Dubovicky et al., 1997; Hlinak et al., 2005; Iwata et al., 1979; Katz, 1983; Klingberg et al., 1987; Pizzi és Barnhart, 1976; Poon és Cameron, 1978; Saari et al., 1990; Seress, 1982), míg mások nem találtak eltérést ebben a vonatkozásban (Ali et al., 2000; Ishikawa et al., 1997; Klingberg et al., 1987; Sanchis-Segura és Aragon, 2002).

Az irodalmi adatokkal egybevágóan munkacsoportunk a korábbi években bizonyította, hogy nátrium-glutamát kezelés hatására nem tapasztalható szignifikáns eltérés a szomatikus fejlődésben vizsgált tünetek megjelenésében, a szemnyitás, metszőfog kinövés, fül kiegyenesedés tekintetében. Ugyanakkor az MSG-kezelt állatok testsúlyának növekedése a 6. naptól jelentősen alacsonyabb volt a kezeletlen csoporthoz képest, és a növekedési zavar az állatok testhosszában is megnyilvánult, ugyanis az első hét végétől szignifikánsan rövidebb testhosszt értek el a kezelt egyedek. A perinatális mortalitás nagyobb volt a kezelt állatok esetében. A megfigyelt reflexek közül a mellső láb ráhelyezési- és fogóreflexe, valamint a felegyenesedési reflex (magasból leejtés) szignifikánsan később jelent meg az MSG-kezelt állatoknál. Egyéb reflexek is később jelentek meg, de a különbség nem volt szignifikáns. A lépéshiba tesztekben a kezeletlen és az MSG-kezelt állatok ugyanannyi lépést tettek meg egy perc alatt, ugyanakkor a lépéshibák száma magasabb volt a kezelt csoportban az 5 hetes megfigyelési periódus folyamán, statisztikailag szignifikáns eltéréssel 3 és 4 hetes életkorban. Mind a mellső, mind pedig a hátsó láb esetén megfigyelhető volt ez a megemelkedett hibaszám. Az MSG-kezelt egyedek rosszabb teljesítményt nyújtottak a mókuseréken, ahol szignifikánsan kevesebb ideig tudtak a forgó keréken maradni, mint kezeletlen társaik. Az MSG-kezelt állatok újdonságkereső magatartásában (novelty-seeking) szignifikáns különbség van a kezeletlen csoporthoz képest. Nemcsak funkcionális, hanem morfológia különbségeket is észlelt már korábban munkacsoportunk az MSG kezeléssel összefüggésben úgy, mint a retinadegeneráció mértékének és az alkalmazott nátrium-glutamát dózisainak viszonya (Kiss et al., 2005).

ASPHYXIA

A születés során kialakuló asphyxia napjaink egyik nagy kihívása az újszülött- és gyermekgyógyászati gyakorlatban (De Haan et al., 2006; Morales et al., 2008; Vannucci, 2000). Az oxigén ellátás ideiglenes hiánya súlyos metabolikus eltéréseket indukál, amik hosszú távú idegrendszeri deficitet kialakulását okozhatják (Herrera-Marschitz et al., 2011). Különböző klinikai paraméterek segítségével lehet a diagnózist felállítani, illetve a sérülés kimenetelét megbecsülni perinatális asphyxia esetén. A klinikai kép a sérülés következtében az ún. hypoxiás-ischaemiás encephalopathia. Sarnat és Sarnat 1976-ban létrehozott egy klasszifikációt az

encephalopathia fokainak besorolására. A beosztás alapja a fizikális vizsgálat során tapasztalt tudat- és neuromuszkuláris állapot, egyes reflex válaszok (például a pupillareflex), szívfrekvencia-, bronchiális szekréció és nyáleválasztás-, a bélmotilitás állapota, myoklonus vagy görcs megléte illetve hiánya, a vegetatív funkciók állapota és az EEG eredmények (Sarnat és Sarnat, 1976). De enyhe, vagy közepes fokú asphyxia esetén a hosszú távú központi idegrendszeri károsodás ezek alapján nem megítélhető (Leuthner és Das, 2004), ilyenkor a diagnózis a későbbi életkorra tolódik, amikor is elsősorban a motoros és kognitív fejlődésben bekövetkező elmaradás alapján kerül sor kivizsgálásra.

A perinatális asphyxia következtében kialakuló neuronális károsodás és sejthalál celluláris mechanizmusai között szerepe van a necrosisnak, apoptosisnak és autophagiának is. Ezek mértéke nagyban függ attól, hogy milyen fokú volt az asphyxia, illetve milyen érettségi állapotban voltak az érintett sejtek (Eisenberg-Lerner et al., 2009; Ginet et al., 2009; Hagberg et al., 2009; Herrera-Marschitz et al., 2011; Northington et al., 2007). Mind emberi, mind állatkísérletes modellek arra utalnak, hogy a liquor cerebrospinalis excitátoros aminosav szintje megnő asphyxia hatására (Chen et al., 1997; Hagberg et al., 1993; Holopainen és Lauren, 2012; Riikonen et al., 1992). Széles körben vizsgálják az idegrendszer és immunrendszer közötti kapcsolatot annak érdekében, hogy a különféle gyulladások hogyan kapcsolódnak a neurotoxikus és más idegrendszeri sérülésekhez (Glass et al., 2010; Lehnardt et al., 2007; Tracey, 2007; Ziebell et al., 2010). Elfogadott az a tény, hogy a korai megelőzés és neuroprotekciónak fontos a végkimenetel javítása érdekében. Ez magába foglalja a különféle potenciálisan káros molekuláris útvonalak, mint az excitotoxicitás, gyulladás, oxidatív stressz és sejtpusztulás gátlását.

Különböző modellek állnak rendelkezésre a perinatális asphyxia hatásainak vizsgálatához. Az egyik széles körben alkalmazott állatmodellben 7 napos patkányokat helyeznek hypoxiás környezetbe. Ebben az életkorban hasonlít a patkány leginkább az emberi újszülött fejlettségi állapotára (Vannucci et al., 1993). Más modellek esetén a szülés közben az anyaállatot, annak uterusát vagy az éppen megszületett kispatkányokat helyezik hypoxiás környezetbe, és így hozzák létre a sérülést (Allende-Castro et al., 2012; Morales et al., 2007; Ujhazi et al., 2013; Yang et al., 2011).

A hosszú távú deficit jól korrelál a sérülés rövid távú, rövid időn belül megjelenő funkcionális következményeivel. A rövid távú sérülés mértékének jelentős prediktív értéke van (Ten et al., 2003). Munkacsoportunk már korábbi kutatásai során is

vizsgálta a neonatális hypoxia következményeit (Lubics et al., 2005), eredményeink arra utalnak, hogy a hypoxiás hatás súlyos idegrendszeri fejlődési zavarokhoz vezet. A perinatális asphyxia kapcsán korábban kimutattuk, hogy jelentős késés jelentkezik a neurológiai reflexek fejlődése során, átlagosan 1-4 nappal később jelennek meg, mint a kontroll csoportnál (Kiss et al., 2009).

A különféle neuroprotektív stratégiák célja a központi idegrendszerben bekövetkezett károsodások ellensúlyozása, kivédése. Számos neuroprotektív mechanizmust, módszert írtak le állatkísérletekben, amelyek csökkenteni képesek a perinatális asphyxia negatív hatásait, például hipotermia (Cebal és Loidl, 2011), nicotinamid (Morales et al., 2010), prekondicionálás (Vlassaks et al., 2013), erythropoietin (Kumral et al., 2006), melatonin (Alonso-Alconada et al., 2012) és a calcitriol (Kajta et al., 2009) is. Meg kell azonban jegyezni, hogy emberi alkalmazásban a hipotermián kívül eddig egy megbízható neuroprotektív módszer sem váltotta be a hozzá fűzött reményeket. Az ingergazdag környezet hatása ebben a vonatkozásban nem a károsodást megelőző, hanem annak hosszú távú hatásait képes mérsékelni, így a rehabilitációban alapvető fontosságú környezeti faktor.

KORAI POSZTNATÁLIS FEJLŐDÉS

A korai posztnatális időszak az idegrendszer fejlődését tekintve fontos periódus. A fejlődést három fő faktor, a környezeti tényezők, a genetikai faktorok és a gyógyszeres hatások közösen alakítják. A korai posztnatális időszakban a toxikus, ischemiás hatások mellett a szociális izolációnak és ingergazdag környezetnek is fontos, a fejlődést meghatározó szerepe van. Mivel a patkányok nem teljesen éretten jönnek a világra, így náluk a korai posztnatális fejlődés során a megszületéstől számított első 10 napban a fizikális paraméterek fejlődésének befejezése zajlik (szemnyitás, metszőfog kinövés, fül kihegyesedés). A harmadik posztnatális hét végéig befejeződik az alapvető neurológiai reflexek fejlődése (fogó-, keresztezett extensor-, felegyenesedési-, ráhelyezési-, elmozdulási-, szemhéj-, fülrángás reflex). A motoros koordinációval kapcsolatos mechanizmusok fejlődése még ennél is tovább tart néhány héttel. A fejlődés egy meghatározott mintázatot követ. Az egyes fizikális paraméterek és neurológiai jelek megjelenése és fejlődése jól korrelál az idegrendszer éréseivel. Károsodások esetén jól

kimutathatóak az okozott eltérések. Emiatt a munkacsoportunk által az elmúlt másfél évtizedben számos kísérletben használt tesztrendszer alkalmazható a jelen PhD értekezésben alkalmazott kísérleti összeállításokban is. Az állatok neurológiai fejlődését a posztnatális időszak első három hetében, a motoros koordinációs vizsgálatainkat pedig a 3-5. hét között végeztük (Farkas et al., 2009; Kiss et al., 2005; Lubics et al., 2005).

CÉLKITŰZÉSEK

1. Az ingergazdag környezet hatásainak vizsgálata az újszülött patkányok idegrendszeri- és reflex fejlődésére, és motoros koordinációjára
2. Késleltetett fejlődésű állatmodell vizsgálata ingergazdag környezetben:
 - a. újszülöttkori toxikus (nátrium-glutamát kezelt) állatmodell
 - b. újszülöttkori asphyxia állatmodell
3. Az ingergazdag környezet egy speciális típusa, a zenei ingergazdagság vizsgálata újszülött patkányok fejlődése során:
 - a. normál fejlődésű állatmodell
 - b. késleltetett (nátrium-glutamát kezelt) fejlődésű állatmodell
4. PACAP27 és -38 szintjének vizsgálata az agy különböző területein ingergazdag környezetben
 - a. fiatal patkányok
 - b. felnőtt patkányok
5. PACAP38 szintjének vizsgálata tengerimalac tejben ingergazdag környezetben
6. Retinális változások vizsgálata állatmodellekben és a nemi különbségek feltérképezése
 - a. ingergazdag környezet modell
 - b. szociális izoláció modell

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

KÍSÉRLETI ÁLLATOK

Az állatok elhelyezése, gondozása és felhasználása ellenőrzött protokollok szerint, az intézeti ajánlások figyelembevételével történt (No: BA02/2000-15024/2011, Pécsi Tudományegyetem). 12 órás sötét-világos ciklusban, élelem és víz folyamatos biztosítása mellett tartottuk az egyedeket.

PATKÁNY MODELL

Újszülött állatmodelljeink esetén teljes Wistar patkány almokat (egyedszám 8 ± 1 db) vizsgáltunk. Az almokat úgy állítottuk össze, hogy az egy időpontban született patkányokat összegyűjtöttük több alomból, összekevertük, és egyenlő számban szétosztottuk az anyák között, hogy a genetikus hatásokat minimalizáljuk. Mivel irodalmi adatok alapján nincs különbség a korai életperiódusban a hím és nőstény egyedek fejlődése között, a teljes almok adatait értékeltük (Fernandez et al. 2000; Le Roy et al., 1999). Az egyedek nemét feljegyeztük, és külön vizsgáltuk eredményeiket az esetlegesen kimutatható nemi különbségeket is keresve. A kezelési csoportok random módon kerültek kiválasztásra, az összes alm tartalmazott kontroll és kezelt állatokat. Az egyes csoportokat a saját kontrolljaikhoz hasonlítottunk a statisztikai elemzés során. Újszülött állatokkal végzett vizsgálatainkhoz születésüktől öt hetes korukig az állatok adott környezetben (kontroll vagy ingergazdag) voltak elhelyezve. Felnőtt korú ingergazdag állatainkkal végzett kísérleteink során szintén az első öt posztnatális héten éltek ingergazdag környezetben, majd ezt követően anyjuktól elválasztva, nemek szerint szétválasztva standard laboratóriumi ketrecekbe kerültek elhelyezésre. Mivel a PhD munkám többféle kísérleten is alapul, így az átláthatóság érdekében az adott kísérletekben részt vevő állatok száma a megfelelő fejezetekben kerül feltüntetésre.

Kísérleteink egy részében tengerimalacokat vizsgáltunk (4. ábra). A kísérlet célja tejminták PACAP38 koncentrációjának vizsgálata volt. Egy állatcsoportban 3 nőstény és 1 hím állatot helyeztünk el. A nőstényeknek a vemhesség után átlagosan 2 ± 1 db kölykük született, de mi a továbbiakban csak az anyákat vizsgáltuk, tőlük gyűjtöttük a tejmintákat.



4. ábra: A tengerimalacok standard állatházi körülmények között

INGERGAZDAG KÖRNYEZET

Patkánykísérleteink során kétféle környezeti elrendezést alkalmaztunk. Az állatok első csoportját a laboratóriumi állattartásban hagyományosan használt ketrecben tartottuk, melynek alapterülete 43x30 cm, magassága 20 cm. Ez a tartási körülmény szolgált a kontroll, standard („ingerszegény”) környezetnek (5.A ábra). Az állatok

második csoportját megnövelt élettérben, vagyis egy több, mint 3-szor nagyobb alapterületű és 2-szer magasabb ketrecben tartottuk születésük után (88x50 cm alapterület és 44 cm magasság - 5.B ábra). Ezt az elrendezést csak egyes esetekben, kísérleteink kezdetén alkalmaztuk annak vizsgálatára, hogy önmagában a megnövelt élettér, vagy a komplex

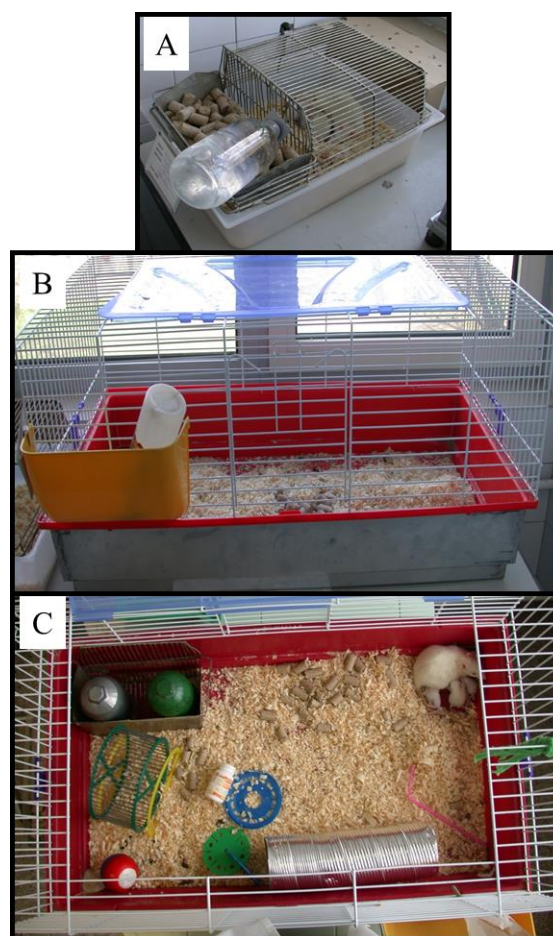
ingergazdagság (megnövelt élettér és játékok közösen) felelős-e a kifejtett hatásért, illetve hogy van-e különbség a megnövelt élettérű és komplex

ingergazdag csoportok között. A harmadik csoport, a komplex ingergazdag környezetű állatok esetében a nagyobb ketrecbe a megnövelt

élettéren kívül különféle formájú, színű és anyagú játékokat (pl. csöveket, korongokat, labdákat, csörgőket)

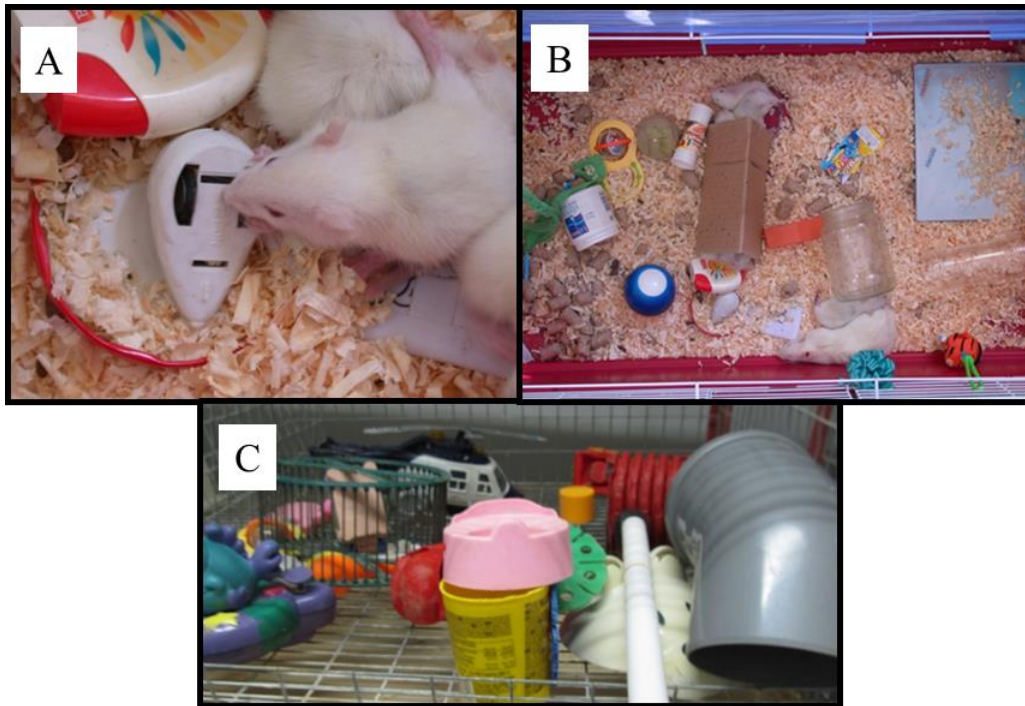
helyeztünk (6.A, B ábra), majd azok felét naponta cseréltük (6.C ábra). Így elkerültük azt, hogy teljesen új környezetet, és ezzel egy stresszfaktort hozzunk létre, egyidejűleg azonban biztosítottuk számukra a változatosságot, tovább növelve így az

ingergazdagságot (Bengoetxea et al., 2008) (5.C ábra).



5. ábra:

*A: hagyományos ketrec,
B: megnövelt élettér játékok nélkül,
C: komplex ingergazdag nagyketrec*



6. ábra: A: A különféle játékok a környezet fontos elemei, B: Az állatok komplex ingergazdag környezetben nőttek fel az anyapatkány mellett, C: A különféle játékok a patkányok környezetét ingergazdaggá tevő eszköztár részeit képezték.

Az ingergazdag környezettel kapcsolatban végzett kísérletünk első részében (a központi idegrendszer PACAP27 és -38 tartalmának vizsgálata RIA módszerrel) közvetlenül megszületésük után (1) három hét időtartamra kontroll, standard körülmények közé helyezett (n=4 db) és (2) három hétre komplex ingergazdag környezetbe tett (n=5 db) állatokat vizsgáltunk. A kísérlet második része 6 hónapig tartott. Három állatcsoportot vizsgáltunk: (1) kontroll, standard körülmények között élő csoport (n=5 db), (2) megszületés után 3 hétre komplex ingergazdag környezetbe helyezve, majd ezt követően standard körülmények között felnövő csoport (n=4 db), valamint (3) megszületés után standard körülmények között élő, majd fél éves korukban felnőttként 3 hétre ingergazdag környezetbe helyezett csoport (n=5 db).

A tengerimalacokkal végzett kísérleteink során kétféle környezeti elrendezést alkalmaztunk. Az ingergazdag környezetben elhelyezett állatok (n=25 db tejminta RIA méréshez) kétszer akkora élettérben éltek, mint kontroll társaik (n=22 db tejminta RIA méréshez). Ezen kívül még a komplex ingergazdagság esetén különféle formájú, színű és anyagú játékokat is behelyeztünk az élettérbe, azok felét naponta

cseréltük (a patkány modellhez hasonlóan), így elkerültük a teljesen új környezetet, és ezzel egy stresszfaktor létrehozását, egyidejűleg biztosítva számukra a változatosságot, az ingergazdagságot (6.C ábra).

Vizsgálataink során a tengerimalacok tejét analizáltuk. Tehéntej mintákhoz (n=10 db minta) hasonlítottuk a tengerimalac tej mintáinkat (n=47 db minta). A tengerimalacok két csoportban, így két eltérő környezetben voltak elhelyezve: kontroll (n=22 db minta), és ingergazdag (n=25 db minta) körülmények között.

ZENEI INGERGAZDAGSÁG

A zenei ingergazdagság vizsgálatához három állatcsoportot három külön szobába különítettünk el. Az egyik szobában a kontroll csoport volt hagyományos méretű ketrecekben, csendes környezetben. A második szobában standardizált körülmények között az állatok Mozart szonátákat hallgattak (Mozart: 17. zongorakonzert, symph 24; Concertos; The great composers I-II; The horn concertos) a hangforrástól azonos távolságban, hagyományos méretű ketrecekben elhelyezve. A patkányok éjszaka aktívak, ezért este 18:00 órától reggel 6:00 óráig voltak a zenei környezetben. A zene hangereje átlagosan 60 dB-re volt beállítva. A harmadik szobában az állatok a második szobához hasonlóan voltak elhelyezve, a különbség a zene típusa volt. A 3. szoba állatai heavy metál zenét hallgattak különböző együttesektől 60 dB átlagos hangerősséggel.

Kísérletünknek ebben a részében kontroll körülmények között, standard ketrecekben tartottuk az összes patkányt (n=42 db). Az állatokat három csoportra osztottuk. Megszületésük napjától mindhárom csoport más-más szobában volt elhelyezve, így más-más típusú zenét hallgatott. Az állatok egy része fiziológiás sóoldatos, másik része 4 mg/g MSG kezelést kapott. Kísérleteink során a csendes környezetben lévő kontroll fiziológiás sóoldattal kezelt csoport esetén n=17 db patkányt, a klasszikus zenét hallgató MSG kezelt csoportban n=16 db állatot, a heavy metál zenét hallgató MSG kezelt csoportban pedig n=9 db patkányt vizsgáltunk.

NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉS

A MSG kezelési protokoll módszertanilag megfelelt a korábban leírtaknak (Babai et al., 2005, 2006; Kiss et al., 2005, 2006). A nátrium-glutamátot subcutan injekcióként adtuk 100 µl fiziológiás sóoldatban oldva az 1, 3, 5, 7, 9. illetve 1, 5, 9. posztnatális napokon. Irodalmi leírásoknak és saját korábbi megfigyeléseinknek (Babai et al., 2005, 2006; Dunn és Webster, 1985; Kiss et al., 2005, 2006; Klingberg et al., 1987; Kubo et al., 1993) megfelelően választottuk ki a jelen kísérleteinkben alkalmazott dózist, ami 2 mg/testtömeg gramm volt retinával kapcsolatos vizsgálataink, 4 mg/testtömeg gramm volt az idegrendszeri fejlődéssel kapcsolatos vizsgálataink során, minden esetben az 1, 5 és 9. posztnatális napon subcutan adva. A retina vizsgálataihoz fele akkora dózis alkalmazására volt szükségünk, mert megfigyeléseink alapján a 4 mg/testtömeg gramm MSG kezelés már annyira súlyos retinális károsodásokhoz vezetett, ami esetén védő hatásra már nem volt lehetőség. A reflexfejlődésbeli változásokhoz viszont szükség volt a magasabb 4 mg/testtömeg grammos kezelésre, mert kisebb dózis nem okozott számottevő eltérést a fejlődésben. A kontroll állatok ugyanezek a napokon azonos mennyiségű fiziológiás sóoldatot kaptak.

Kísérletünknek ebben a szakaszában kontroll körülmények között, standard ketrecekben n=30 db patkányt, míg komplex ingergazdag környezetben, nagyobb élettérben játékokkal ellátva n=37 db állatot vizsgáltunk. Az állatok felét fiziológiás sóoldattal (kontroll ketrec: n=16 db, ingergazdag ketrec: n=17 db állat), a másik felét MSG-vel kezeltük (kontroll ketrec: n=14 db, ingergazdag ketrec: n=20 db patkány).

KÉTOLDALI ARTÉRIA CAROTIS COMMUNIS LEKÖTÉSE

A kétoldali carotis régiót isofluran altatásban középilonali nyaki metszésből tártuk fel. A m. omohyoideus és nyelvcsont alatti izmok eltartásával feltártuk az artéria carotis communist, a nervus vagust lepreparálva az eret operációs mikroszkóp alatt 4:0 sebészi fonállal elkötöttük. A lekotés permanens volt, reperfüzió nem történt.

Ebben a kísérletünkben n=49 db felnőtt Wistar patkányt vizsgáltunk (250-300 gramm). (1) Egyik állatcsoportunk az áloperált csoport volt (n=7 db). A többiek a kétoldali carotis lekotést követően 2 hétig voltak eltérő környezetben: (2) standard méretű ketrecekben (n=7 db nőstény, n=7 db hím), (3) komplex ingergazdag környezetben

(n=7 db nőstény, n=7 db hím), illetve (4) egyesével szociálisan izolálva standard méretű ketrecekben elhelyezve (n=7 db nőstény, n=7 db hím).

ASPHYXIA

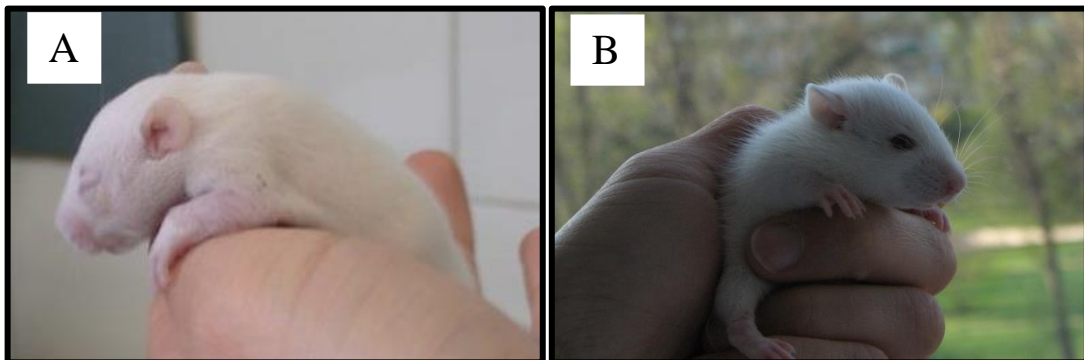
Felnőtt nőstény Wistar patkányok kenetét naponta vizsgáltuk. A spermadugó megjelenésének napjától számított 22. gesztációs napon az állatot megfigyelés alá helyeztük. A szülés megindulása után, az anyaállatot anesztézia alatt decapitáltuk (Kiss et al., 2009; Morales et al., 2008; Simola et al., 2008). Császármetszést végeztünk, az uterus szarvakat feltárva az újszülött állatokat kiemeltük, majd légzésüket stimuláltuk. A kontroll csoport állatai esetén az újszülötteket azonnal világra hoztuk, míg az asphyxiás csoportnál 15 percig az állatok állandó testhőmérsékletét (37 °C) fenntartva vártunk, és utána távolítottuk el őket az uterusból. Az asphyxiás csoport állatai, melyek túléltek a megszületés utáni 40 percet (addig 37 °C-on tartottuk őket), pótyanyához kerültek a kontroll csoport állataival keverten. A továbbiakban csak a túlélő állatokat vettük be vizsgálatainkba. Az akut posztasphyxiás fázisban az állatok több mint 50 %-a pusztult el az asphyxiás csoport esetén, míg a kontroll csoportnál a császármetszés utáni közvetlen elhullás csak 10 % körül volt. A későbbi vizsgálataink során 4 db asphyxiás állat még elpusztult, míg a kontroll csoportban nem volt veszteség. A nemek eloszlása egységes volt (55 % hím, 45 % nőstény).

Csak az egész kísérleti periódust túlélő állatok adatai kerültek feldolgozásra (n=25 db nem asphyxiás állat, n=21 db asphyxiás patkány). Kísérletünk során az állatok mindkét csoportja két további részre osztottuk: standard körülmények közé kerülő állatcsoportra (n=10 db nem asphyxiás állat, n=9 db asphyxiás patkány), valamint ingergazdag környezetbe helyezett csoportra (n=15 db nem asphyxiás állat, n=12 db asphyxiás patkány).

A NEUROLÓGIAI JELEK ÉS REFLEXEK VIZSGÁLATA

A neurológiai fejlődést naponta 12 és 15 óra közötti időpontban vizsgáltuk, a kezelési periódusban a napi kezeléseket megelőzően az 1. posztnatális naptól a 21. posztnatális napig. Az esetleges rejtett mérési hibák kiküszöbölésére ugyanazokat az

eszközöket használtuk minden állat tesztelésekor. Figyelemmel követtünk egyes fizikális jellemzőket, feljegyeztük a szemnyitás, a metszőfogkinövés és a fül kiegyenesedésének napját (7.A, B ábra) (Smart és Dobbing, 1971a,b).



7. ábra: A: 8 napos, B: három hetes, érett paraméterekkel rendelkező kispatkány.

Az állatok súlyát mértük minden nap (8. ábra). A neurológiai jeleket és reflexeket irodalmi adatok alapján (Altman és Sudarshan, 1975; Bures et al., 1983; Dam et al., 2000; Hill et al., 1991; Smart és Dobbing, 1971a,b) összeállított komplex tesztrendszer segítségével vizsgáltuk (Kiss et al., 2005, 2006, 2009; Farkas et al., 2009; Reglódi et al., 2003)

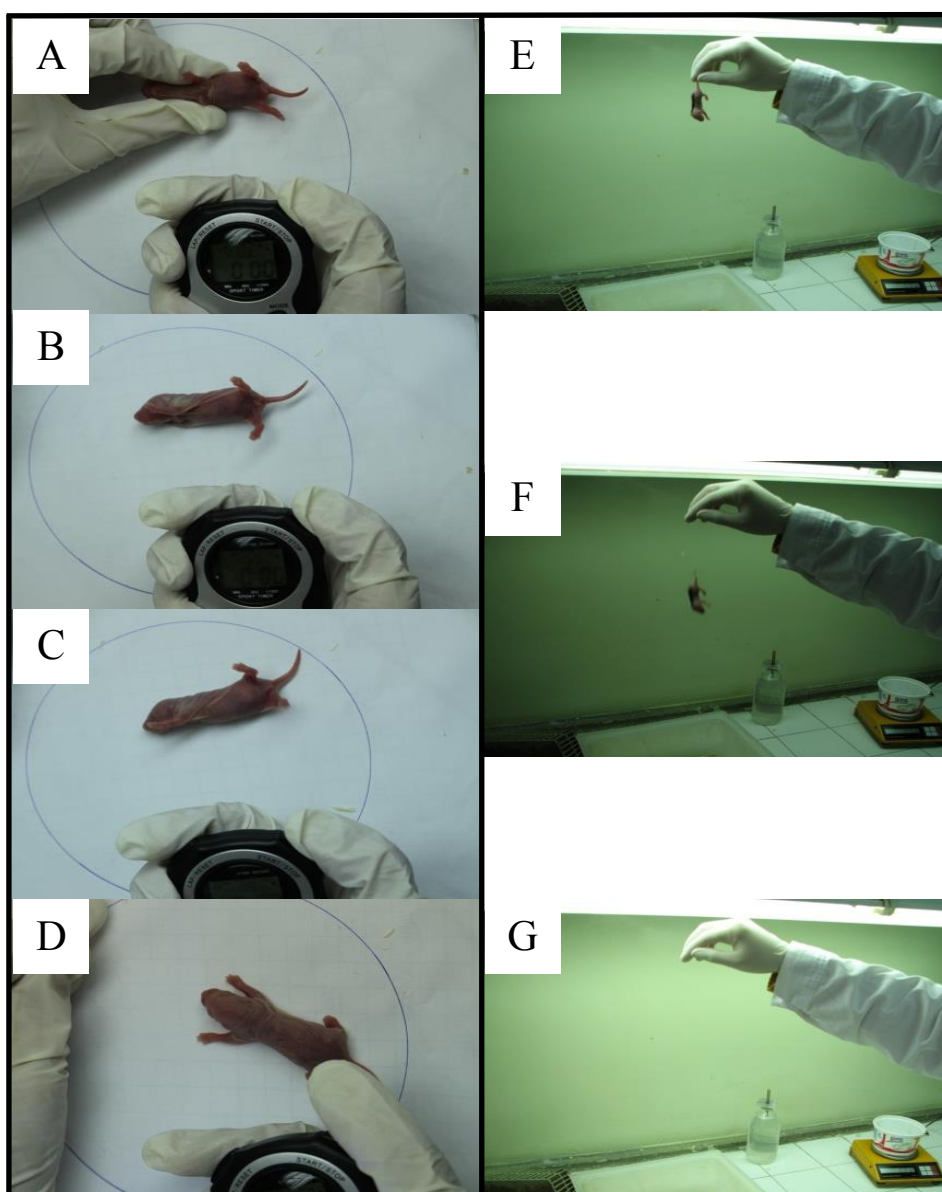


8. ábra: A kísérleti állatok testsúlyának mérése.

FELEGYENESEDÉSI (RIGHTING) REFLEXEK

(a) A patkányokat a hátukra fordítottuk (9.A ábra), és tizedmásodperc pontossággal regisztráltuk, hogy mennyi idő múlva fordult meg az állat mind a négy mancsát a talajra helyezve (9.B, C, D ábra).

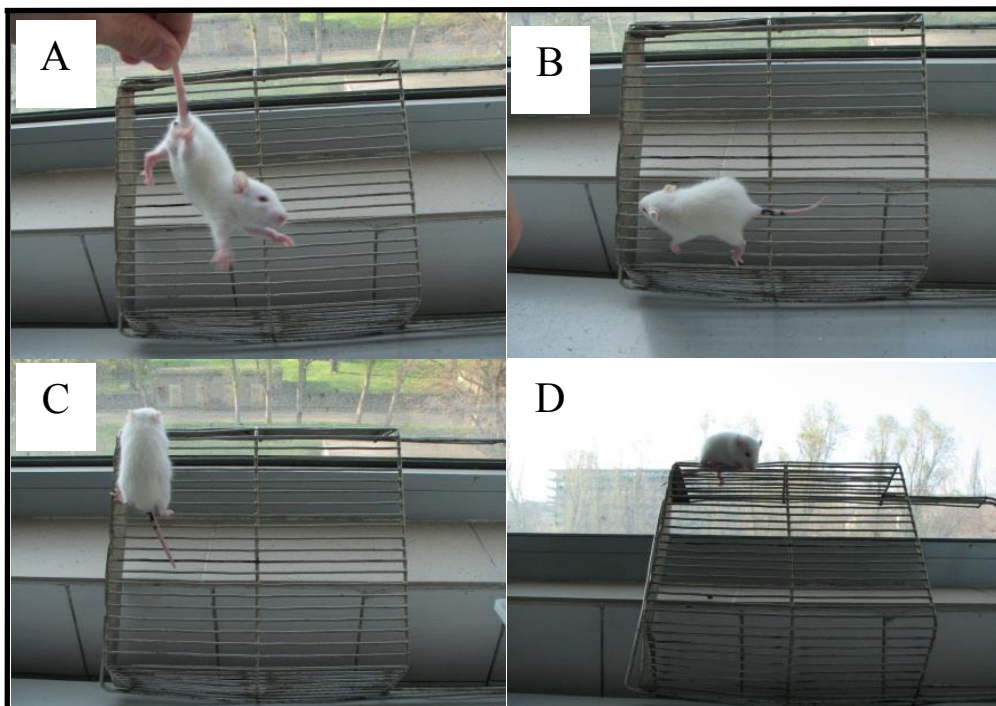
(b) 50 centiméter magasból fejfelé lefelé ejtve az állatokat, a négy végtagjukra érkezésük első napját jegyeztük fel (9.E, F és G ábra).



9. ábra: Felegyenesedési reflexek vizsgálata: hátról hasra fordulás ideje (A, B, C, D), és magasból leejtés (E, F, G).

NEGATÍV GEOTAXIS

Az állatokat egy 45°-ban megdőntött, 30 cm magas rácstra helyeztük fejjel lefelé úgy, hogy az állat hátsó végtagja a rácс közepén legyen (10.A ábra). Feljegyeztük azt a napot, amikor a patkány megfordult, és felmászott a rácс tetejére (10.B, C, D ábra), azaz amikor mindkét mellső mancsával elérte annak legfelső fokát (10.D ábra). Abban az esetben, ha az állat nem teljesítette a feladatot 30 másodpercen belül, a teszt eredményét negatívnak tekintettük. A pozitív teszt megjelenésének napjától mértük a teljesítés idejét tizedmásodperc pontossággal.



10. ábra: A negatív geotaxis vizsgálata.

KERESZTEZETT EXTENSOR REFLEX

A bal hátsó végtagon fájdalominger (csipeszcspés) alkalmazva vizsgáltuk az állat reakcióját. Azt a napot jegyeztük fel, amikor látszólag eltűnt a keresztezett extensor reflex, vagyis az ellenkező oldali végtag extenziója elmaradt (11. ábra). Az

állat ilyenkor egy, az egyszerű reflextevékenységnél bonyolultabb, összetettebb mechanizmusú elhárító magatartással válaszolt az inzultusra.



11. ábra: A keresztezett extensor reflex vizsgálata

FÜLRÁNGÁS REFLEX

Vattapálcával óvatosan megérintettük a fül szélét (12. ábra), és az erre bekövetkező fülrándítás megjelenésének napját regisztráltuk.



12. ábra: A fülrángás reflex vizsgálata

SZEMHÉJREFLEX

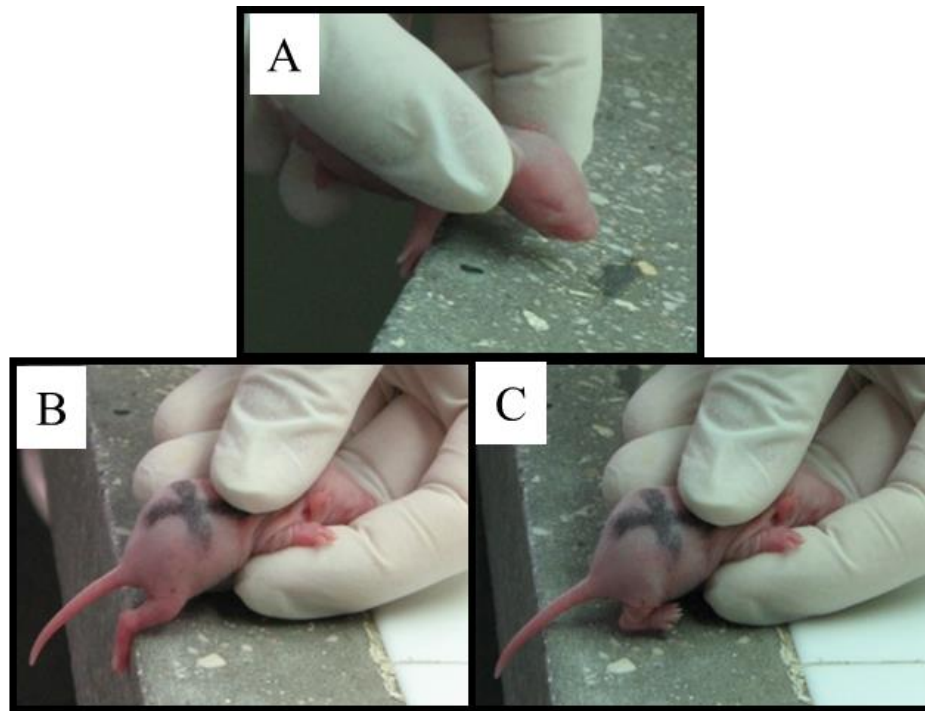
Vattapálcával óvatosan megérintettük a szemrést (illetve a szemnyitás napja előtt annak leendő helyét, a szemhéjak találkozását – 13. ábra), és a válaszként bekövetkező izomkontrakció megjelenésének napját regisztráltuk.



13. ábra: A szemhéj reflex vizsgálata

VÉGTAG KONTAKT RÁHELYEZÉSI (PLACING) REFLEX

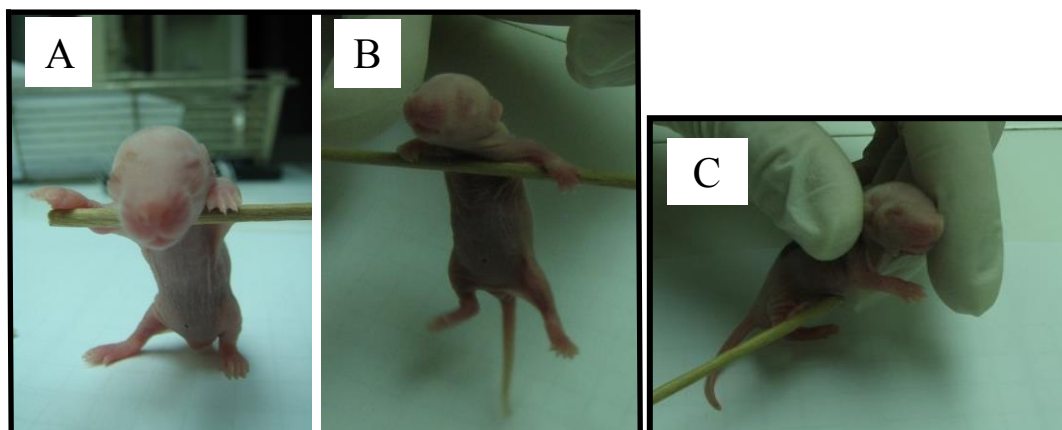
A mellső (14.A ábra) és hátsó mancs (14.B, C ábra) dorsalis felszínét a vizsgálóasztal széléhez érintettük, és feljegyeztük azt a napot, amikor az állat először felemelte az adott végtagot, és ráhelyezte az asztalra (14.C ábra).



14. ábra: Végtag kontakt ráhelyezési reflexek vizsgálata: mellső mancs (A), hátsó mancs (B, C)

TAKTILIS FOGÓREFLEX (GRASPING)

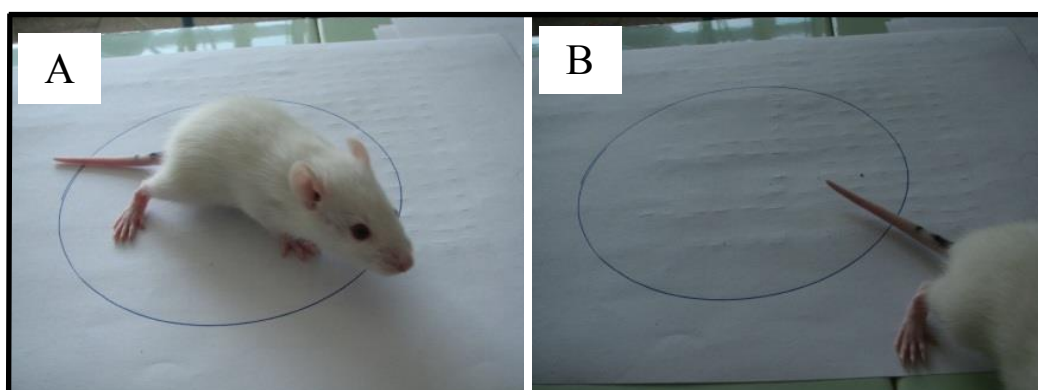
Egy vékony rúddal érintettük a patkány mellső (15. A, B ábra) és hátsó (15. C ábra) végtagjának ventrális felszínét, és regisztráltuk az első napot, amikor erre az érintésre a rúd megragadásával válaszolt (15. B ábra).



15. ábra: A fogóreflex vizsgálata: mellső végtag (A, B), hátsó végtag (C).

ELMOZDULÁSI REFLEX (GAIT)

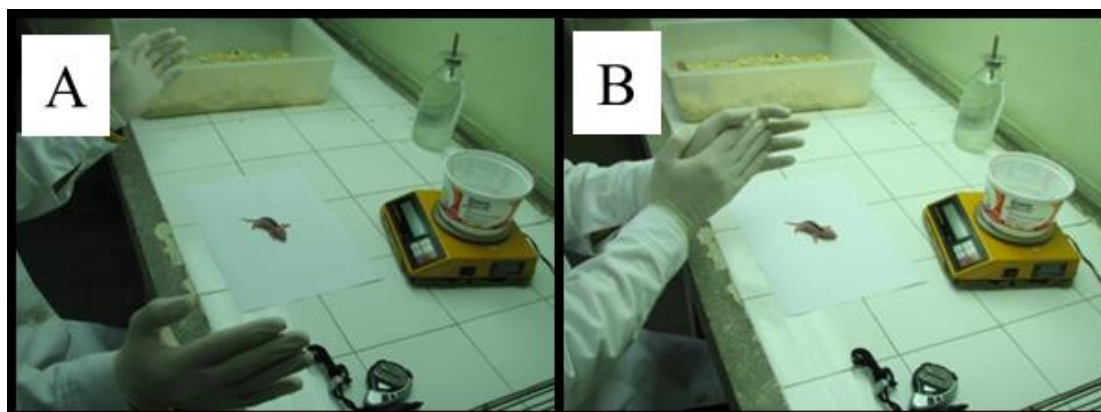
Egy 13 centiméter átmérőjű fehér papírkorong közepére helyeztük az állatokat (16. A ábra). A jel megjelenésének napjától kezdve tizedmásodperc pontossággal mértük azt az időt, ami alatt az állat mindkét mellső mancsa elhagyta a korong területét (16. B ábra). Abban az esetben, ha az állat 30 másodpercen belül nem hagyta el a korongról, a tesztet negatívnak értékeltük.



16. ábra: Az elmozdulási reflex: a vizsgálat kiindulási állapota (A), majd a pozitív kimenetele (B).

AKUSZTIKUS MEGRETTEENÉSI REFLEX

Regisztráltuk az első napot, amikor az állat egy hirtelen hangingerre (taps) összerezzen (17. ábra).

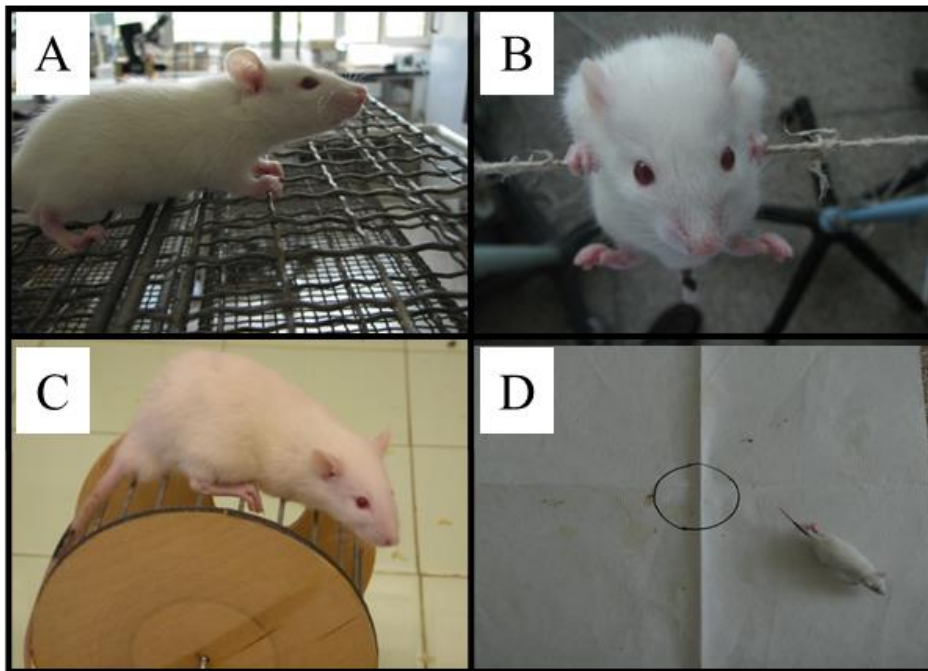


17. ábra: Az akusztikus megrettenési reflex.

Az állatokat posztnatális 2-5 hetes kor között teszteltük heti rendszerességgel. A teszteket az irodalomban elfogadott leírások alapján végeztük (Altman és Sudarshan, 1975; Heath és Vink, 1997; Hill et al., 1991), illetve több tanulmány vizsgálmódszereit együttesen alkalmaztuk, hogy még komplexebb képet kapjunk az állatok neurológiai fejlődéséről. A fentebb említett teszteket az irodalomban külön-külön alkalmazzák patkányok vizsgálatára agyi károsodást követő funkcionális deficitok kiértékeléséhez (Aronowski et al., 1996; Borlongan et al., 1995; Heath és Vink, 1997; Markgraf et al., 1992; Reglódi et al., 2003; Rogers et al., 1997; van der Staay et al., 1996).

LÉPÉSSZÁM ÉS LÉPÉSHIBA TESZT

20x40 cm területű, 2x2 cm-es méterű rozsdamentes acélrácsra tettük az állatokat, mely a talajszinttől 1 méter magasságban helyezkedett el. Egy percre vizsgáltuk az állat mozgását, és feljegyeztük a mellső végtaggal végrehajtott összes lépés számát. Eközben számoltuk lépéshibáikat, amikor a rács réseibe léptek, nem tudták megfogni a rácsot lépés közben. Ezt a lépéshibát mellső és hátsó végtagra is feljegyeztük, különbséget téve a jobb és bal oldal között (18.A ábra).



18. ábra: Motoros koordináció vizsgálata: A: Lépésszám és lépéshiba teszt; B: Függeszkedési teszt kötélén; C: Mókuskerék teszt; D: Mozcás iniciációs teszt

FÜGGESZKEDÉSI TESZT KÖTÉLEN

Egy 40 cm magasságban vízszintesen kifüggesztett 4 mm átmérőjű kötélre helyeztük az állatok mindkét mellső végtagját. Mértük azt az időt, ameddig kapaszkodva fenn tudtak maradni a kötélén. Amennyiben az idő hosszabb volt, mint 30 másodperc, vagy esetleg a kötélbe kapaszkodva annak végére mászva az állat elhagyta a berendezést, a tesztet teljesítettnek vettük (18.B ábra).

ROTAROD (MÓKUSKERÉK) TESZT

Egy 14 cm átmérőjű mókuskereket motorral hajtottunk meg 13/perces fordulatszámmal (18.C ábra), és mértük azt az időt, amennyit az állat a kerék tetején fenn tudott maradni (maximum időtartam 2 perc, ha az állat még ezután is fenn volt a keréken, akkor is befejeztük a vizsgálatot, és ezt a maximális időt jegyeztük le). Ezt a tesztet három hetes korban kezdtük el. Fiatalabb korban a patkányok nem képesek fenn maradni a keréken.

MOZGÁS INICIÁCIÓS TESZT

A patkányokat egy vízszintes felszínre helyeztük, melyen egy 10 cm-es belső és egy 45 cm átmérőjű külső kör volt megjelölve. Mértük a mozgás kezdés idejét, ami alatt elhagyta a belső, kisebb kör területét, valamint a nagyobb kör elhagyásának idejét (18.D ábra).

KAPASZKODÁSI TESZT MEGDÖNTÖTT DESZKÁN

45°-ban döntött farostlemez deszkára helyeztük az állatokat, majd 5 fokként emeltük a dőlésszöget (19. ábra). Azt a szintet jegyeztük fel (1-4-es szintig), ahol az állatok még fenn tudtak maradni a deszkán minimum 5 másodpercig.



19. ábra: Kapaszkodási teszt.

A kísérletet tengerimalac modellen végeztük, a tejtermelés beindulása után (a szülés után 2 nap elteltével), biztosítva ezzel a colostrum felvételt. A harmadik naptól minden nap reggel 8:00-8:30 között az újszülötteket 30 percre elvettük az anyjuktól. Ezt követően mechanikusan, kézzel fejtük meg az anyaállatokat, mindkét emlőből mintát véve (20. ábra). A mintavételeket próbáltuk az újszülöttek elvonása nélkül is, de abban az esetben nem volt nyerhető mennyiségű minta. Állatonként naponta átlagosan körülbelül 1 ml mintát sikerült Eppendorf csövekbe gyűjtenünk. A mintavételt átlagosan a 13. szülés utáni napig folytattuk, ezt követően a tejtermelés elapadt.



20. ábra: Tengerimalac tej mintavétel mechanikus módon.

SZÖVETTANI VIZSGÁLATOK

Jól ismert, hogy a neonatális MSG-kezelés súlyos idegsejtkárosodást hoz létre az agy különböző területein. A morfológiai eltéréseken kívül biokémiai változásokat is okoz (Beas-Zarate et al., 2002; Chaparro-Huerta et al., 2002; Gonzalez-Burgos et al., 2001; Ishikawa et al., 1997; Kubo et al., 1993; Pesini et al., 2004; Seress et al., 1984; Stricker-Krongrad és Beck, 2004; Tamás et al., 2004; van Rijn et al., 1986). Az elváltozások közül a nucleus arcuatus és a retina területén bekövetkezett

neuronpusztulás vizsgálható a legjobban (Arees és Mayer, 1970; Heiman és Ben-Jonathan, 1983; Olney, 1969).

Továbbiakban a retina degeneráció volt részletes vizsgálatunk tárgya. Ezzel kapcsolatban munkacsoportunk már számos eredményt ért el korábban, más toxikus anyagok, illetve hypoxia által indukált retinadegenerációs állatmodellekben (Atlasz et al., 2008; Babai et al., 2005, 2006; Tamás et al., 2004). MSG által indukált retinadegenerációs modellünkben a módszertani fejezet megfelelő részében már említett módon három állatcsoportot hoztunk létre: hagyományos ketrecben, megnövelt élettérben (nagyobb ketrec) és komplex ingergazdag környezetben tartott csoportot.

A neurológiai tesztek követően, az állatokat 5 hetes korukban túllattattuk, enukleáltuk, és szemserleg (eye-cup) preparátumot készítettünk. Az enukleált szemeket 0°C-os 0,2 M foszfát-pufferbe (PB) raktuk. Bemetszést ejtve a sclerán az ínhártya és a szaruhártya határát körbevágtuk. Ezt követően a lencsefüggesztő rostokat elszakítva az üvegtestet és a szemlencsét eltávolítottuk. A megmaradt preparátum kizárólagosan az ínhártyából, az érhártyából, valamint a retinából állt. A szemserlegeket 4%-os paraformaldehidben (PFA) 24 órán keresztül fixáltuk. A fixálás után a preparátumokat 0,1 M-os PB-ben 6x10 percig mostuk. Majd a beágyazáshoz a szemserleget megfelelő méretű és megfelelően orientált kisebb részekre vágtuk. A retinadarabokat szobahőmérsékleten felszálló alkoholsorban dehidráltuk. Ezt követően a mintákat propilén-oxidba (2x4 perc) helyeztük, propilén-oxid-Durcupan ACM-gyanta (Fluka, Svájc) 1:1 arányú keverékében inkubáltuk (1x30 perc), majd egy éjszakára polimerizálatlan, tiszta gyantába helyeztük. Másnap gyantablokkokat készítettünk, melyekbe orientálva belehelyeztük a már előzőleg felvágott retinadarabokat. Az így elkészült blokkokat 36 órára 56 °C-os termosztátban inkubáltuk tettük. A gyanta tökéletes polimerizációja után ultramikrotóm (MT-7000 Ultra, USA) segítségével 2-3 µm-es metszeteket készítettünk, amelyeket zselatinos tárgylemezre helyeztünk fel. A metszeteket fűtött fémlap (hot-plate, Velp Scientific Area Heating Magnetic Stirrer) segítségével 70 °C-on adhéziós anyaggal kevert tárgylemezre szárítottuk. A teljes felszáradás után a preparátumokat megfestettük toluidinkék festékkel (1%-os festőoldat, Toluidine Blue O, Certified, Sigma + 1 g nátriumborát). Az így kapott metszeteket szárítás után DePeX-szel (DPX, Fluka BioChemika) fedtük.

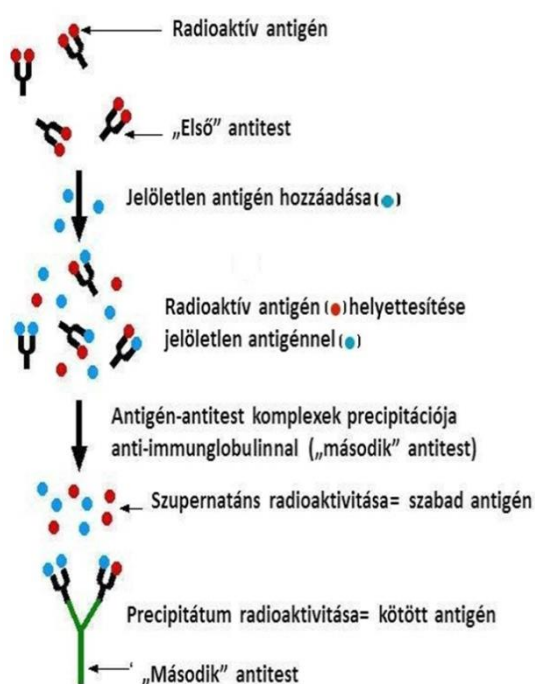
Az elkészült metszeteket Nikon Eclipse 80i fénymikroszkóppal vizsgáltuk, morfometriai méréseinket Spot Basic, 4.0.4. program segítségével végeztük. A retina rétegek vastagságának értékeléséhez az NIH Image 1.55 programot használtunk. Hogy

összehasonlítható adatokat kapjunk, a különböző rétegek vastagságát a retina azonos régióiból készült metszeteken mértük le. Az analízist követően CCD digitális kamerával fényképeket készítettünk, az elkészült képeket Adobe Photoshop 7.0 segítségével további digitális feldolgozást (elforgatás, elrendezés, megjelölés) végeztünk.

A morfológiai és morfometriai analízishez a következő paramétereket vizsgáltuk: (I) a retina keresztmetszete a külső határmembrántól a belső határmembránig (membrana limitans externa-membrana limitans interna, MLE-MLI), (II) a stratum granulosum externum (SGE), a stratum plexiforme externum (SPE), a stratum granulosum internum (SGI), a stratum plexiforme internum (SPI) vastagsága és (III) a 100 µm retinahosszra eső stratum ganglionare (SG) rétegben található sejtek száma.

RADIOIMMUNOASSAY MÉRÉS

Az isoflurán altatott állatok dekapitálása után az agyakat eltávolítottuk, az egyes agyterületeket (hipotalamus, agytörzs, diencephalon, cerebellum, temporális-, occipitális-, frontális- és parietális nagyagygi területek) külön-külön dolgoztuk fel. A mintavétel során a korábban is alkalmazott módszertani lépéseket követtük (Kiss et al.,



21. ábra: A RIA módszer elmélete

2007; Jakab et al., 2004; Németh et al., 2007). A mintákat homogenizáltuk majd centrifugáltuk desztillált vízben (12000 rpm, 4 °C, 30 perc). A RIA mérésekhez az így kapott felülúszót használtuk a PACAP27 és PACAP38 tartalom analizálására.

A PACAP27 méréshez nyúlban előállított „88123-3” számú antiszérumot használtunk. A PACAP38 méréshez szintén nyúlban előállított, „88111-3”

számú antiszérumot használtuk. Birka PACAP24-38 C-terminális fragmentet és PACAP 27-et jódoztunk (^{125}I , Izotóp Intézet Kft., Budapest, Magyarország), a reakciókeveréket reverz HPLC oszlopon választottuk el. A mono-jodinált peptidek (^{125}I -PACAP24-38 és ^{125}I -PACAP27) szolgálták később RIA jelölőként. Standardként birka PACAP27-et és PACAP38-at (Sigma) használtunk (0-1000 fmol/ml) (21. ábra).

A méréseknél a RIA-hoz alkalmazott 1 ml foszfát-puffer (PBS) tartalmazott (0,05 mol/l, pH: 7,4) 0,1 mol/l NaCl-ot, 0,05% NaN_3 -t és 0,25% BSA-t (bovine serum albumine - Sigma). A pufferbe 100 μl antiszérumot (a „88111-3” számú antiszérum munkahígítása: 1:100000; a „88123-3” számú antiszérum munkahígítása 1:45000), 100 μl RIA jelölőt (5000 cpm/cső) és 100 μl standardot vagy ismeretlen mintát mértünk polipropilén csövekbe.

48-72 óra 4 °C-on történő inkubációt követően az antitesthez kötött peptidet elválasztottuk 100 μl szeparációs oldat segítségével (10 g szén, 1 g dextrans, 0,2 g sovány tejpor 100 ml desztillált vízben). Centrifugálás után (3000 rpm, 20 min, 4 °C) gamma counterben mértük a radioaktivitást. A minták PACAP27 és PACAP38 tartalmát kalibrációs görbéről olvastuk le, és fmol/mg súlyra adtuk meg. Annak érdekében, hogy a különbségeket és változásokat jobban érzékelhetővé tegyük, az eredményeket relatív változásként százalék formájában adtuk meg, minden esetben a kontroll csoport fmol/mg-os eredményét 100%-nak véve.

STATISZTIKAI ELEMZÉS

Az eredmények átlag \pm standard hiba (standard error of the mean, SEM) formájában tüntették fel.

A fizikális jelek megjelenését ANOVA teszttel, majd az egyes csoportokat Newman-Keul post-hoc analízissel hasonlítottuk össze. A napi értékek összehasonlítására homogenitásvizsgálatot követően Student féle t-tesztet is használtunk.

A negatív geotaxis, felegyenesedési reflex és az elmozdulási reflexidők napi értékeinek javulását ismételt varianciaanalízissel értékeltük, míg az egyes csoportok reflexidejét ugyancsak Newman-Keul teszttel vizsgáltuk a varianciaanalízist követően.

Az állatok súlya és a neurológiai jelek megjelenése közötti korrelációt a Spearman-féle korrelációanalízissel végeztük. Szignifikancia szintként $p < 0,05$ értékeket határoztunk meg. Az ábrákon *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ jelölések kerültek alkalmazásra a csoportok közötti szignifikáns különbségek jelölésére.

A retina metszetekből komplex morfometriai analízis során mért adatok elemzéséhez az SPSS és a Microsoft Excel segítségével ANOVA tesztet használtunk, amit Tukey'B post hoc analízis követett. Szignifikancia szintként $p < 0,05$ értékeket határoztunk meg. Az ábrákon *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ jelöléseket alkalmaztam a csoportok közötti szignifikáns különbségek jelölésére.

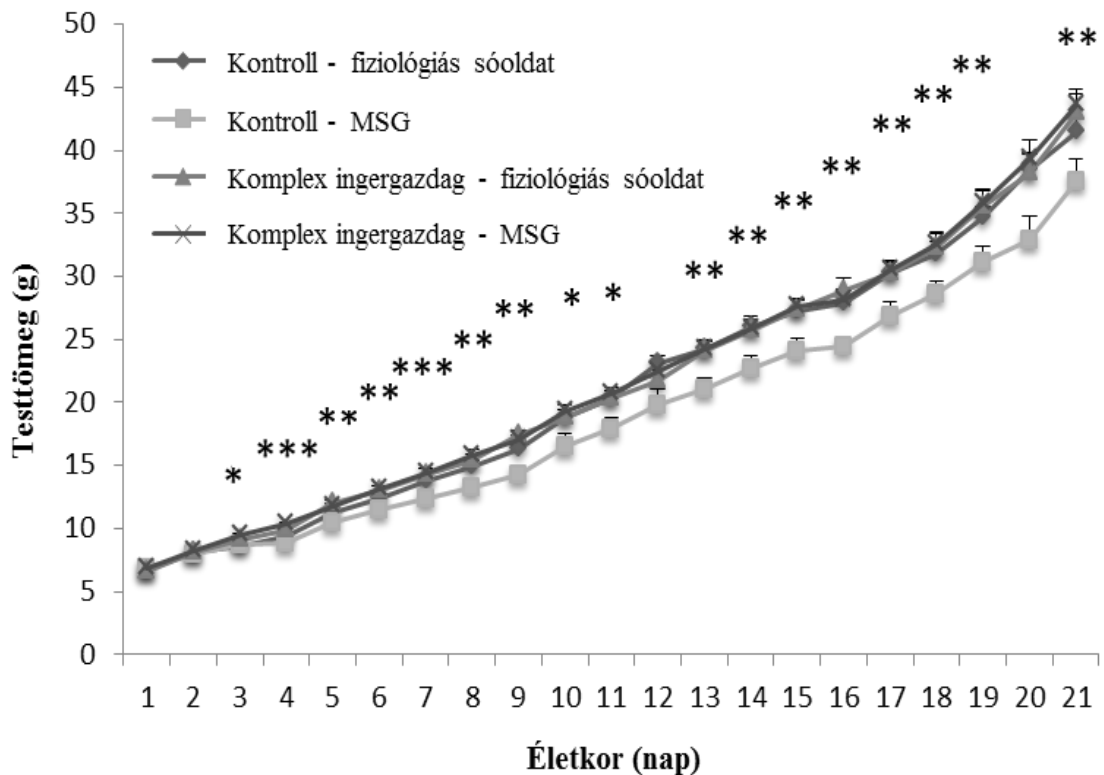
EREDMÉNYEK

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM- GLUTAMÁT KEZELÉSRE

SZOMATIKUS FEJLŐDÉS

A TESTTÖMEG VÁLTOZÁSA

Munkacsoportunk már korábban leírta (Kiss et al., 2005), hogy az újszülöttkori MSG kezelés hatására szignifikánsan csökken a standard körülmények között tartott állatok tömegnövekedése az első posztnatális hetekben. Ezt jelen kísérletünk alapján is meg tudjuk erősíteni (22. ábra). Az ingergazdag állatcsoport esetében azt tapasztaltuk, hogy nem alakult ki szignifikáns testtömeg különbség a fiziológias sóoldattal és a nátrium-glutamáttal kezelt állatok között, vagyis az MSG kezelés testtömeg csökkentő hatása ingergazdag környezetben elmaradt. Az eredmények alapján elmondható, hogy önmagában az ingergazdag környezet nem vezet szignifikáns súlynövekedéshez, a standard és ingergazdag körülmények között tartott fiziológias sóoldattal kezelt csoportok testtömeg növekedése között nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést (22. ábra). Az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a neonatális excitotoxikus lézió esetén az ingergazdag környezet védő hatással bír.

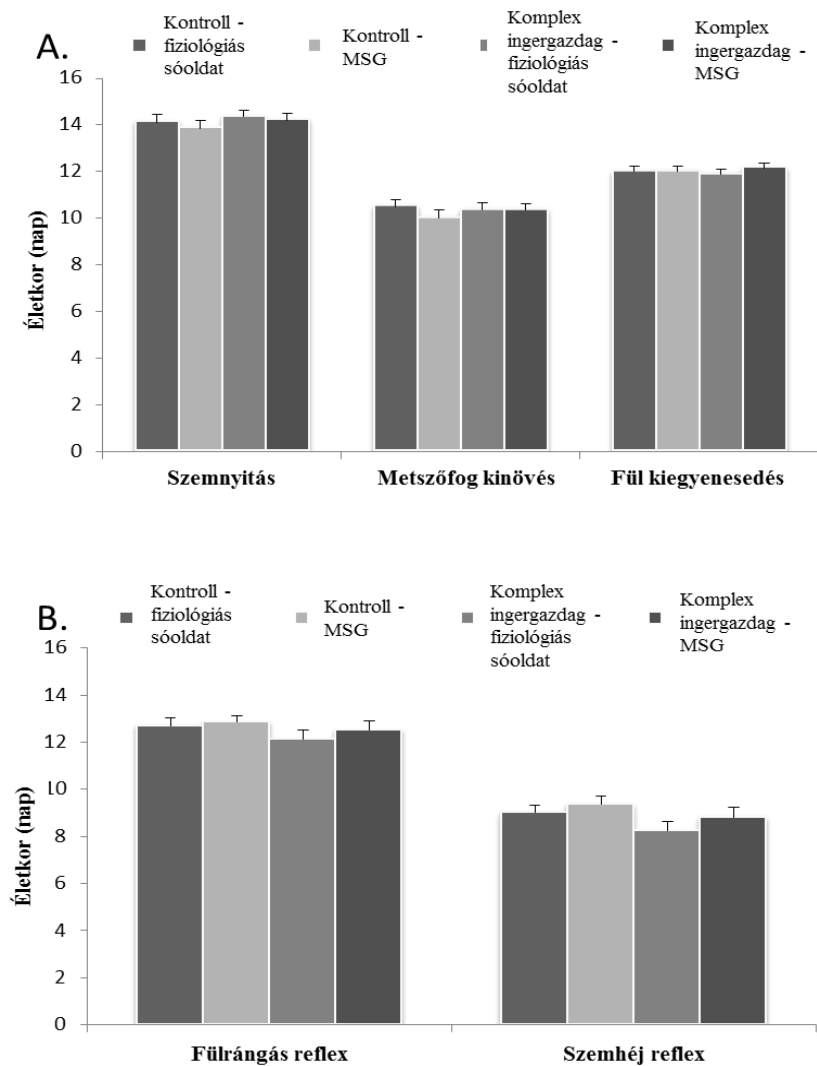


22. ábra: A testtömeg változása az első három héten

(*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ kontroll MSG kezelt csoport vs. minden más csoport).

FIZIKÁLIS PARAMÉTEREK ÉS REFLEXFEJLŐDÉS

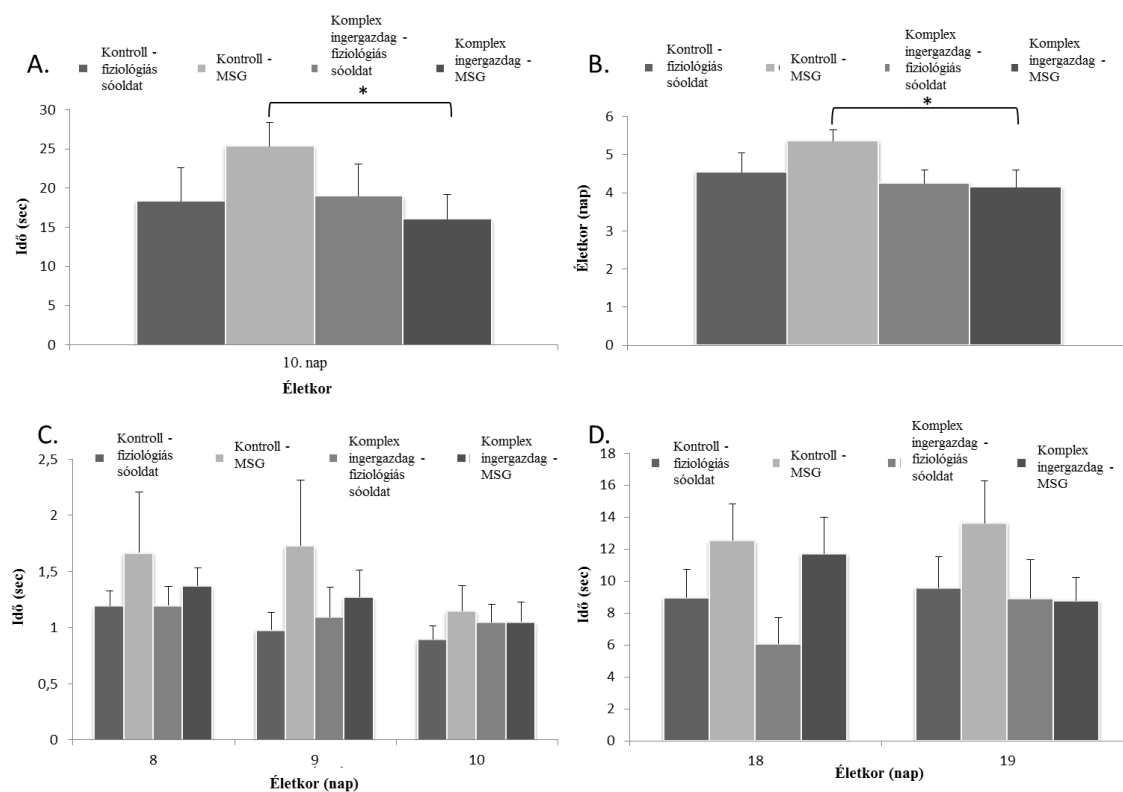
Munkacsoportunk korábbi eredményeihez hasonlóan (Kiss et al., 2005), nem találtunk szignifikáns különbséget a kontroll fiziológias sóoldattal és kontroll MSG-vel kezelt csoportok között a különféle fizikális paraméterek (szemnyitás, metszőfog kinövés és fül kiegyenesedés) megjelenésének idejét tekintve. Az ingergazdag környezet nem befolyásolja ezen fizikális paraméterek megjelenését (23.A ábra). Ehhez hasonlóan nem volt eltérés a szemháj- és a fülrángás reflexek megjelenésében sem (23.B ábra).



23. ábra: A: A fizikális paraméterek fejlődése: szemnyitás, metszőfog kinövés és fül kiegyenesedés. B: A fülrángás- és szemháj reflex megjelenése

A többi neurológiai reflexet vizsgálva enyhe, nem szignifikáns késés jelentkezett a reflexek megjelenésében az MSG kezelt kontroll állatok esetén korábbi megfigyeléseinknek megfelelően. Ezzel szemben az ingergazdag környezetben tartott állatok esetén a legtöbb reflex korábban jelent meg, de a különbségek nem voltak szignifikánsak. Bizonyos reflexek (elmozdulási reflex, ráhelyezési reflexek) kivitelezéséhez szükséges időt vizsgálva nem találtunk különbséget a kontroll és komplex ingergazdag környezetben fejlődő, fiziológiás sóoldattal kezelt csoportok között (24. ábra). Azonban az MSG kezelt kontroll állatoknak szignifikánsan több időbe telt ezeknek a feladatoknak a végrehajtása (24.A, B ábra). Ez a különbség az ingergazdag csoport MSG és fiziológiás sóoldattal kezelt csoportjai között nem mutatkozott (24. ábra). A negatív geotaxis és a felszíni ráhelyezési reflex vizsgálata

során azt tapasztaltuk, hogy – bár nem szignifikáns – a fizioiógias sóoldattal és MSG-vel kezelt, mind kontroll, mind ingergazdag csoportok teljesítménye között különbség volt (24.C, D ábra). Az MSG kezelt állatok rosszabb teljesítményt nyújtottak a negatív geotaxis kivitelezése során (24.D ábra). Ez a különbség az ingergazdag patkánycsoport esetén a később eltűnt.

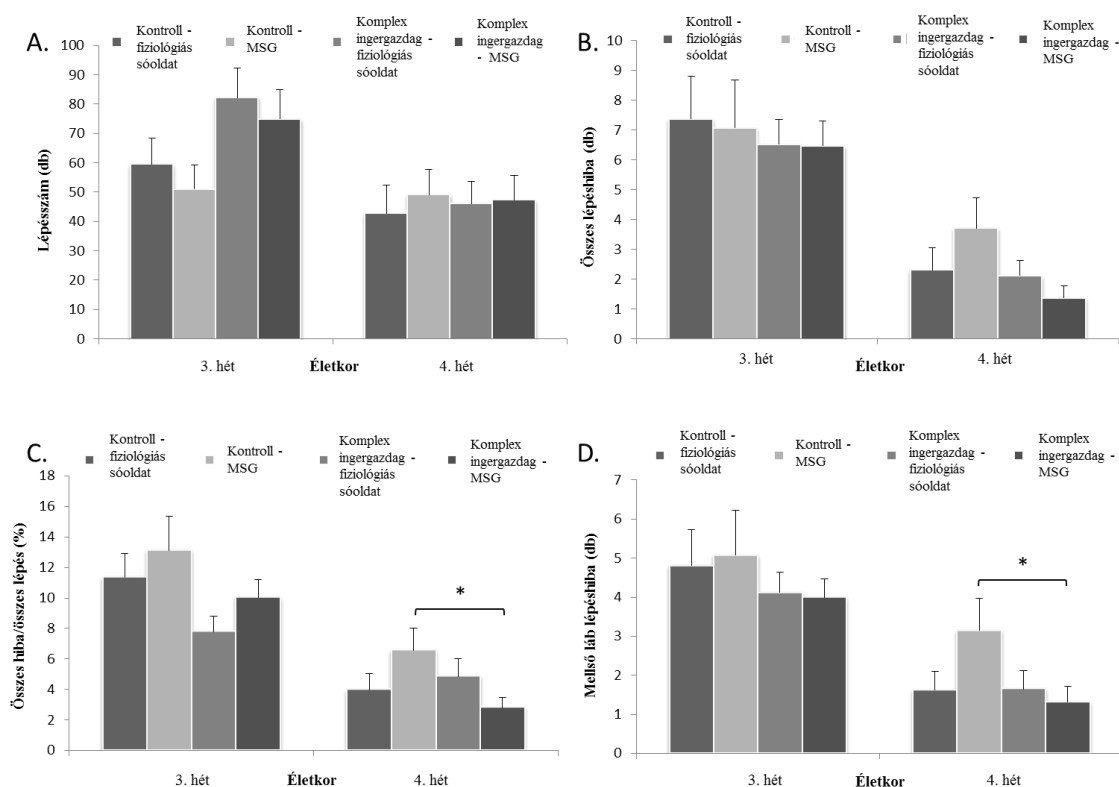


24. ábra: A: Elmozdulási reflex teljesítmény a posztnatális 10. napon. B: Levegőből leesés ráhelyezési reflex fejlődése. C: Felszínre ráhelyezési reflex teljesítmény posztnatális 8-10. napokon. D: Negatív geotaxis teljesítmény posztnatális 18-19. napokon. (*: $p < 0,05$)

MOTOROS KOORDINÁCIÓ

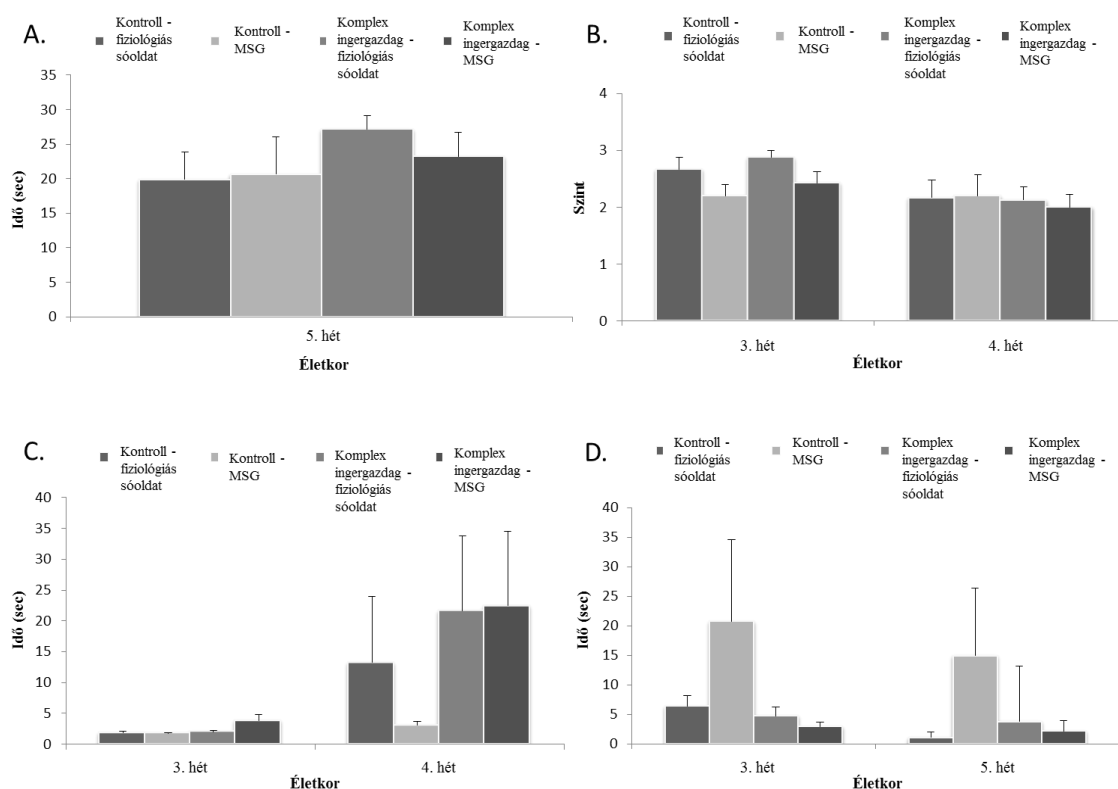
Tapasztalataink alapján a motoros koordinációval kapcsolatos vizsgálataink egyik legmegbízhatóbb indikátora a lépésszám és lépéshiba teszt (Kiss et al., 2005, Farkas et al., 2009, Lubics et al., 2005). A rácson megtett lépéseket számolva azt találtuk, hogy a posztnatális 3. héten a komplex ingergazdag környezetben felnövé

állatok többet mozogtak, mint a kontroll patkányok, a 4. heti vizsgálatok során azonban ez a különbség már nem mutatkozott a kétféle környezetben nevelkedett állatok között (25.A ábra). A lépéshiba tesztben a 4. héten a kontroll MSG kezelt patkányok több hibát ejtettek, mint az ingergazdagok, viszont az ingergazdag csoporton belül a kontroll és MSG kezelés között nem mutatkozott különbség (25.B ábra). A patkányok általában a hibázást a mellső végtaggal végzik, így azt külön vizsgáltuk. Ebben a kontroll MSG kezelt csoport szignifikánsan többet hibázott, mint az ingergazdag MSG kezelt állatok (25.D ábra). Az állatok összes lépéshibája és a lépésszáma aránya szintén szignifikáns különbséget mutatott az előbb említett két állatcsoport között (25.C ábra). Az említett szignifikáns különbségeket főként a 4. héten tapasztaltuk, a 3. posztnatális héten csak enyhe különbségek mutatkoztak a kétféle környezetben élő állatcsoport között. Az adatok arra utalnak, hogy a motoros koordináció fejlődése, ami szükséges a rácsokon való hiba nélküli járáshoz, az MSG kezelés által később, de ezt a fejlődési késedelmet az ingergazdag környezet kompenzálni tudta.



25. ábra: Motoros koordináció teszthei I. A: Lépésszám vizsgálata. B: Összes lépéshiba. C: Összes hiba/összes lépés százalékos aránya. D: Mellső láb hibaszám. (*: $p < 0,05$)

A kötélen való függeszkedési teszt és megdöntött deszkán végzett kapaszkodási teszt arra utalt, hogy a komplex ingergazdagságban élő állatok enyhén jobb teljesítményt mutattak, mint a kontroll társaik, de a különbség nem volt szignifikáns (26.A, B ábra). A harmadik heti mókuserék tesztek nem mutattak különbséget az állatcsoportok között (26.C ábra), néhány másodperc után minden állat leesett a kerékről, fejlettségük nem volt megfelelő. A negyedik héten a rotarod teszten már jobb teljesítményt nyújtottak, jelentős mértékű fejlődést mutatva a 3. héthez képest. Ezzel szemben a kontroll MSG kezelt csoport teljesítményében nem mutatkozott fejlődés, csak nagyon rövid ideig voltak képesek fent maradni a mókuseréken. Ingergazdag MSG kezelt állatoknál ezzel ellentétben fejlődés mutatkozott a harmadik és negyedik hét között (26.C ábra). A mozgás iniciációs tesztet végezve az volt megfigyelhető, hogy mind a harmadik, és mind az ötödik héten jóval több időt töltöttek el a kontroll MSG kezelt patkányok a belső körben, mint a másik három állatcsoport, ez szintén fejlődésbeli lemaradásra utal (26.D ábra).



26. ábra: Motoros koordináció tesztei II. A: Kötélen függeszkedés teszt. B: Kapaszkodási teszt megdöntött deszkán. C: Mókuserék teszt (Rotarod). D: Mozcás iniciációs teszt – belső kör

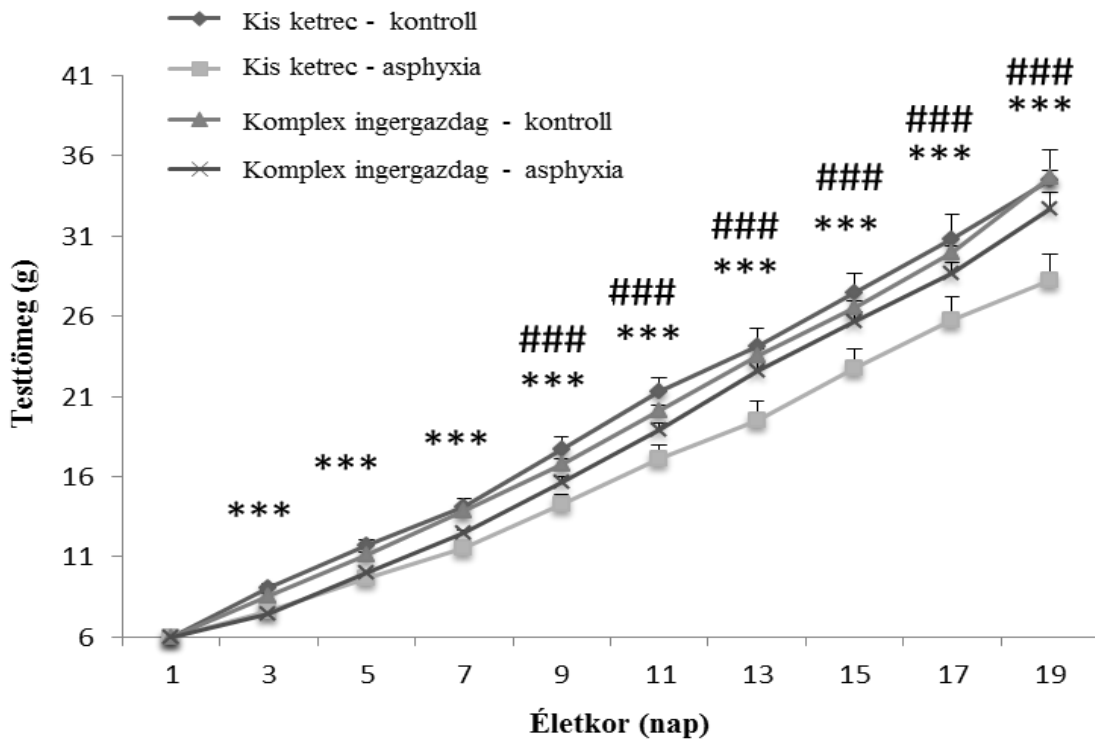
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE

Munkacsoportunk korábbi asphyxiás kísérleteihez (Kiss et al., 2009) hasonlóan az asphyxiás állatok között mind az akut mortalitás, mind a későbbi elhullás aránya jóval magasabb volt, mint a kontroll csoport állatai között.

SZOMATIKUS FEJLŐDÉS

A TESTTÖMEG VÁLTOZÁSA

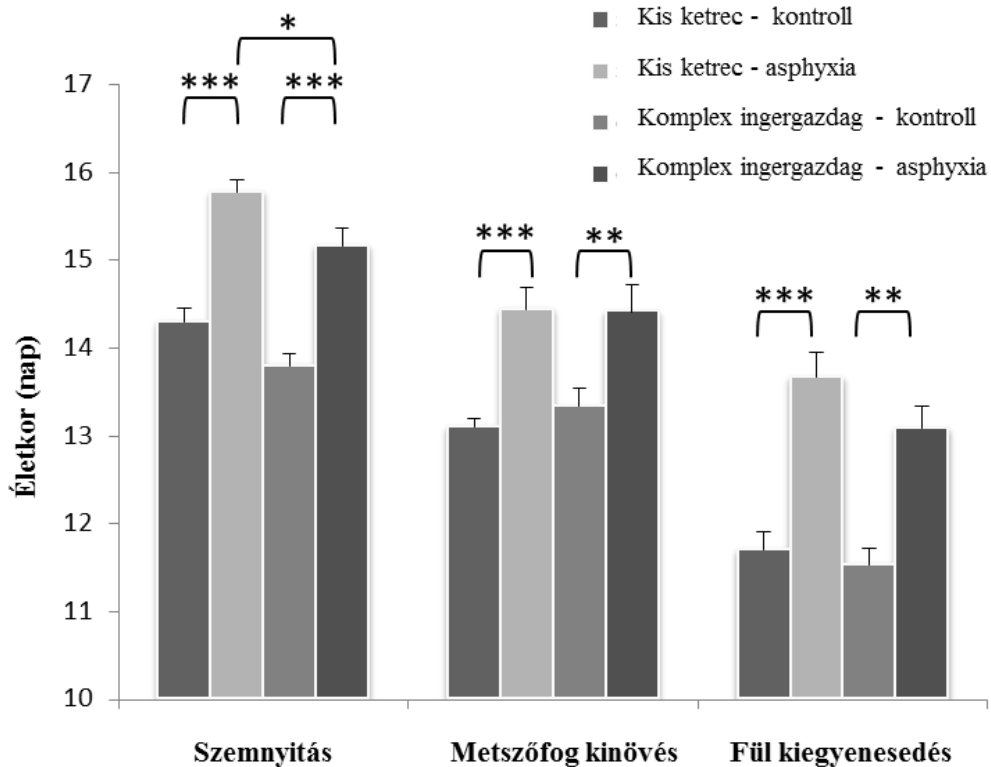
Az asphyxiás állatok testtömeg növekedése szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll állatoké, különösen a megfigyelés második hetében (27. ábra). Az ingergazdag környezetben tartott asphyxiás állatok esetén az első hetet követően nem volt különbség a testtömegben a kontroll csoporthoz képest. A korábbiakban említettekhez hasonlóan az ingergazdag környezet önmagában nem vezet testtömeg növekedéshez a nem-asphyxiás, normál fejlődésű csoport esetén. Ezen eredmények alapján az a következtetés vonható le, hogy az ingergazdag környezet kivédi az újszülöttkori asphyxia által indukált csökkent testtömeg gyarapodást.



27. ábra: A testtömeg változása az első két héten (***: $p < 0,001$ kis ketrec kontroll vs. kis ketrec asphyxiás csoport; ### $p < 0,001$ kis ketrec asphyxiás csoport vs. komplex ingergazdag asphyxiás csoport).

FIZIKÁLIS PARAMÉTEREK ÉS REFLEXFEJLŐDÉS

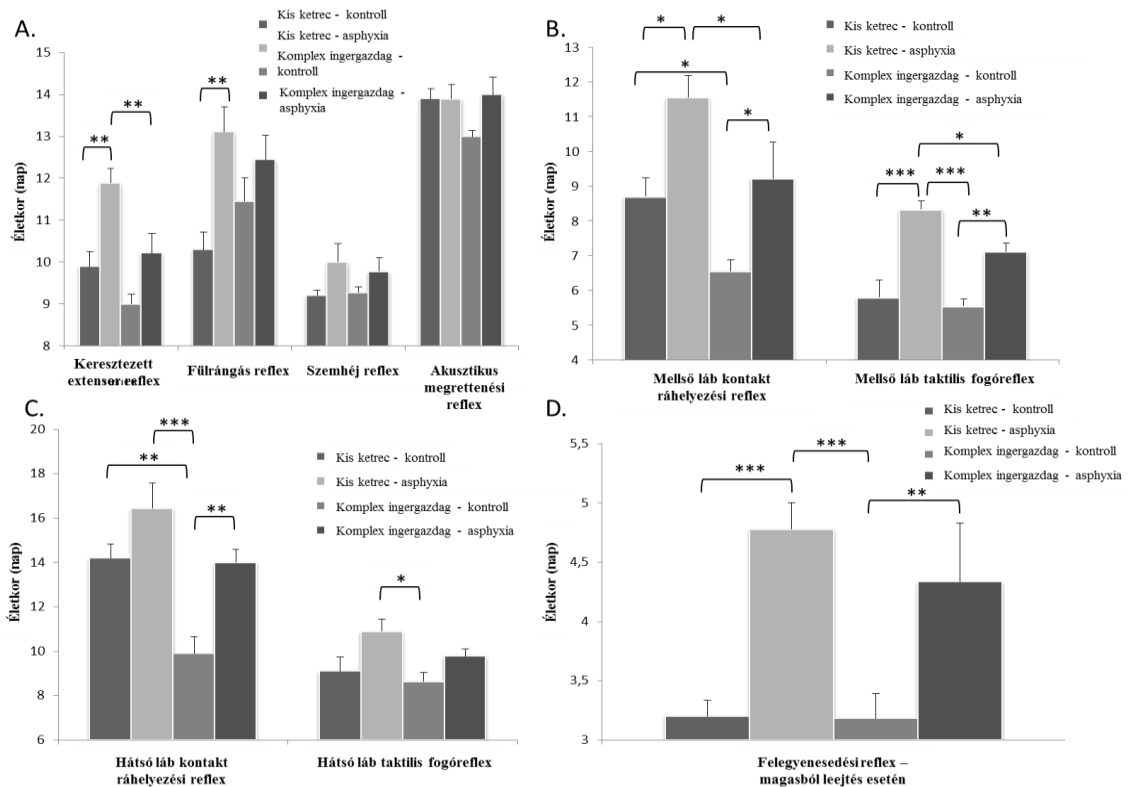
Nem találtunk szignifikáns különbséget a szemnyitás, fül kiegyenesedés és metszőfog kinövés megjelenési napját tekintve a kontroll kis ketrecben tartott és ingergazdag környezetben tartott állatok között (28. ábra). Ezzel szemben a perinatális asphyxia hatására szignifikáns fejlődési késés alakult ki. 1-2,5 nappal később jelent meg a szemnyitás, fül kiegyenesedés és metszőfog kinövés az asphyxiás csoportokban a kontroll állatokhoz képest (28. ábra). Ez a késés a szemnyitás tekintetében az ingergazdag állatcsoportnál szignifikáns kisebb volt, mint a kisketreces állatok fejlődése esetén. Bár nem szignifikáns, de ez a tendencia látható volt a metszőfog kinövés tekintetében is (28. ábra).



28. ábra: A fizikális paraméterek fejlődése: szemnyitás, fül kiegyenesedés és metszőfog kinövés. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

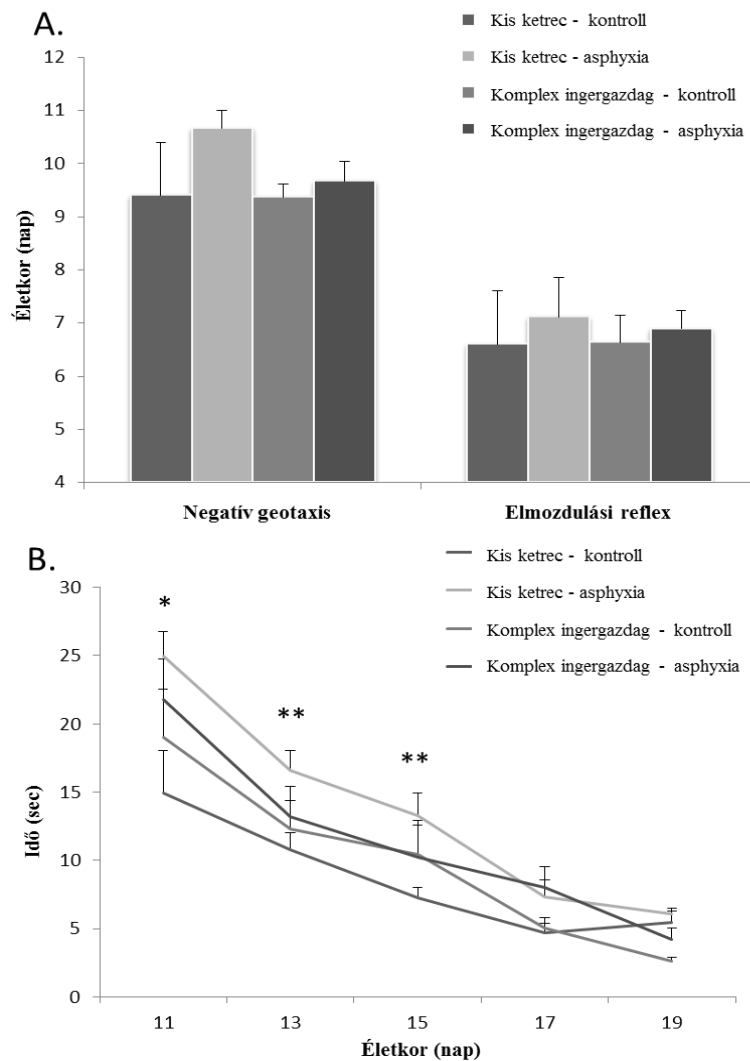
Munkacsoportunk korábbi megfigyeléseihez (Kiss et al., 2009) hasonlóan közel az összes reflex késve jelent meg az asphyxiás állatcsoport esetén (29. ábra). Több mint két napos késést figyeltünk meg a fülrágás reflex és a keresztezett extensor reflex megjelenésében a hypoxia esetén. A komplex ingergazdag környezet önmagában kis mértékben gyorsította a keresztezett extensor és akusztikus megrettenési reflexek kialakulását. Az ingergazdag környezet képes volt szignifikánsan csökkenteni a keresztezett extensor reflexnél asphyxiás állatokban a fejlődési késést (29.A ábra). A végtag ráhelyezési reflexek vizsgálatakor megfigyelhető volt, hogy az asphyxia szignifikáns késést okozott mind a mellső, mind a hátsó végtag reflexeinek megjelenésében (29.B, C ábra). Az ingergazdag környezet mind a mellső, mind a hátsó végtag kontakt ráhelyezési reflex megjelenését elősegítette, azaz a komplex ingergazdagság segített kivédeni az asphyxia negatív hatásait. Ehhez hasonló eredményeket kaptunk a taktilis fogóreflexek vizsgálata során. Asphyxiás lézió esetén mind a mellső, mind a hátsó végtag reflexei később jelentek meg, de ingergazdag környezetbe helyezett állatoknál ez a késés jelentősen csökkent (29.B, C ábra). Ez a csökkenés a mellső végtag esetén szignifikáns volt. Jelentős eltérések mutatkoztak a magasból való leejtés során jelentkező felegyenesedési reflex tekintetében is. Az

asphyxia kb. 1,5 napos késést okozott a reflex megjelenésében, ezt az időeltolódást az ingergazdag környezet szignifikánsan nem tudta csökkenteni (29.D ábra).



29. ábra: A: Keresztezett extensor-, fülrángás-, szemhéj- és akusztikus megrötenési reflex megjelenése. B: Mellső végtag kontakt ráhelyezési- és taktilis fogóreflex megjelenése. C: Hátsó végtag kontakt ráhelyezési- és taktilis fogóreflex megjelenése. D: Magasból ejtés során bekövetkező felegyenesedési reflex megjelenése. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

A csoportok között nem volt jelentős különbség a negatív geotaxis és az elmozdulási reflex időbeni megjelenésében (30.A ábra), bár a reflex megjelenésének tendenciája megmutatkozik a kis ketrecben felnövő asphyxiás állatcsoport esetén. A gait (elmozdulási) teszt esetén a kis ketrecben élő asphyxiás állatcsoportnak szignifikánsan több időre volt szüksége, mint a kontroll állatoknak. Ez az elmozdulási idő az ingergazdag állatoknál kevesebb volt, de szignifikáns különbséget nem találtunk (30.B ábra).

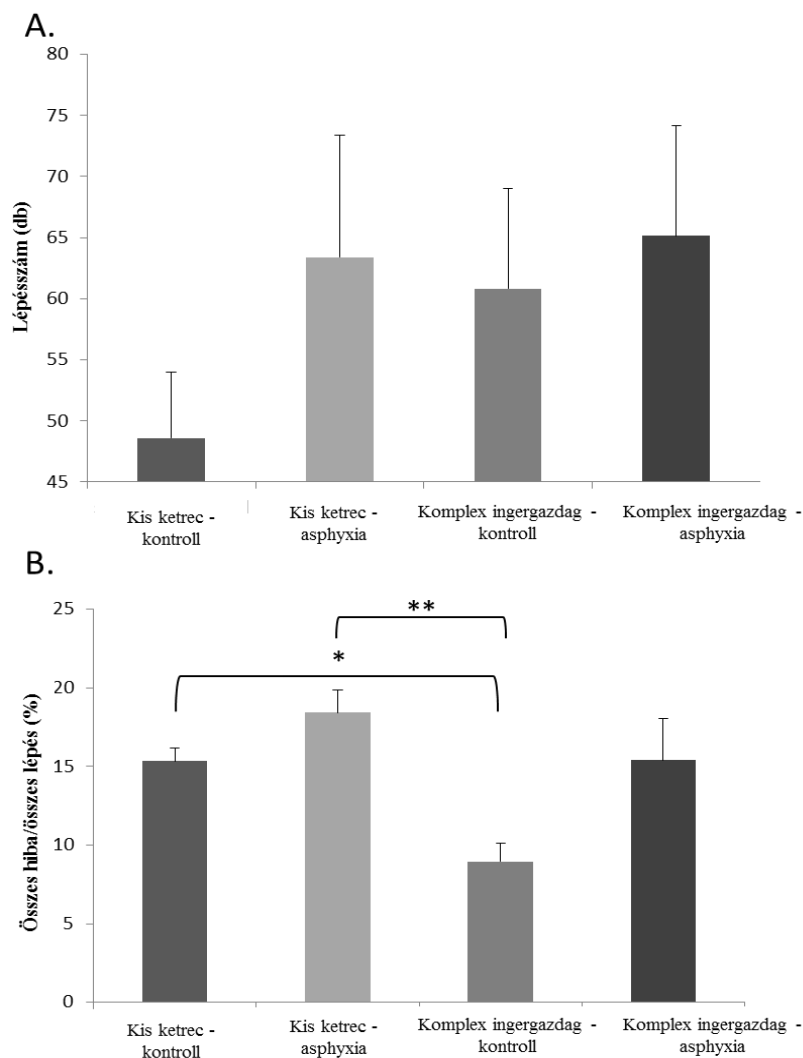


30. ábra: A: Negatív geotaxis és elmozdulási reflex megjelenése. B: Az elmozdulási reflex teljesítmény a 11-19. nap között. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$ a kis ketrec kontroll vs. kis ketrec asphyxiás állatcsoport között).

MOTOROS KOORDINÁCIÓ

A motoros koordináció tesztjeit tekintve korábbi vizsgálataink során az egyik legmegbízhatóbb vizsgálatnak a lépésszám és lépéshiba teszt bizonyult (Farkas et al., 2009; Kiss et al., 2005; Lubics et al., 2005). Az állatok lépéseit számolva a 4. héten látható volt – a különbség nem szignifikáns –, hogy a kis ketrecben kontroll körülmények között tartott patkányok kevesebbet léptek, mozogtak, mint bármelyik másik ketrec állatai (31.A ábra). A lépéshiba vizsgálata azt mutatta – az előzetes feltételezésnek megfelelően –, hogy az asphyxiás állatok jelentősen többet hibáztak a rácson való mozgás közben. Az ingergazdag kontroll csoport viszont kevesebb hibát

vétett mozgása során, mint a kis ketrecben élő kontroll csoport. Hasonló tendencia volt megfigyelhető a kis ketrec asphyxiás és komplex ingergazdag asphyxiás csoportok között is (31.B ábra).



31. ábra: Motoros koordináció teszthei a negyedik. héten: Lépésszám és lépéshiba teszt. A: Lépések száma összesen. B: Összes hiba/összes lépés százalékos aránya. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$).

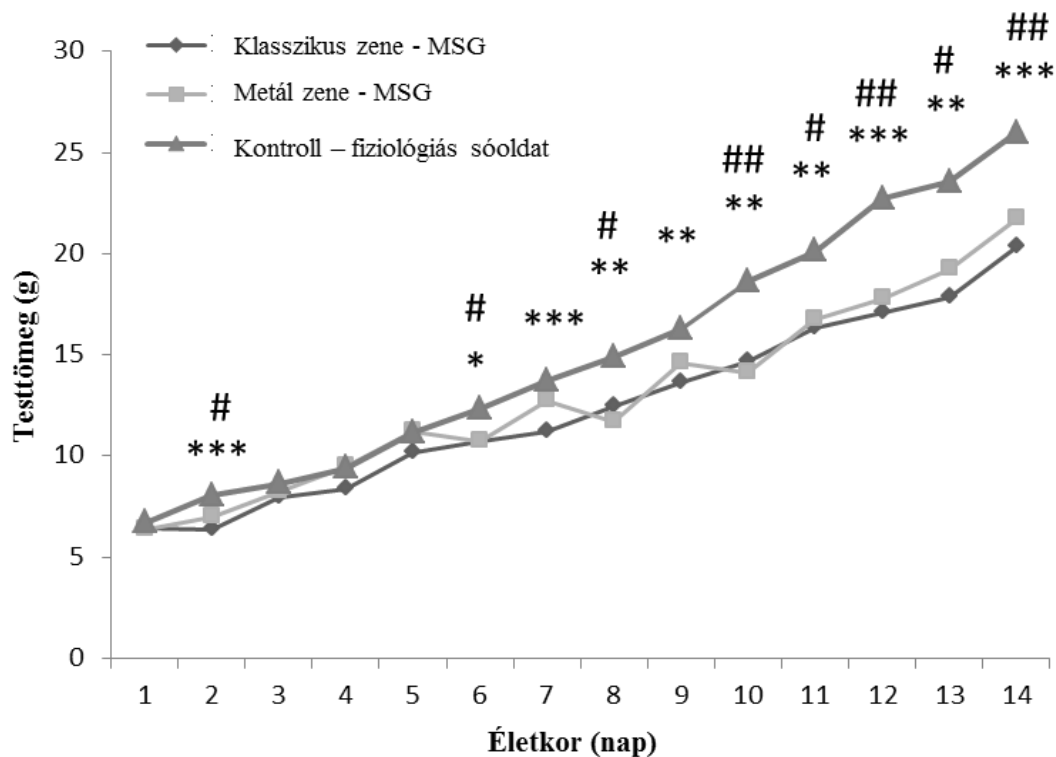
A ZENEI INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE

SZOMATIKUS FEJLŐDÉS

A zenei környezet a fiziológiás sóoldattal kezelt állatok esetében nem eredményezett változást a csendes környezetben élő kontroll csoporthoz képest, így ezen állatcsoport eredményeit külön nem tüntettük fel.

A TESTTÖMEG VÁLTOZÁSA

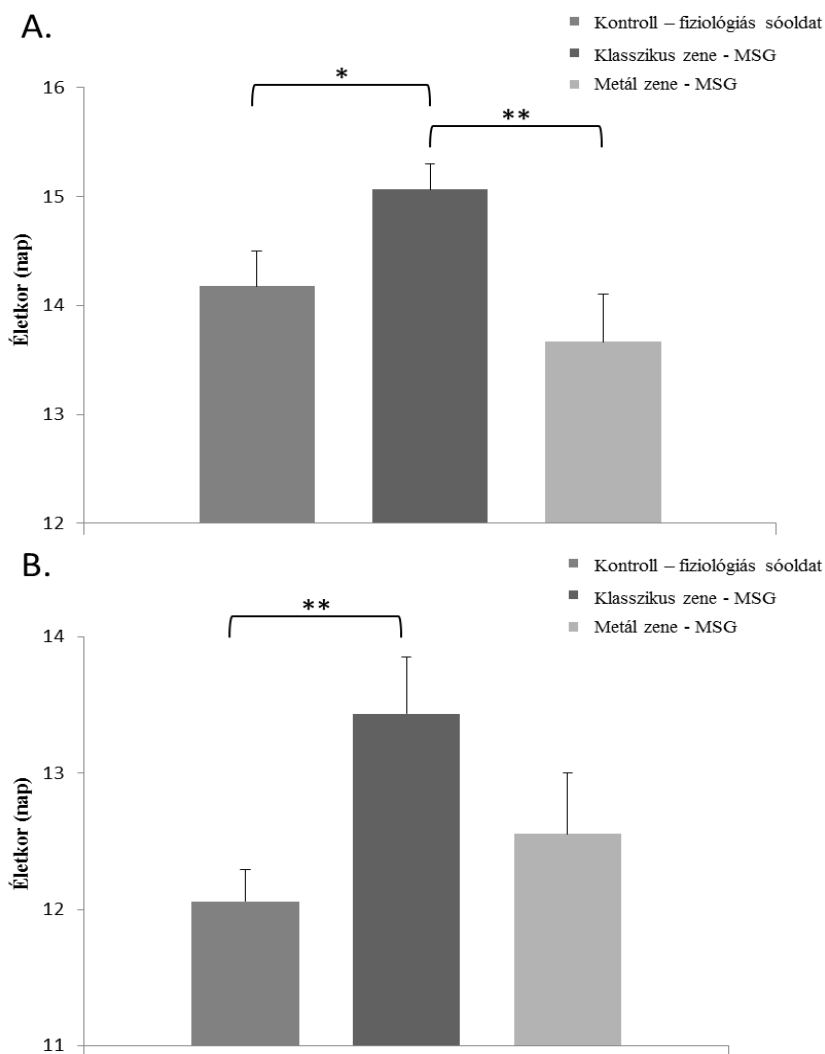
Az állatok testtömeg változását vizsgálva az első két hét során a 4 mg/g MSG kezelés hatása látható volt mind a klasszikus MSG, mind a metál MSG kezelt csoport esetében. Az MSG kezelt állatok testtömege szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll fiziológiás sóoldattal kezelt állatoké, a normál testtömeg gyarapodás MSG kezelés hatására elmaradt, illetve szignifikánsan kisebb mértékű volt (32. ábra). A két zenés csoport között különbség nem volt. Ez alapján egyik típusú zene sem rendelkezett a másiktól eltérő, védő hatással.



32. ábra: A testtömeg változása az első két héten. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$ kontroll fiziológias sóoldat kezelt vs.klasszikus MSG kezelt csoport; #: $p < 0,05$, ##: $p < 0,01$ kontroll fiziológias sóoldattal kezelt vs.metál MSG kezelt csoport).

FIZIKÁLIS PARAMÉTEREK ÉS REFLEXFEJLŐDÉS

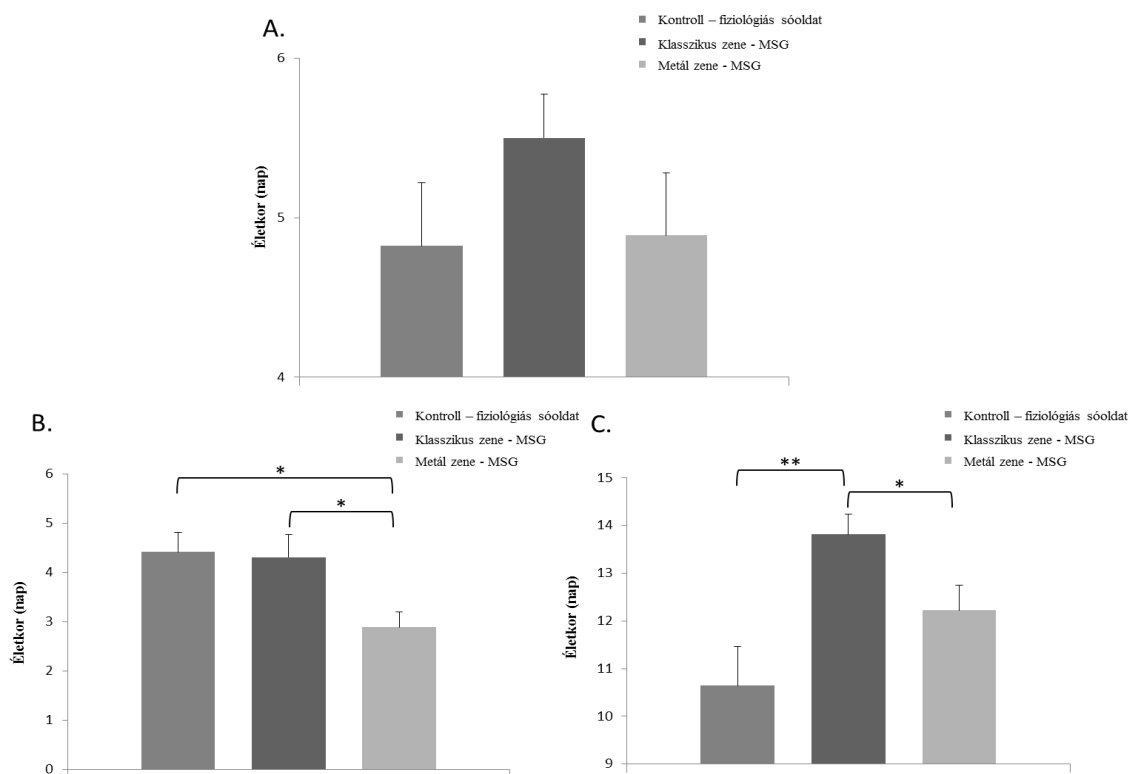
A fizikális paraméterek vizsgálata során a szemnyitás megjelenése a klasszikus MSG kezelt csoport esetén szignifikánsan később jelent meg, mint a kontroll fiziológias sóoldattal kezelt állatok, illetve mint a heavy metál zenét hallgató MSG kezelt patkányok esetén (33.A ábra). A fül kiegyenesedésének megjelenésében is a szemnyitáshoz hasonló eredményt kaptunk, a klasszikus MSG kezelt csoportnál szignifikánsan később jelent meg, de itt csak a csendes körülmények között élő fiziológias sóoldattal kezelt csoporthoz képest, a heavy metál zenés MSG kezelt és a klasszikus zenés MSG kezelt állatok között szignifikáns különbség nem mutatkozott (33.B ábra).



33. ábra: A fizikális paraméterek fejlődése: A: szemnyitás; B: fül kiegyenesedés.
 (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$).

A reflexfejlődés vizsgálata során a mellső végtagok taktilis fogóreflexe az előzőekben tárgyalt szemnyitás és fül kiegyenesedés megjelenéséhez hasonló tendenciát mutatott, a klasszikus zenét hallgató MSG kezelt csoportnál jelent meg legkésőbb, bár a taktilis fogóreflex esetén a különbség nem volt szignifikáns (34.A ábra). A magasból történő leejtés során mutatkozó felegyenesedési reflex megjelenése a heavy metál zenés MSG kezelt csoportnál szignifikánsan korábban jelentkezett, mint a másik két állatcsoportnál. Ennél a felegyenesedési reflexnél nem mutatkozott különbség a csendes környezetben élő fiziológiás sóoldattal kezelt és a klasszikus zenés MSG kezelt csoport között (34.B ábra). Az akusztikus megrettenés vizsgálata során szignifikáns különbséget találtunk az állatcsoportok között. A klasszikus zenés MSG kezelt állatoknál szignifikánsan később jelent meg, mint a csendben élő fiziológiás sóoldattal kezelt,

vagy a heavy metál zenés MSG-s állatoknál (34.C ábra). Ez utóbbi két csoport között nem találtunk különbséget.



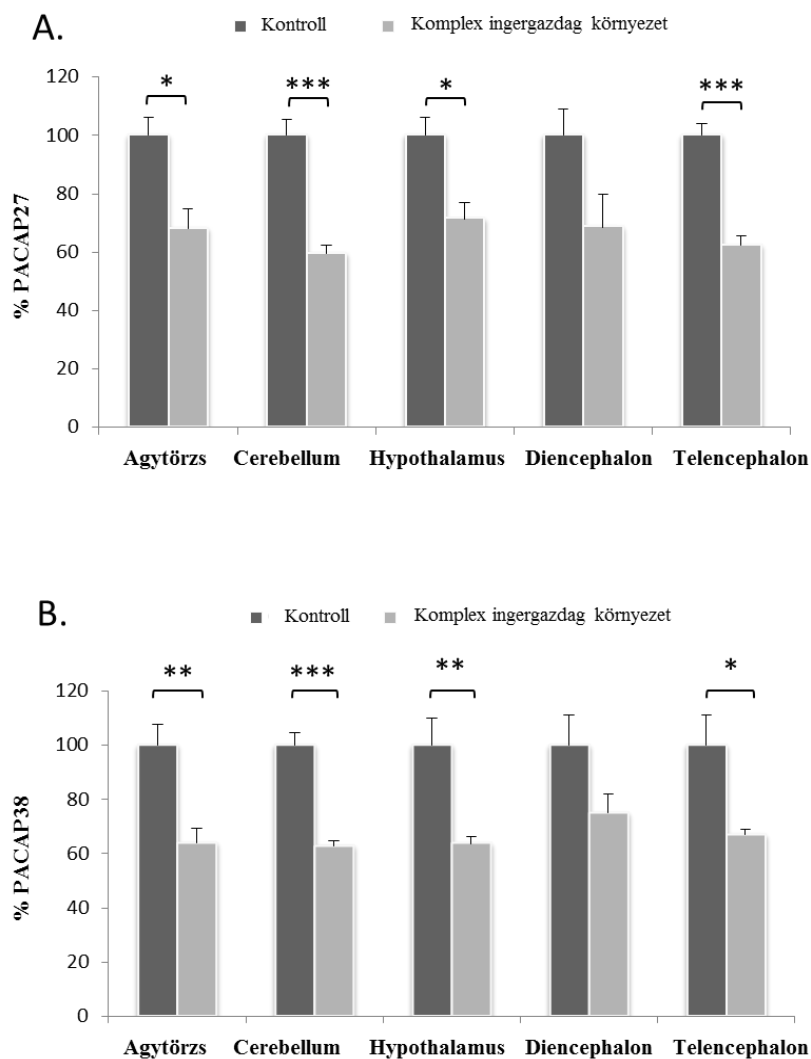
34. ábra: A: Mellső végtag taktilis fogóreflex megjelenése. B: Magasból ejtés során bekövetkező felegyenesedési reflex megjelenése. C: Akusztikus megrettenési reflex megjelenése. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$).

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENSZERI PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA FIATAL ÉS FELNŐTT PATKÁNYOKBAN

Vizsgálataink során szenzitív és specifikus radioimmunoassay módszer alkalmazásával lehetőségünk nyílt a PACAP27 és PACAP38-szerű immunreaktivitás mérésére. Ezt a módszert munkacsoportunk már korábban is alkalmazta (Kiss et al., 2007). Korábbi eredményeinkhez és a mások által találtakhoz hasonlóan, jelen kísérletünkben is kb. 10x magasabb PACAP38 szinteket mértünk, mint a PACAP27 szintje. Ahhoz, hogy a különböző korú, és eltérő környezetben felnövő állatokból vett minták eredményeit megfelelően össze tudjuk hasonlítani, az Anyagok és módszerek fejezetben leírtaknak megfelelően mindig a kontroll csoporthoz viszonyítva, százalékban adtuk meg a mért adatokat.

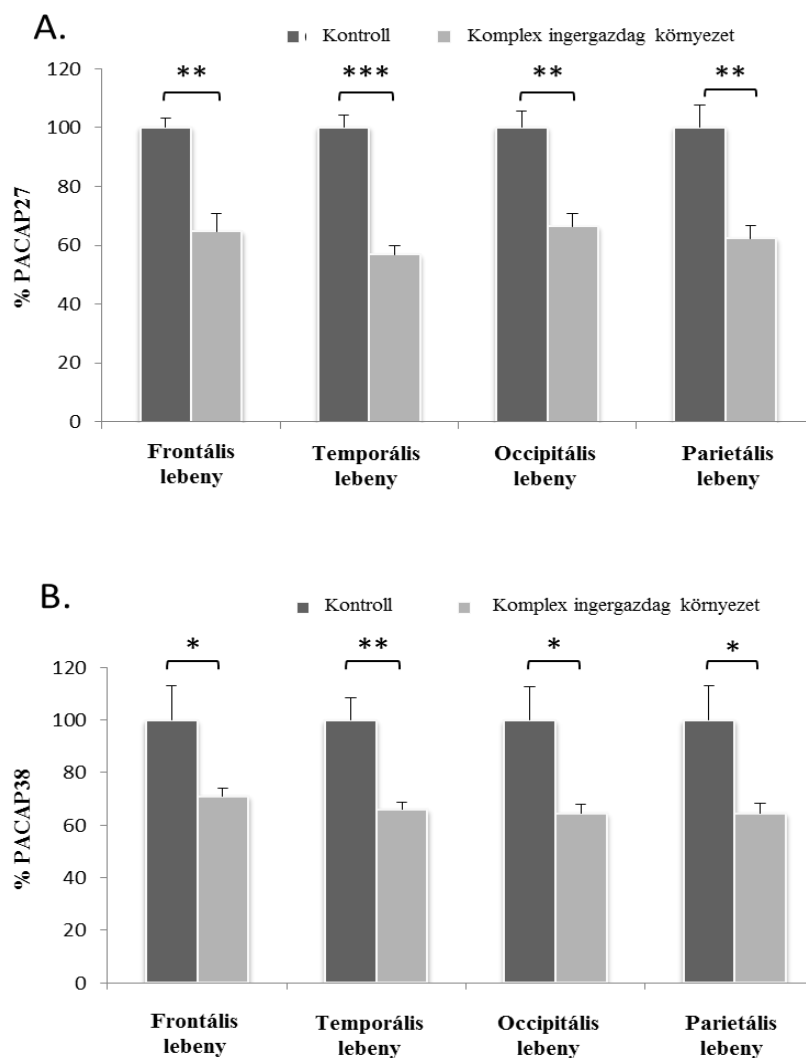
PACAP SZINTEK A 3 HETES PATKÁNYOK KÖZPONTI IDEGRENSZERÉBEN

Az ingergazdag környezetben tartott 3 hetes patkányok mintáiból kapott eredmények azt mutatják, hogy az agytörzs, cerebellum, hypothalamus és telencephalon területein szignifikánsan alacsonyabb mind a PACAP27, mind a PACAP38 szintje a kontroll, standard élettérben tartott állatokhoz viszonyítva (35.A, B ábra).



35. ábra: A: PACAP27 szintek (%). B: PACAP38 szintek (%) a központi idegrendszer egyes területein 3 hetes patkányokban. A komplex ingergazdag környezetben élő csoport értékeit a kontroll csoportéhoz viszonyítottuk, ez utóbbit vettük 100%-nak. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

A telencephalon lebenyeit külön-külön is megvizsgálva látható volt, hogy ez a szignifikáns különbség minden lebeny esetén (frontális, temporális, occipitális és parietális lebeny) külön-külön is megjelent a PACAP27 és -38 esetén is (36.A, B ábra).

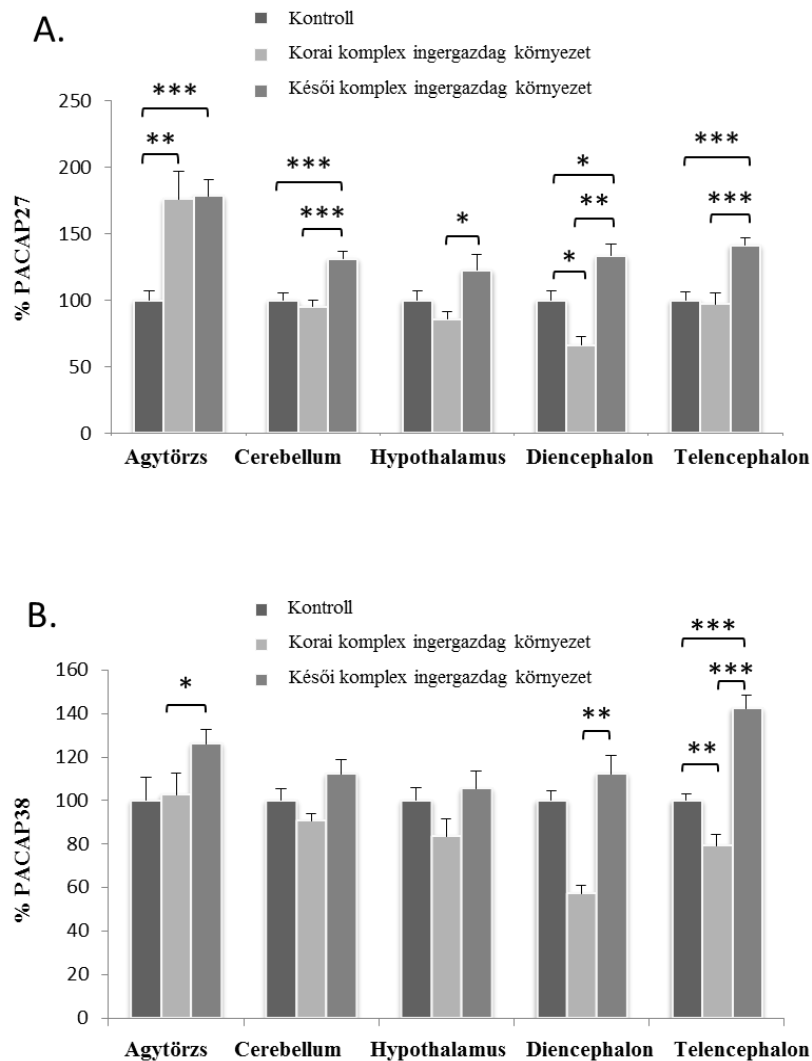


36. ábra: A: PACAP27 szintek (%). B: PACAP38 szintek (%) a nagyagy egyes területein 3 hetes patkányokban. A komplex ingergazdag környezetben élő csoport értékeit a kontroll csoportéhoz viszonyítottuk, ez utóbbit vettük 100%-nak. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

PACAP SZINTEK A FELNŐTT PATKÁNYOK KÖZPONTI IDEGRENSZERÉBEN

Kísérletünk második részében 6 hónapos állatok mintáiból mértük a PACAP27- és PACAP38-szerű immunreaktivitást. Állatainkat három csoportra osztottuk, kontroll, standard körülmények között felnövő, korai posztnatális

ingergazdag és késői ingergazdag környezetben tartott csoportra. A korai, megszületés után 3 hétig biztosított ingergazdag környezet hatására a 6 hónapos állatokban a PACAP szintekben egy kivétellel nem találtunk jelentős eltérést a kontroll csoporthoz képest. Eltérő volt a PACAP27szintje az agytörzs területén, ami szignifikánsan magasabb volt a korai 3 hétig tartó ingergazdag környezet hatására, míg a diencephalon területén szignifikánsan alacsonyabb PACAP27 szintet találtunk (37.A ábra). A PACAP38-at vizsgálva (37.B ábra) a telencephalon mutatott csak eltérést, itt a korai ingergazdagság hatására csökkent a PACAP szint. Ezzel szemben a felnőttkorban biztosított 3 hetes ingergazdagság azt eredményezte, hogy legtöbb agyterületen szignifikánsan megnőtt a PACAP neuropeptid szintje. A késői komplex ingergazdag környezet a PACAP27 esetén mind az agytörzs, cerebellum, diencephalon és telencephalon szignifikánsan magasabb szintet mutatott, mint a kontroll csoport. A PACAP38 szintjét vizsgálva a telencephalon mintái adtak szignifikáns eredményt (37.A, B ábra).



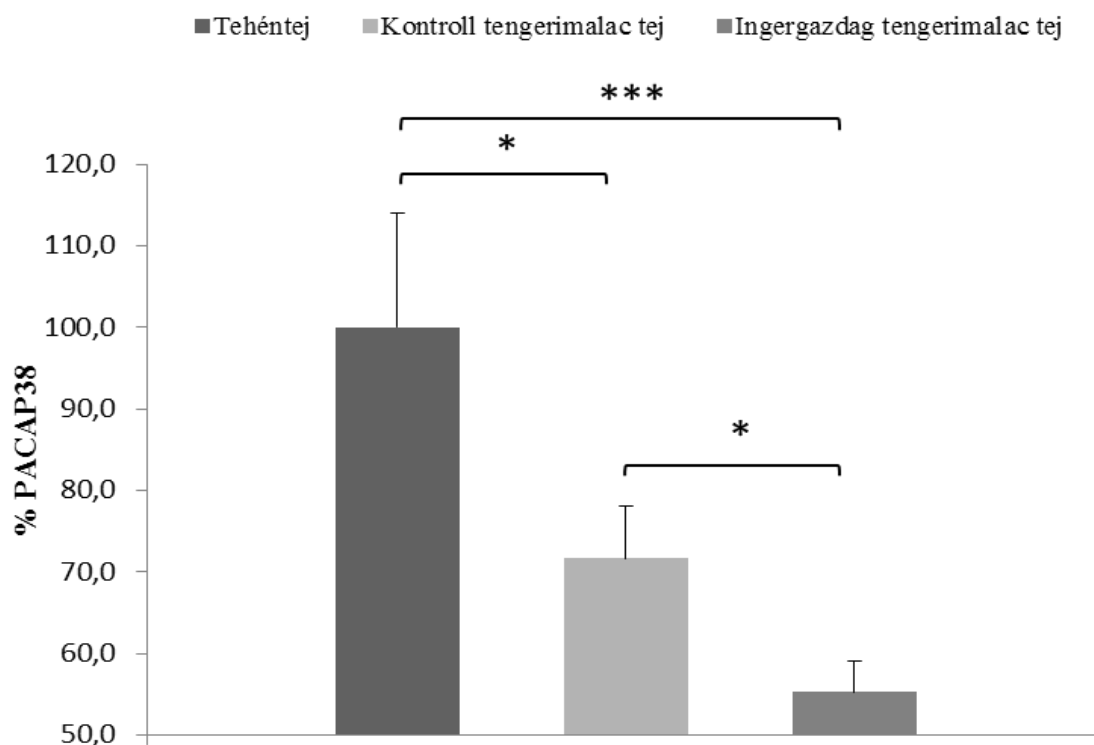
37. ábra: A: PACAP27 szintek (%). B: PACAP38 szintek (%) a felnőtt (6 hónapos) patkányok központi idegrendszerének egyes területein korai posztnatális és késői posztnatális ingergazdag környezet hatására. A komplex ingergazdag környezetben élő csoportok értékeit a kontroll csoportéhoz viszonyítottuk, ez utóbbit vettük 100%-nak. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA TENGERIMALAC TEJBE

Munkacsoportunk korábban már vizsgálta a PACAP előfordulását különböző állatok és ember tejmintáiban is (Czegledi et al., 2011; Tamas et al., 2015 poszter). Az azonban még nem volt ismert, hogy az ingergazdag környezet befolyásolja-e a tejben lévő PACAP mennyiségét. Ezt tengerimalacokban vizsgáltuk.

A tengerimalacok tejében környezettől függetlenül szignifikánsan kevesebb a PACAP, mint a tehéntejben (38. ábra). A tengerimalacok tejében lévő PACAP

mennyiségére a környezet jelentős hatással van, a komplex ingergazdag környezet hatására szignifikánsan alacsonyabb PACAP szintet mértünk a tejmintákból (38. ábra).



38. ábra: PACAP38 szintek (%) tejmintákban. A tengerimalac csoportok értékeit a tehén mintákhoz viszonyítottuk, ez utóbbit vettük 100%-nak. (*: $p < 0,05$, ***: $p < 0,001$).

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ ÁLTAL INDUKÁLT NEMI KÜLÖNBSÉGEK ISCHEMIÁS RETINA LÉZIÓS PATKÁNYMODELLBEN

Munkacsoportunknak számos toxikus és ischémias állatmodell retinával kapcsolatos vizsgálata volt már. Az MSG-indukálta toxikus retinakárosodás esetén az ingergazdagság védő hatású volt (Kiss et al., 2011). Ezek az eredmények nem alkotják a jelen tanulmány szerves részét, viszont előzményként és magyarázatul szolgálnak arra, hogy miért kezdtük el vizsgálni a környezet hatását az ischémias retina lézió modellben.

A KÉTOLDALI ARTERIA CAROTIS COMMUNIS LEKÖTÉS HATÁSA KIS KETRECBEN VALÓ REGENERÁCIÓ ESETÉN

Az áloperált állatok (SHAM) retinája normál képet mutatott (39.A ábra). Korábbi eredményekkel megegyező módon nem találtunk különbséget az áloperált és intakt, nem operált állatok retinája között (Atlasz et al., 2007). A SHAM operált állatok retináján a sejtrétegek jól elkülönültek: stratum pigmenti retinae, str. bacilli et coni (PL), str. plexiforme externum (OPL), str. plexiforme internum (IPL), str. granulosum externum (ONL), str. granulosum internum (INL) és str. ganglionare (GCL). Nem volt nemi különbség a SHAM operált állatok retinájában. Az arteria carotis communis kétoldali két hetes lekötése eredményeként – munkacsoportunk korábbi eredményeivel megegyező módon (Atlasz et al., 2007; Szabadfi et al., 2010) - súlyos szerkezeti károsodás alakult ki a retinában (39.D ábra). A retina egyes rétegeinek vastagsága szignifikánsan csökkent, a legnagyobb mértékű csökkenést a str. granulosum internum és a str. plexiforme internum rétegeiben találtuk (40.B ábra). Ennek következtében a távolság a membrana limitans externa (OLM) és a membrana limitans interna (ILM) szignifikánsan csökkent, a retina teljes vastagságának jelentős csökkenéséhez vezetve (40.A ábra). Számos egyéb szerkezeti abnormalitást lehetett felfedezni: A sejtés rétegekben (ONL és INL) jelentős számú üres terület volt található az épen maradt idegsejtek perykarionjai között. A stratum ganglionare számos sejtje szintén súlyos degeneráció képét mutatta (39.D ábra). Érzékelhető volt a lecsökkent sejtszám az ONL és GCL rétegekben (40.C, D ábra). A kis ketrecben élő hím és nőstény állatok retinájában különbséget nem lehetett felfedezni.

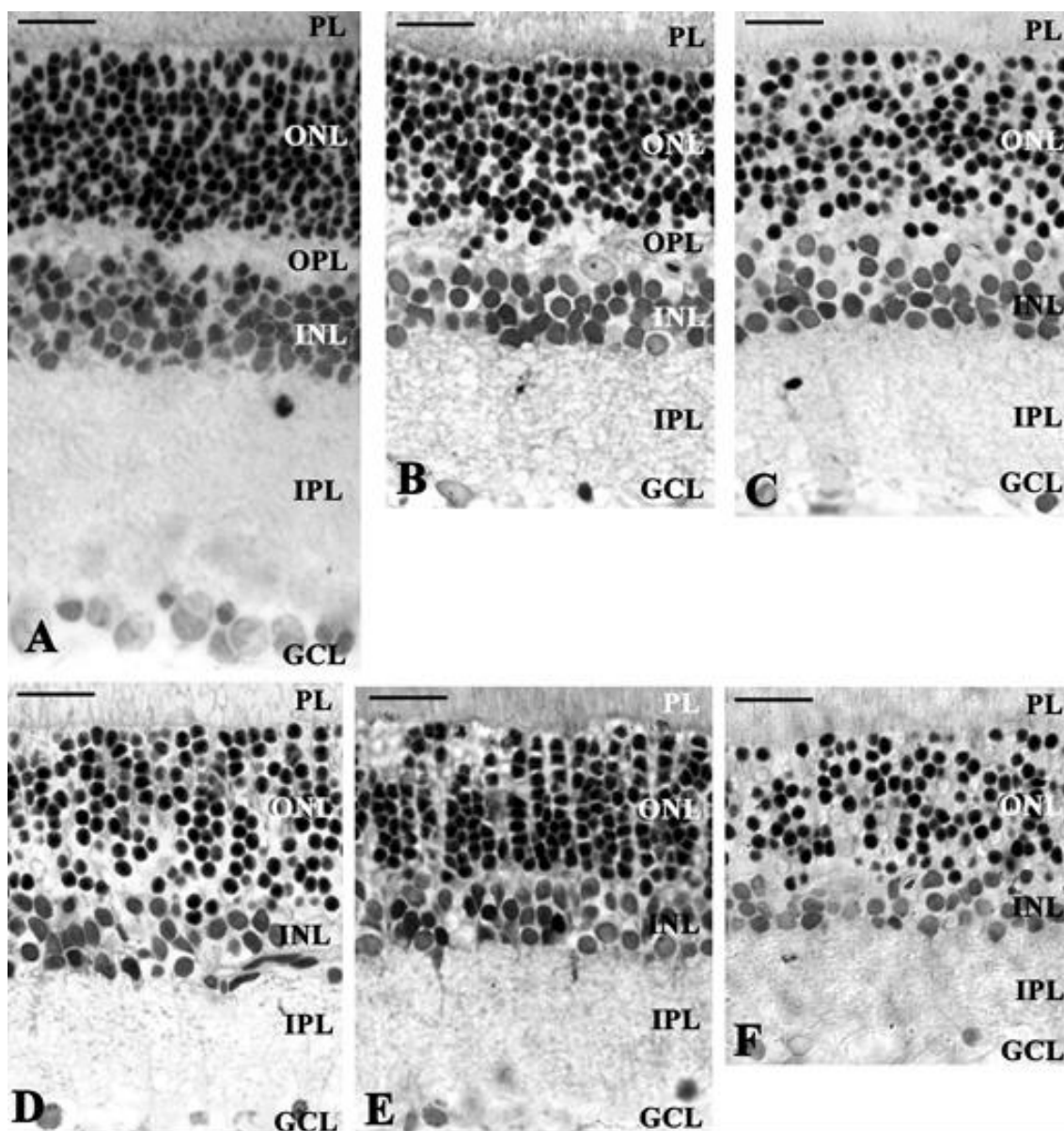
A KÉTOLDALI ARTERIA CAROTIS COMMUNIS LEKÖTÉS HATÁSA KOMPLEX INGERGAZDAG KÖRNYEZETBEN VALÓ REGENERÁCIÓ ESETÉN

Ha az állatokat a kétoldali carotis lekötés után két hétig komplex ingergazdag környezetben tartottuk, akkor a retinájuk sokkal jobb, megtartottabb szerkezetet mutatott, a kis ketrecben tartott állatokéhoz viszonyítva (39.B, C és D ábra). Ez a pozitív hatás mind a hím, mind a nőstény állatcsoport esetében megmutatkozott. Az ONL és INL retina rétegeknél kisebb mértékű degeneráció volt az ingergazdag hím és nőstény állatoknál. Ez szignifikánsan nagyobb OLM-ILM távolságot eredményezett (40.A és B ábra), a retina vastagabb volt. Az ingergazdag környezetnek nem volt

szignifikáns hatása a stratum plexiforme rétegeinek vastagságára (40.B ábra). A kis ketrec patkányaival ellentétben az ingergazdag környezet esetén már nemi különbséget is felfedeztünk. A sejtes rétegek szerkezete nőstény állatoknál kevésbé jól megtartott maradt, mint a hímeknél. A nőstények esetén tendenciózusan vékonyabb retina rétegek fordultak elő, mint a hímeknél, ez a különbség az OPL és INL rétegeknél szignifikáns volt. A nőstények esetén az INL rétegben üres, súlyosabban károsodott területek is megfigyelhetők voltak, míg ezek a hímek esetén szinte teljesen hiányoztak (39.B, C ábra). A stratum ganglionare 100 µm-es szakaszait vizsgálva a sejtek száma a BCCAO-n átesett, majd ingergazdag környezetbe helyezett hím állatok esetén magasabb volt, mint a BCCAO után kis ketrecbe helyezett patkányoknál (40.D ábra). Ez utóbbi eredményben találtuk az ingergazdag környezetben regenerálódó hím és nőstény csoport között a legjelentősebb különbséget: a nőstény csoportnál az ingergazdag környezet a ganglionsejt réteg védelme szempontjából nem mutatott védő hatást (40.D ábra). Hasonló eredményt találtunk az ONL réteg tekintetében is: a sejtek száma a nőstényeknél alacsonyabb volt, mint a hímek esetén (40.C ábra).

A KÉTOLDALI ARTERIA CAROTIS COMMUNIS LEKÖTÉS HATÁSA SZOCIÁLISAN IZOLÁLT KÖRNYEZETBEN VALÓ REGENERÁCIÓ ESETÉN

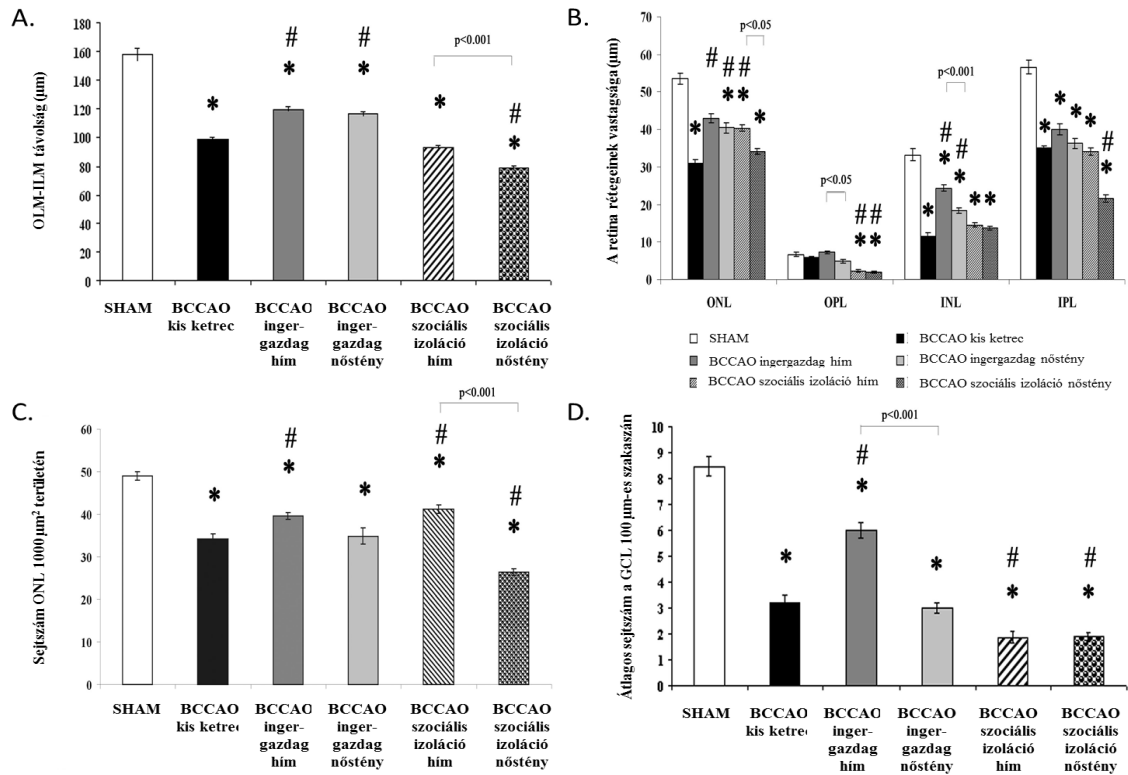
A kétoldali arteria carotis communis lekötést követően a szociális izolációt elszenvedett hím patkányok és a kis ketrecbe helyezett állatok között nem találtunk jelentős különbséget (39.D és E ábra, 40. ábra). A BCCAO-t követően szociálisan izolált nőstény állatok retinája azonban súlyosabb mértékben károsodott, mint az azonos körülmények között tartott hímeké (39.E, F ábra). A morfometriai analízis szignifikáns különbséget mutatott a hím és nőstény patkányok között az OLM-ILM távolság és az ONL vastagság tekintetében (40.A, B ábra). Az OPL mind a hím, mind a nőstény csoport esetében szignifikánsan vékonyabb volt a BCCAO hatására, mint a kis ketrecben tartott állatoknál (40.B ábra). Az ONL-ben és INL-ben láthatóak voltak a sejtek között üres területek (39.E, F ábra). A legsúlyosabb sérülés érintette az ONL és INL valamint az IPL területét (39.F és 40.B ábra). A kvantitatív analízis szignifikáns különbséget mutatott a GCL és az ONL rétegekben a kis ketreces és a szociálisan izolált csoportok között (40.C és D ábra). A hím és nőstény szociálisan izolált csoportok között a GCL-ben nem, de az ONL-ben szignifikánsan jobb eredményt mutatott a hím patkányoknál (40.C, D ábra).



39. ábra: Reprezentatív fényképek a toluidin kékkel festett retina metszeteiről
 A: áloperált (SHAM) csoport; B: hím BCCAO-n átesett, majd ingergazdag környezetbe
 helyezett csoport; C: nőstény BCCAO-n átesett, majd ingergazdag környezetbe helyezett
 csoport; D: BCCAO-n átesett, majd kis ketrecbe visszahelyezett csoport; E: hím
 BCCAO-n átesett, majd szociálisan izolált csoport; F: nőstény BCCAO-n átesett, majd
 szociálisan izolált csoport.

A hosszegység a képeken 20 μ m.

Rövidítések: PL: str. bacilli et coni; ONL: str. granulosum externum; OPL: str.
 plexiforme externum; INL: str. granulosum internum; IPL: str. plexiforme internum;
 GCL: str. ganglionare.



40. ábra: Morfometriai analízis a különböző állatcsoportok retináiból.

A: A retina OLM-ILM közötti vastagsága; B: Az ONL, OPL, INL, IPL rétegek vastagságai; C: A sejtek száma az ONL 1000 µm²-es területén; D: A sejtek száma a GCL 100 µm-es szakaszain (*: $p < 0,001$ a SHAM csoporthoz viszonyítva; #: $p < 0,001$ a kisketreces BCCAO-n átesett csoporthoz viszonyítva).

Rövidítések: OLM: membrana limitans externa; ILM: membrana limitans interna; ONL: str. granulosum externum; OPL: str. plexiforme externum; INL: str. granulosum internum; IPL: str. plexiforme internum; GCL: str. ganglionare.

A laboratóriumi állatok ingergazdag környezetben (41. ábra) való vizsgálatával kapcsolatban jogosan merül fel a kérdés, hogy a természetben, természetes élőhelyükön ezek az élőlények valójában hogyan élnek. Az állatkísérletek nagy része a standard ketrecekben tartott állatokat vizsgálja, ez a természetes életkörülményeket tekintve egy szűkös,ingerszegény életteret jelent a legtöbb esetben. Így felvetődik a kérdés, hogy milyen hatásai vannak a mindennapokban végzett kísérleteink során a standard körülményeknek (azazingerszegény környezetnek) az állatokra.



41. ábra: Ingergazdag környezet a laboratóriumban

Mivel az irodalom az ingergazdag környezet és a standard környezet közötti különbségeket vizsgálja, mi is ezt az összehasonlítást vettük alapul, és vizsgálataink során ezzel a megközelítéssel vizsgáltuk ingergazdag környezet problematikájának kérdéskörét (van Praag et al., 2000).

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE

Vizsgálataink során sikerült bizonyítani, hogy az ingergazdag környezet a korai idegrendszeri fejlődést jelentősen nem befolyásolja, de csökkenteni tudja az excitotoxikus MSG kezelés fejlődést késleltető hatásait.

Az MSG kezelt újszülött patkányok egyik legszembetűnőbb fizikális tünete a testtömeg gyarapodás elmaradása volt. Az ingergazdagság ezt a negatív hatást teljes mértékben el tudta tüntetni. Néhány tanulmány beszámolt az ingergazdag környezet testtömeg csökkentő hatásáról (Mesa-Gresa et al., 2013), de mi nem találtunk ilyen

különbséget a fizioológias sóoldattal kezelt ingergazdag állatok esetében. Az, hogy az ingergazdagság ellensúlyozni képes az MSG kezelés testtömeg kapcsán kifejtett negatív hatásait, arra utal, hogy az ingergazdag környezet jelentős védelemmel bír az MSG neurotoxikus hatásával szemben.

Ismert, hogy az MSG kezelés újszülött patkányok esetén különböző biokémiai-, endokrinológiai- és magatartásváltozásokhoz vezet (Bodnar et al., 2001; Dawson, 1986; Dubovicky et al., 1997; Miquel et al., 2003). Kezdetben lassabban növekszik a testtömegük, majd adolescens kortól fokozottan nő a tömegük, de testhossznövekedésük ehhez képest elmarad, és obesek lesznek. MSG hatására a központi idegrendszerben az egyik leginkább degenerálódó terület a nucleus arcuatus és a retina, de neuronális károsodások és morfológiai elváltozások a cortex és hippocampus területén is bekövetkeznek (Beas-Zarate et al., 2002; Chaparro-Huerta et al., 2002; Kiss et al., 2005; 2007; Tamas et al., 2004). A magatartásváltozások tekintetében az újdonságkereső magatartásban ismertek eltérések (Kiss et al., 2007), leírták a habituáció és a lokomóció csökkenését is (Hlinak et al., 2005), valamint az explorációs magatartás eltérését is (Dubovicky et al., 1997). Munkacsoportunk már korábban vizsgálta, és leírta, hogy a neonatális MSG kezelés fejlődésbeli késést okozott, ami megkésett reflexfejlődést, lassabb motoros koordinációs fejlődést és zavart újdonságkereső magatartást eredményezett (Kiss et al., 2005; 2007). Azt is igazolta már munkacsoportunk, hogy az ingergazdag környezet védő hatású az MSG indukálta retinadegeneráció ellen (Szabadfi et al., 2009). Jelen vizsgálataink során igazoltuk, hogy az ingergazdag környezet hatása általános: csökkenteni tudja az MSG kezelt újszülött állatok lassabb idegrendszeri fejlődését. Mindazonáltal az MSG negatív hatásai nem teljes mértékben és nem minden területen kivédhetők az ingergazdagsággal. Ennek oka pontosan nem ismert, de hasonló szelektív protektivitás figyelhető meg más védő hatásmechanizmusok esetén is (Reglödi et al., 2003).

Az ingergazdag környezet népszerű protektív megközelítés különféle neuropatológiai állapotokban. Számos viselkedésmintázat korrelál az ingergazdag tartási körülményekkel. Ingergazdag környezet hatására kevesebb sztereotíp ismétlődő mozgás jelenik meg (Reynolds et al., 2013), csökken a kor előrehaladtával bekövetkező memóriavesztés (De Carvalho Mendes et al., 2013), csökkennek a depressziószerű tünetek (Richter et al., 2013), enyhébbek a pszichostimulánsokra adott válaszreakciók (Ravenelle et al., 2013). Az ingergazdagság előnyös hatásai között leírták a traumás, ischémiás és toxikus károsodás esetén mutatkozó védő hatását (Johnson et al., 2013;

Schneider et al., 2001). Az ingergazdag környezet csökkenti mind a funkcionális deficitet, mind a morfológiai elváltozásokat különféle sérülések során, mint például a 6-OHDA indukált nigrostriális lézió (Urakawa et al., 2007), agykérget érintő traumás agykárosodás (Monaco et al., 2013), valamint neonatális hypoxiás-ischémiás (Rojas et al., 2013) sérülés. Az ingergazdag környezet az érző funkciókra szintén hatással van: jobb a látás retinadegenerációs modellben (Baroncelli et al., 2013; Szabadfi et al., 2009).

Azonban az ingergazdag környezetnek nem mindenhol vannak pozitív, védő hatásai. Leírták többek között, hogy a metamfetamin neurotoxikus és pozitív megerősítő hatásaira az ingergazdagság nincs befolyással (Thiriet et al., 2011), illetve az apolipoprotein-E deficiens egerekben sem csökkentette az idegrendszeri deficitet (Lestaevel et al., 2013). Fontos viszont azokat a léziókat feltérképezni, ahol az ingergazdagság védő hatása megnyilvánul. Az MSG indukálta toxikus retinakárosodás szignifikánsan csökkenthető, ha az állatokat nagyobb, játékokkal ellátott ketrecekben tartjuk (Szabadfi et al., 2009). Fischer és munkatársai leírták, hogy az MSG indukálta tanulási problémák szintén javíthatók ingergazdag környezettel (Fischer et al., 1991). A maternális szeparáció magatartásra kifejtett negatív hatásait is képes kivédeni az ingergazdag környezet (Vivinetto et al., 2013). Ezen eredmények mind egybevágóak a jelen vizsgálataink során találtakkal.

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE

Kísérletünk ezen részében eredményeink azt mutatták, hogy az ingergazdag környezet képes volt csökkenteni a perinatális asphyxia indukálta késleltetett fejlődést. Azt találtuk, hogy a perinatális asphyxia jelentős szomatikus- és reflexfejlődésbeli késést eredményezett, valamint a motoros koordináció fejlődése is zavart szenvedett. Ezek az eredmények párhuzamban állnak munkacsoportunk korábban végzett megfigyeléseivel (Kiss et al., 2009). Munkacsoportunk korábban azt is leírta már, hogy az ingergazdag környezet képes ellensúlyozni az újszülöttkori MSG kezelés excitotoxikus károsító hatásait (Horvath et al., 2013). Asphyxiával kapcsolatos jelen vizsgálataink során ismét sikerült bizonyítani az ingergazdag környezet védő hatását,

ezzel pedig egy újabb állatkísérletes bizonyítékkal tudtuk erősíteni azt az álláspontot, ami szerint az ingergazdagság hatékony lehet a perinatális asphyxia kezelése során.

A perinatális asphyxia kognitív, lokomotoros és más magatartásbeli zavarokhoz vezet (Morales et al., 2010). A negatív hatások háttérében számos biokémiai és morfológiai eltérés húzódik. Többek között azt találták, hogy a neurotranszmitter szintekben és a metabolikus paraméterekben eltérés van a hippocampus és a cortex területén (Bustamante et al., 2007; Frizzo et al., 2010; Souza et al., 2013). A hippocampus területén késői sejthalált, valamint postszinaptikus denzitásbeli különbséget találtak (Cebral és Loidl, 2011; Dell'Anna et al., 1997; Morales et al., 2010). Az asphyxia némely esetekben fokozhatja a sejtproliferációt és a gliogenezist a hippocampus és a gyrus dentatus piramissejt rétegében (Keilhoff et al., 2010). A postszinaptikus fehérje ubiquitinációban változást indukál (Capani et al., 2009). Leírták, hogy asphyxiát követően az agyban egy akut proinflammatorikus válasz játszódik le (Bonestroo et al., 2013; Maślińska et al., 2002). A striatum és substantia nigra területén fokozott az apoptózis és a neuron pusztulás (Klawitter et al., 2007; Van de Berg et al., 2002). Az asphyxia indukálta változások nem csak az agyban, hanem az érzőrendszer területén a periférián is megjelennek (Bonestroo et al., 2013; Strata et al., 2010). Munkacsoportunk korábban már leírta, hogy a perinatális asphyxia súlyos mértékű retinadegenerációhoz vezet patkányoknál, és az idegrendszer fejlődésének jelentős késését eredményezi (Kiss et al., 2009).

Megfigyeltük többek között, hogy a testtömeg gyarapodás csökkent ütemű, a reflexek megjelenése megkésett az asphyxiát elszenvedett állatokban. Ingergazdag környezet hatására nem találtunk jelentős különbséget az első hét után az állatok testtömegében. A szemnyitás és a metszőfog kinövés továbbra is megkésett volt, de a reflexek megjelenésében és a motoros koordináció fejlődésében az ingergazdagság jelentős pozitív változást eredményezett.

Az ingergazdag környezet pozitív hatásai ismertek már az első, vagyis a XX. század közepén történt leírása óta (Hebb, 1947), amikor otthon, háziállatként tartott kísérleti patkányokon kognitív vizsgálatokat végeztek, és azt találták, hogy jelentősen jobb teljesítményt nyújtottak. Azóta ismertté vált, hogy az ingergazdagság hatással van az idegrendszer és látórendszer fejlődésére (Landi et al., 2009; Ortuzar et al., 2011). Az ingergazdag környezet a magatartást is befolyásolja: csökkenti a sztereotíp ismétlődő mozgásokat (Reynolds et al., 2013), csökkenti az idősődéssel kapcsolatos tanulási problémákat (Fernandez-Teruel et al., 1997), csökkenti a depressziószerű magatartást

(Richter et al., 2013), és a pszichostimulánsokra adott válaszreakciót (Ravenelle et al., 2013). Az ingergazdagság védi az idegrendszert különféle károsító hatásoktól is. Ilyenek lehetnek az ischemiás, toxikus és traumás sérülések (Johnson et al., 2013; Schneider et al., 2001). Részletesebben vizsgálva az ingergazdag környezet mind a funkcionális károsodás, mind a morfológiai sérülés nagyságát csökkentette 6-OHDA indukálta lézió esetén (Nobrega et al., 1992), kortikális traumás sérülés esetén (Monaco et al., 2013), és újszülöttkori hipoxiás-ischémiás sérülésnél (Rojas et al., 2013). Az ingergazdagság újszülöttkori hatása a szociális izoláció negatív következményeinek kivédése is (Imanaka et al., 2008).

Vizsgálataink során kimutattuk, hogy az ingergazdagság képes csökkenteni a neonatális MSG kezelés idegrendszeri fejlődésre kifejtett káros hatásait, valamint védő hatású excitotoxikus retinadegeneráció ellen (Horvath et al., 2013; Kiss et al., 2009). Neonatális frontális lebenysérülésnél az ingergazdagság nagyobb kérgi vastagságot és jobb kognitív teljesítmény eredményezett (Comeau et al., 2008). Perinatális alkoholkezelés, valamint post-traumás stressz esetén ha ingergazdag környezetben voltak az állatok, akkor a magatartásproblémák szignifikánsan kisebb mértékben jelentkeztek (Hannigan et al., 2007; Imanaka et al., 2006). Néhány tanulmány újszülöttkori hipoxiás sérülések esetén leírja az ingergazdagság jótékony hatását. Egyes vizsgálatok például azt találták, hogy a memória javult, míg a hippocampus- és a cortex atrophíára nem volt hatással az ingergazdag környezet (Pereira et al., 2007). Egy másik tanulmány szerint a neonatális anoxia súlyos szociális és viselkedésbeli következményekkel járt, amit az ingergazdagság nagymértékben vissza tudott fordítani (Adrian et al., 2006).

Az asphyxia indukálta folyamatok, amik a sejt halálához vezetnek főként a mitokondriális energia mechanizmusokkal kapcsolatosak. Ilyenek apoly-ADP ribóz polimeráz fokozott aktivitása, a mitokondriális membrán permeabilitást lehetővé tevő pórusok nyitása, kulcsfontosságú metabolikus enzimek (például piruvát dehidrogenáz komplex) inaktiválása (Robertson et al., 2009). Az ingergazdag környezet védő hatásának pontos molekuláris mechanizmusa nem teljesen ismert. Mindazonáltal számos jótékony molekuláris útvonal ismert ingergazdag környezet állatmodelljeiben. Az ingergazdagság hatással van a mitokondriális és nem mitokondriális apoptotikus aktivációra, amik a Bax és a Bad proteineket, kaszpázokat és mitogén aktiválta protein kinázokat (pl. p38 MAPK) foglalja magába (Sun et al., 2008; Robertson et al., 2009). Ezen kívül a nitrogén-monoxid szintetáz expressziójában írtak le változást, valamint

csökkent az oxidatív stressz markerek szintje (Yu et al., 2013). Továbbá ismert, hogy az ingergazdagság stimulálja a neurogenézist, növeli a dendrittüskék számát, fokozza a különféle neurotrofikus faktorok (BDNF, IGF, NGF) expresszióját (Baldini et al., 2013; Landi et al., 2009; Olsson et al., 1994; Vazquez-Sanroman et al., 2013). Ezek a növekedési faktorok szinaptogenezist indukálnak, valamint elősegítik a motorproteinek változását, ami elengedhetetlen az agyi plaszticitáshoz különféle sérüléseket követően (Kondo et al., 2012). Anoxiás patkányok esetén ingergazdag környezetben leírták a szerotonin receptorok denzitásának normalizálódását (Adriani et al., 2006), valamint a hippocampus területén a noradrenalin stimulált kalcium növekedést (Kusaka et al., 2004). Az ingergazdagság hatással van a hippocampusban található glükokortikoid receptorok és neuronális növekedési faktor koncentrációjára is (Olsson et al., 1994). Habár a molekuláris útvonalak még nem teljes mértékben feltérképezettek, az ingergazdag környezet egy ígéretes stratégia az asphyxiás újszülöttek kezelésére emberben is. Ez hasonló a taktilis stimulusok idegrendszeri védő hatásához, amit először patkányokban írtak le, de ma már az emberi gyógyászatban is alkalmazott eljárás (Clayton et al., 2003).

A ZENEI INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE

A zene az állatok magatartására és élettani folyamataira is hatással van (Fekete és Theodora, 2013; Fekete és Korsos, 2013; Fekete et al., 2014). Az irodalom a klasszikus zene normál növekedésre kifejtett pozitív hatását írta le (Gvaryahu et al., 1989; Papoutsoglou et al., 2007). Magatartásvizsgálatok megerősítik és támogatják a klasszikus zene potenciálisan pozitív hatását az állatok jólétének fenntartásában (Wells et al., 2002a; 2006; 2008). Az irodalomban ismertek a prenatális zene pozitív hatásai is: elősegíti az agy fejlődését, fokozza a neurogenézist a hippocampus területén, valamint pozitív hatással van a posztnatális motoros fejlődésre és tanulási képességekre (Kim et al., 2006).

Vizsgálataink során MSG-indukálta toxikus állatmodellben azt találtuk, hogy a testtömegnövekedést jelentősen nem befolyásolta a zene (klasszikus vagy heavy metál), az MSG testtömeggyarapodásra kifejtett negatív hatását nem lehetett a zenével kivédeni. Toxikus állatmodellünkben a különféle típusú (klasszikus vagy heavy metál)

zenék között különbségek voltak az idegrendszer fejlődésére kifejtett hatásukban. Egyes fizikális paraméterek, illetve reflexek megjelenése a heavy metált hallgató MSG kezelt állatcsoport esetén korábban mutatkozott, mint a klasszikus MSG kezelt patkányoknál. A toxikus kezeléssel átesett heavy metál csoport néhol még a fiziológiai sóoldattal kezelt kontroll csoportnál is korábban mutatott egyes fejlődési jeleket. Számos tanulmány igazolta, hogy a perinatális zene többféle mechanizmuson keresztül hatva (fokozott neurogenesis a hippocampus területén, fokozott neurotrophin szintézis és glutamát jelátvitel) modulálja a rágcsálókban a központi idegrendszer fejlődését és a neuroplaszticitást (Amagdei et al., 2010). Bizonyították, hogy a posztnatális zene növeli az állatok játékoságát, az állatok jólétében fontos (Jonge et al., 2008). Vizsgálati eredményeink igazolták, hogy ez eltérő zenetípusok eltérő hatásokkal rendelkeznek, de a klasszikus és heavy metál zene összehasonlítása kapcsán a nemzetközi irodalomból adatok még nem ismertek, így további vizsgálatokat igényel a pontos molekuláris mechanizmus, és jelátviteli útvonalak feltérképezése.

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENDSZERBEN ÉS TEJBEIN EXPRESSZÁLÓDÓ PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA

Vizsgálataink során sikerült bizonyítanunk, hogy az ingergazdag környezet felnőtt patkányokban fokozta az endogén PACAP szintet az agy különböző területein. Ezzel szemben fiatal, 3 hetes állatokban csökkent PACAP szintek mérhetőek. Tengerimalac tejben a 3 hetes patkányokhoz hasonlóan alacsonyabb, a kontroll csoporthoz viszonyítva csökkent PACAP38 szintet mértünk. Munkacsoportunk korábban már kimutatta a PACAP cirkadián változásait (Jozsa et al., 2001), és az agyi PACAP szintek éhezésre és a kasztrációra adott érzékeny válaszreakcióját (Kiss et al., 2007; Nemeth et al., 2006). Azon túl, hogy a környezeti tényezők és a PACAP szintek között összefüggés van, nem sok részlet ismert. Vizsgálatok bizonyítják, hogy a PACAP egyfajta környezeti szenzorként működik, és az eltérő körülményekre expresszió változással reagál (Nicot és DiCicco-Bloom, 2001). Vizsgálataink során azt találtuk, hogy az ingergazdag környezet különböző PACAP szinteket eredményez eltérő fiatal posztnatális és felnőtt állatok esetén.

A PACAP egy neurotrófikus hatásokkal is rendelkező neuropeptid, aminek különböző fejlődésre kifejtett hatásai vannak. A születés utáni csökkenő szintje

upregulálható különféle külső hatásokkal. Különböző neonatális sérülések hatására például emelkedik a szintje (Somogyvari-Vigh et al., 2004). A megfigyelésünk, hogy a PACAP szintje felnőttkorban nő, nem meglepő, mivel a PACAP szintek összefüggésben vannak a neuropeptid védő és trófikus hatásával. Úgy gondoljuk, hogy az ingergazdag környezet védő hatásához felnőttkorban részben hozzájárul a megnövelt PACAP expresszió, hasonlóan a már bizonyított NGF, BDNF és NT-3- hoz, amik a neurotrophin család tagjai, és hosszútávú ingergazdagság hatására emelkedett szintet mutatnak (Ickes et al., 2000). A különféle növekedési faktorok adják részben a molekuláris alapját az ingergazdag környezet hatásmechanizmusának (Ickes et al., 2000). Az ingergazdag környezet kapcsán a BDNF fontossága számos tanulmányban igazolódott már (Gelfo et al., 2011; Landi et al., 2009; Vedovelli et al., 2011). Az is bizonyított, hogy a BDNF egy lehetséges biomarker az ingergazdagság hatásának vizsgálata során (Vedovelli et al., 2011). Az idegrendszer növekedési faktorai között több esetben találtak összefüggést az ingergazdag környezettel. Az IGF szerepe kiemelhető az ingergazdagság retinális védő hatásában (Landi et al., 2009).

Vizsgálataink során azt találtuk, hogy fiatal korban az ingergazdagság hatására a felnőttkori PACAP szintnövekedéssel szemben annak csökkenése tapasztalható. Ezen eredményekhez kapcsolódva tengerimalac tejmintákban is alacsonyabb PACAP szinteket mértünk. A fiatal korban, illetve ezen életszakaszhoz kapcsolódóan a tejben talált alacsonyabb PACAP szintekre lehet egy feltételezett magyarázat, hogy a fejlődés korai fázisában a magas szint egyszerre sokféle növekedési faktorból felesleges lehet. A PACAP és az ingergazdag környezet hatása nagyban átfed, mint például az apoptózis szabályozása, a glia sejt differenciáció és a sejtciklusra való hatás területén is (Paban et al., 2011), emiatt lehetséges, hogy az egyik faktor megnövekedése a többi csökkenését eredményezi. Ismert, hogy a növekedési faktorok különbözőképpen szabályozottak újszülöttek és felnőttek esetén. Fiziológiás és patológiás stimulusok esetében a gén expressziós profilban változást írtak le újszülött és felnőtt hátsó gyökér ganglionáris neuronokban. Ez a változás az újszülött és felnőttkor közötti NGF-re való érzékenység különbségével magyarázható (Zhu és Oxford, 2011). Az ingergazdag környezetre adott korfüggő válasz különböző NGF szintekben manifesztálódik: ingergazdagság hatására idősebb korban magasabb NGF szint detektálható (Badowska-Szalewska et al., 2009). Az ingergazdagság neuroplasztikus hatásának kifejtésében egy másik növekedési faktor, a BDNF is fontos szerepet játszik. Ez szintén korfüggő változást mutat: felnőtt állatok esetén megnövekedett BDNF szint mérhető ingergazdag környezetben, míg fiatal állatokban nem találtak eltérést a normál

körülményekhez képest (Simpson et al., 2012). Eredményeink párhuzamban állnak Parks és munkatársainak megfigyeléseivel (Parks et al., 2008). Ők azt találták, hogy a prenatális alkoholkezelés növeli, az ingergazdagság pedig csökkenti a neurotrophin szinteket (NGF, BDNF, NT3) az agy különböző területein. Ők úgy összegezték eredményeiket, hogy fiatal korban a funkcionális fejlődést elősegítő ingergazdagság nem növekedési faktorokon keresztül fejti ki hatását (Parks et al., 2008).

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ ÁLTAL INDUKÁLT NEMI KÜLÖNBΣÉGEK ISCHEMIÁS RETINA LÉZIÓS PATKÁNYMODELLBEN

Eredményeink azt mutatták, hogy a környezeti tényezők képesek jelentősen befolyásolni az ischemiás retinakárosodás kiterjedését felnőtt patkányokban annak ellenére, hogy a felnőtt idegrendszer plaszticitása és regenerációs potenciálja csökkent. Sok tanulmány igazolta, hogy a protektív mechanizmusok - amik hatékonyak fiatal állatok esetén – sem morfológiai, sem funkcionális szempontból nem rendelkeztek védő hatással felnőttekben. A PACAP mint neuroprotektív peptid hatékonyan védett fiatal hím patkányoknál a substantia nigra sérülése esetén, viszont idős állatok esetén a védelem jelentősen kisebb mértékű volt (Reglődi et al., 2006). Ehhez hasonlóan az ingergazdag/ingerszegény környezet hatása is kor-függő (Arranz et al., 2011; Takemoto et al., 1975; van Praag et al., 2000). Mindazonáltal számos tanulmány igazolta többféle állatmodell és sérülés esetén, hogy az ingergazdag környezet jótékony volt felnőtt állatokban is (Mainardi et al., 2010; Yang et al., 2012).

A közelmúltban egy vizsgálat azt találta, hogy felnőtt patkányoknál ingergazdag környezetben jobb volt a kimenetele a retinasérülésnek különböző módon létrehozott ischemiás modellek esetén (Dorfman et al., 2013). Ezekkel az eredményekkel korrelálnak vizsgálataink eredményei, amikkel egy másik retinakárosodást létrehozó modellben is igazoltuk az ingergazdagság hatékonyságát. A léziót követő morfológiai javulás általában jobb funkcióval jár együtt (Young et al., 2012), míg a funkcionális javulás nem mindig jelenik meg anatómiailag, szövettanilag. Ezt a jelenséget az ingergazdag környezet esetén is leírták már. Martinez és munkacsoportja azt találta, hogy traumás agykérgi sérülést követően az ingergazdagság

hatással volt a mellső végtag funkciójára, de a kérgi szövettani vizsgálatok nem mutattak változást. Ennek ellenkezőjét is leírták viszont a hippocampus területén: fokozott funkcionális javulással párhuzamosan fokozott ischémias sejthalált detektáltak (Farrell et al., 2001). Hogy jelen vizsgálatunkban talált morfológiai változást követte-e funkcionális javulás, azt speciális erre vonatkozó vizsgálat hiányában nem tudtuk biztosan megmondani. Mindazonáltal korábban munkacsoportunk electroretinographia módszerével igazolta már, hogy a morfológiai javulást hasonló mértékű funkcionális változás követi (Danyadi et al., 2014; Varga et al., 2011). Az ingergazdag környezet BCCAO indukálta lézióban betöltött szerepét a központi idegrendszer egyéb részeiben vizsgálták már. Kimutatták, hogy a fiatal felnőtt állatok alapvetően alacsony plasticitása hippocampus hypoperfúzió esetén ingergazdag környezet hatására javult (Zhu et al., 2011). A hatás kifejeződéséért a megnövekedett pCREB, synaptophysin és MAP2 expresszió volt felelős. Ingergazdag körülmények között a GABAerg és glutamaterg neurotranszmisszió változásai is jelentősen hozzájárultak a szinaptikus erősség és -plaszticitás javulásához (Mainardi et al., 2010). A BDNF és az IGF is hozzájárult az ingergazdag környezet hatásainak kifejeződéséhez a retinában (Landi et al., 2009).

Jelen vizsgálataink egyik legfontosabb eredménye az volt, hogy az ingergazdag környezettel ellentétben az ingerszegénység, - amit szociális izolációval modelleztünk – súlyosabb mértékű retinadegenerációhoz vezetett. A szociális izoláció egy széles körben alkalmazott modell a gyógyszer-indukálta viselkedésváltozások, a stressz és különféle pszichiátriai kórképek vizsgálatára (Fabricius et al., 2011; Jain et al., 2013; Lee et al., 2013; Sale et al., 2007; Zakharova et al., 2012). Nagyon kevés adat ismert az ingerszegény környezet retinális hatásairól. Leírták, hogy a fényszegény körülmények között a nervus opticus sérülés gyógyulása csökkent volt (Prilloff et al., 2010). Azt még nem vizsgálták korábban, hogy milyen hatásai vannak a szociális izolációnak a retina lézióra. Eredményeink párhuzamban állnak más kutatásokkal, amik a szociális izoláció negatív hatásait mutatják be más modellekben, például a kainátsav-indukálta görcsök esetén (Kazl et al., 2009).

Nemi különbség fedezhető fel különböző neurológiai károsodások patofiziológiája és kimenetele során. Például az ischemia, gyógyszer indukálta neurotoxicitás vagy a neurotrauma (Alkayed et al., 1998; Chen et al., 2005; Stein, 2001; Suzuki et al., 2003). Számos bizonyíték igazolta, hogy a nemi hormonok hatással vannak a neurodegeneráció kialakulására, progressziójára és az akut sérülés utáni regenerációra is. A nem befolyásolhatja a neuroprotektív faktorok hatékonyságát is. A

nem mint befolyásoló tényező jelent meg az ischemiás központi idegrendszerben (Lang és McCullough, 2008). Leírták, hogy a kappa opioid receptor agonista protektív hatású hím patkányokban, nőstényekben viszont nem (Zeynalov et al., 2006). Stroke modellben a hím állatok sérülése nagyobb mértékű volt, mint a nőstényeké, viszont a léziót követően az ingergazdag környezet pozitív hatása a hímeiben fokozottan érvényesült (Saucier et al., 2007; 2010). Egy másik tanulmány ismertette, hogy agyi traumát követő ingergazdagság hímeknél elősegítette a kognitív funkciók javulását, de nőstények esetén ez a hatás nem jelentkezett (Wagner et al., 2002). Alzheimer kórban a hímeire nagyobb hatással volt az ingergazdag környezet (Arranz et al., 2011). Jelen eredményeink ezekhez hasonlóan az mutatták, hogy az ingergazdagság nőstényekben kevésbé protektív, mint hímeiben. A szociális izoláció kapcsán szintén megjelenhet nemi különbség (Zakharova et al., 2012). Számos tanulmány azt találta, hogy a nőstények fokozottabban reagáltak a szociális izolációra, mint a hímek (Mester et al., 2009; Westenbroek et al., 2005). Arranz és munkatársai szerint a nőstény állatok érzékenyebbek az ingergazdagság elvonására (Arranz et al., 2011). Eredményeink tehát párhuzamban állnak a nemzetközi irodalommal, és azt mutatják, hogy ingerszegény körülmények között a nőstény patkányok érzékenyebbek, sérülékenyebbek az ischemiás retinalézióra.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TÁVLATI CÉLOK

- A komplex ingergazdag környezet védő hatású toxikus károsodás esetén, az MSG kezelés testtömeg csökkentő hatása ingergazdag környezetben elmarad.
- A legtöbb reflex normál körülmények közötti fejlődésére az ingergazdag környezet nincs hatással, de az MSG hatására bekövetkező elmozdulási reflex teljesítmény és ráhelyezési reflex megjelenése ingergazdag környezetben eltűnik.
- Motoros koordinációs tesztekben az MSG kezelt, de ingergazdag környezetben élő állatok szignifikánsan jobban teljesítenek, mint az MSG kezelt kontroll patkányok, vagyis a környezet pozitív hatása itt is megmutatkozott.

- Asphyxiás lézió esetén az ingergazdag csoport testtömeg gyarapodása szignifikánsan jobb, mint a standard körülmények között élő asphyxiás állatoké.
- A szemnyitás, keresztezett extensor reflex, taktilis fogóreflex és kontakt ráhelyezési reflex esetén is szignifikánsan jobb teljesítményt nyújtanak az ingergazdag asphyxiás állatok a standard ketreces asphyxiás csoportnál.
- A zenei ingergazdag környezet is hatással van a neurológiai fejlődésre, eltérő stílusú zenék kis mértékben, de különböző hatást fejtenek ki.
- A központi idegrendszerben a PACAP27 és -38 szintek is szignifikánsan csökkennek 3 hetes állatokban ingergazdag környezet hatására, fél éves patkányokban viszont késői ingergazdag környezet hatására szignifikáns növekedést találtunk.
- A PACAP38 szint a tengerimalacok tejében az ingergazdag környezet hatására szignifikánsan alacsonyabb szintet mutat.
- Az ingergazdag környezet ischemiás retinalézió esetén védő hatású.
- A szociális izoláció negatívan befolyásolja az ischemiás retinaléziót.
- Az környezet hatása nem-függő, a nőstények kevésbé reagálnak az ingergazdag környezet pozitív hatásaira, valamint a szociális izoláció esetén sérülékenyebbek az ischemiás retina modell esetén.

A környezeti faktorok jelentős befolyással vannak a központi idegrendszerre, így a tudatos alkalmazásuk mindenképpen hasznos lenne az emberi gyógyászatban is. Reményeink szerint az alap kutatásban szerzett eredmény évek múlva elegendő lehet ahhoz, hogy az orvostudomány területén sokszor kizárólagosként alkalmazott gyógyszeres terápiát kiegészítse (Hannan, 2014), hatékony eszközt adva az orvosok kezébe, amit sikerrel lehetne bevezetni a központi idegrendszert érintő megbetegedések gyógyításában, és az azt követő hosszú távú rehabilitációs kezeléseikben.

- Aberg MA, Aberg ND, Hedbacker H, Oscarsson J, Eriksson PS (2000). Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 20, 2896-2903.
- Abolafia JM, Vergara R, Arnold MM, Reig R, Sanchez-Vives MV (2011). Cortical auditory adaptation in the awake rat and the role of potassium currents. *Cereb. Cortex* 21, 977-990.
- Adriani W, Giannakopoulou D, Bokulic Z, Jernej B, Alleva E, Laviola G (2006). Response to novelty, social and self-control behaviors, in rats exposed to neonatal anoxia: Modulatory effects of an enriched environment. *Psychopharmacology (Berl.)* 184, 155–165.
- Ago Y, Yoneyama M, Ishihama T, Kataoka S, Kawada K, Tanaka T, Ogita K, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Takuma K, Matsuda T (2011). Role of endogenous pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in adult hippocampal neurogenesis. *Neuroscience* 172, 554-561.
- Ali MM, Bawari M, Misra UK, Babu GN (2000). Locomotor and learning deficits in adult rats exposed to monosodium-L-glutamate during early life. *Neurosci. Lett.* 284, 57-60.
- Alkayed NJ, Harukuni I, Kimes AS, London ED, Traystman RJ, Hurn PD (1998). Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke* 29, 159–165.
- Allais A, Burel D, Isaac ER, Gray SL, Basille M, Ravni A, Sherwood NM, Vaudry H, Gonzalez BJ (2007). Altered cerebellar development in mice lacking pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Eur. J. Neurosci.* 25, 2604-2618.
- Allende-Castro C, Espina-Marchant P, Bustamante D, Rojas-Mancilla E, Neira T, Gutierrez-Hernandez MA, Esmar D, Valdes JL, Morales P, Gebicke-Haerter PJ, Herrera-Marschitz M (2012). Further studies on the hypothesis of PARP-1 inhibition as a strategy for lessening the long-term effects produced by perinatal asphyxia: Effects of nicotinamide and theophylline on PARP-1 activity in brain and peripheral tissue: Nicotinamide and theophylline on PARP-1 activity. *Neurotox. Res.* 22, 79–90.
- Alonso-Alconada D, Alvarez A, Lacalle J, Hilario E (2012). Histological study of the protective effect of melatonin on neural cells after neonatal hypoxia-ischemia. *Histol. Histopathol.* 27, 771–783.
- Altman J (1962). Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science.* 135, 1127-1128.
- Altman J, Sudarshan K (1975). Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim. Behav.* 23, 896-920.
- Altman J, Wallace RB, Anderson WJ, Das GD (1968). Behaviorally induced changes in length of cerebrum in rats. *Dev. Psychobiol.* 1, 112–117.

- Amagdei A, Balteş FR, Avram J, Miu AC (2010). Perinatal exposure to music protects spatial memory against callosal lesions. *Int. J. Dev. Neurosci.* 28, 105-109.
- Ambrogini P, Cuppini R, Cuppini C, Ciaroni S, Cecchini T, Ferri P, Sartini S, Del Grande P (2000). Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neurosci. Lett.* 286, 21-24.
- Araujo PE, Mayer J (1973). Activity increase associated with obesity induced by monosodium glutamate in mice. *Am. J. Physiol.* 225, 764-765.
- Archer T, Palomo T, Fredriksson A (2002). Neonatal 6-hydroxydopamine-induced hypo/hyperactivity: blockade by dopamine reuptake inhibitors and effect of acute D-amphetamine. *Neurotox. Res.* 4, 247-266.
- Archer T, Schroder N, Fredriksson A (2003). Neurobehavioural deficits following postnatal iron overload: II Instrumental learning performance. *Neurotox. Res.* 5, 77-94.
- Arees EA, Mayer J (1970). Monosodium glutamate-induced brain lesions: electron microscopic examination. *Science* 170, 549-550.
- Aronowski J, Samways E, Strong R, Rhoades HM, Grotta JC (1996). An alternative method for the quantification of neuronal damage after experimental middle cerebral artery occlusion in rats: analysis of behavioral deficits. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 705-713.
- Arranz L, de Castro NM, Baeza I, Gimenez-Llort L, de la Fuente M (2011). Effect of environmental enrichment on the immunoendocrine aging of male and female triple-transgenic 3×Tg-AD mice for Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 25, 727-737.
- Atlasz T, Babai N, Reglodi D, Kiss P, Tamas A, Bari F, Domoki F, Gabriel R (2007). Diazoxide is protective in the rat retina against ischemic injury induced by bilateral carotid occlusion and glutamate-induced degeneration. *Neurotox. Res.* 12, 105-111.
- Atlasz T, Szabadfi K, Kiss P, Babai N, Kőszegi Z, Tamas A, Reglodi D, Gabriel R (2008). PACAP-mediated neuroprotection of neurochemically identified cell types in MSG-induced retinal degeneration. *J. Mol. Neurosci.* 36, 97-104.
- Babai N, Atlasz T, Tamas A, Reglodi D, Kiss P, Gabriel R (2005). Degree of damage compensation by various PACAP treatments in monosodium glutamate-induced retina degeneration. *Neurotox. Res.* 8, 227-233.
- Babai N, Atlasz T, Tamas A, Reglodi D, Toth G, Kiss P, Gabriel R (2006). Search for the optimal monosodium glutamate treatment schedule to study the neuroprotective effects of PACAP in the retina. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1070, 149-155.
- Badowska-Szalewska E, Klejbor I, Cecot T, Domaradzka-Pytel B, Ludkiewicz B, Morys J (2009). Changes in NGF/c-Fos colocalization in specific limbic structures of juvenile and aged rats after open field stimulation. *Folia Morphol. (Warsz.)* 68, 129-134.

- Baldini S, Restani L, Baroncelli L, Coltelli M, Franco R, Cenni MC, Maffei L, Berardi N (2013). Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: A role for insulin-like growth factor 1. *J. Neurosci.* 33, 11715–11723.
- Baroncelli L, Braschi C, Maffei L (2013). Visual depth perception in normal and deprived rats: Effects of environmental enrichment. *Neuroscience* 236, 313-319.
- Basille-Dugay M, Vaudry H, Fournier A, Gonzalez B, Vaudry D (2013). Activation of PAC1 Receptors in Rat Cerebellar Granule Cells Stimulates Both Calcium Mobilization from Intracellular Stores and Calcium Influx through N-Type Calcium Channels. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 4, 56.
- Beas-Zarate C, Perez-Vega MI, Gonzalez-Burgos I (2002). Neonatal exposure to monosodium L-glutamate induces loss of neurons and cytoarchitectural alterations in hippocampal CA1 pyramidal neurons of adult rats. *Brain Res.* 952, 275-281.
- Bechara RG, Kelly AM (2013). Exercise improves object recognition memory and induces BDNF expression and cell proliferation in cognitively enriched rats. *Behav. Brain Res.* 245, 96-100.
- Bekinschtein P, Oomen CA, Saksida LM, Bussey TJ (2011). Effects of environmental enrichment and voluntary exercise on neurogenesis, learning and memory, and pattern separation: BDNF as a critical variable? *Semin. Cell Dev. Biol.* 22, 536-542.
- Bengoetxea H, Argandoña EG, Lafuente JV (2008). Effects of visual experience on vascular endothelial growth factor expression during the postnatal development of the rat visual cortex. *Cereb. Cortex.* 18, 1630-1639.
- Beninger RJ, Jhamandas A, Aujla H, Xue L, Dagnone RV, Boegman RJ, Jhamandas K (2002). Neonatal exposure to the glutamate receptor antagonist MK-801: effects on locomotor activity and pre-pulse inhibition before and after sexual maturity in rats. *Neurotox. Res.* 4, 477-488.
- Bernstein L (1973). A study of some enriching variables in a free-environment for rats. *J. Psychosom. Res.* 17, 85-88.
- Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA, Greenough WT (1990). Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87, 5568-5572.
- Bodnar I, Gooz P, Okamura H, Toth BE, Vecsernye M, Halasz B, Nagy GM (2001). Effect of neonatal treatment with monosodium glutamate on dopaminergic and L-DOPA-ergic neurons of the medial basal hypothalamus and on prolactin and MSH secretion of rats. *Brain Res. Bull.* 55, 767–774.
- Bonestroo HJ, Nijboer CH, van Velthoven CT, Kavelaars A, Hack CE, van Bel F, Heijnen CJ (2013). Cerebral and hepatic inflammatory response after neonatal hypoxia-ischemia in newborn rats. *Dev. Neurosci.* 35, 197–211.
- Borlongan CV, Cahill DW, Sanberg PR (1995). Locomotor and passive avoidance deficits following occlusion of the middle cerebral artery. *Physiol. Behav.* 58, 909-917.

- Bourgault S, Vaudry D, Dejda A, Doan ND, Vaudry H, Fournier A (2009). Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: focus on structure-activity relationships of a neuroprotective Peptide. *Curr. Med. Chem.* 16, 4462-4480.
- Bures J, Buresova O, Huston JP (1983). Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 77-97.
- Bustamante D, Morales P, Pereyra JT, Goiny M, Herrera-Marschitz M (2007). Nicotinamide prevents the effect of perinatal asphyxia on dopamine release evaluated with in vivo microdialysis 3 months after birth. *Exp. Brain Res.* 177, 358–369.
- Capani F, Saraceno GE, Botti V, Aon-Bertolino L, de Oliveira DM, Barreto G, Galeano P, Giraldez-Alvarez LD, Coirini H (2009). Protein ubiquitination in postsynaptic densities after hypoxia in rat neostriatum is blocked by hypothermia. *Exp. Neurol.* 219, 404–413.
- Cebal E, Loidl CF (2011). Changes in neostriatal and hippocampal synaptic densities in perinatal asphyctic male and female young rats: Role of hypothermia. *Brain Res. Bull.* 84, 31–38.
- Chabris CF (1999). Prelude or requiem for the 'Mozart effect'? *Nature.* 400, 826-827. author reply 827-828.
- Chaouloff F (1989). Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol. Scand.* 137, 1-13.
- Chaparro-Huerta V, Rivera-Cervantes MC, Torres-Mendoza BM, Beas-Zarate C (2002). Neuronal death and tumor necrosis factor- α response to glutamate-induced excitotoxicity in the cerebral cortex of neonatal rats. *Neurosci. Lett.* 333, 95-98.
- Chen X, Li Y, Kline AE, Dixon CE, Zafonte RD, Wagner AK (2005). Gender and environmental effects on regional brain-derived neurotrophic factor expression after experimental traumatic brain injury. *Neuroscience* 135, 11-17.
- Chen Y, Herrera-Marschitz M, Bjelke B, Blum M, Gross J, Andersson K (1997). Perinatal asphyxia-induced changes in rat brain tyrosine hydroxylase-immunoreactive cell body number: Effects of nicotine treatment. *Neurosci. Lett.* 221, 77–80.
- Clayton K, Fleming JM, Copley J (2003). Behavioral responses to tactile stimuli in children with cerebral palsy. *Phys. Occup. Ther. Pediatr.* 23, 43–62.
- Comeau W, Gibb R, Hastings E, Cioe J, Kolb B (2008). Therapeutic effects of complex rearing or bFGF after perinatal frontal lesions. *Dev. Psychobiol.* 50, 134–146.
- Czegledi L, Tamas A, Borzsei R, Bagoly T, Kiss P, Horvath G, Brubel R, Nemeth J, Szalontai B, Szabadfi K, Javor A, Reglodi D, Helyes Z (2011). Presence of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in the plasma and milk of ruminant animals. *Gen. Comp. Endocrinol.* 172, 115-119.

- Csanaky K, Banki E, Szabadfi K, Reglodi D, Tarcai I, Czeglédi L, Helyes Z, Ertl T, Gyarmati J, Szanto Z, Zapf I, Sipos E, Shioda S, Tamas A (2012). Changes in PACAP immunoreactivity in human milk and presence of PAC1 receptor in mammary gland during lactation. *J. Mol. Neurosci.* 48, 631-637.
- Csanaky K, Reglodi D, Banki E, Tarcai I, Mark L, Helyes Z, Ertl T, Gyarmati J, Horvath K, Santik L, Tamas A (2013). Examination of PACAP38-like immunoreactivity in different milk and infant formula samples. *Acta Physiol. Hung.* 100, 28-36.
- Dam K, Seidler FJ, Slotkin TA (2000). Chlorpyrifos exposure during a critical neonatal period elicits gender-selective deficits in the development of coordination skills and locomotor activity. *Dev. Brain Res.* 121, 179-187.
- Danyadi B, Szabadfi K, Reglodi D, Mihalik A, Danyadi T, Kovacs Z, Batai I, Tamas A, Kiss P, Toth G, Gabriel R (2014). PACAP application improves functional outcome of chronic retinal ischemic injury in rats-evidence from electroretinographic measurements. *J. Mol. Neurosci.* 54, 293-299.
- Dawson R, Jr (1986). Developmental and sex-specific effects of low dose neonatal monosodium glutamate administration on mediobasal hypothalamic chemistry. *Neuroendocrinology* 42, 158–166.
- Dawson R, Lorden JF (1981). Behavioral and neurochemical effects of neonatal administration of monosodium L-glutamate in mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 95, 71-84.
- De Carvalho Mendes F, de Almeida MN, Felicio AP, Fadel AC, de Jesus Silva D, Borralho TG, da Silva RP, Bento-Torres J, Vasconcelos PF, Perry VH, Ramos EM, Picanço-Diniz CW, Sosthenes MC (2013). Enriched environment and masticatory activity rehabilitation recover spatial memory decline in aged mice. *BMC Neurosci.* 14, 63.
- De Haan M, Wyatt JS, Roth S, Vargha-Khadem F, Gadian D, Mishkin M (2006). Brain and cognitive-behavioural development after asphyxia at term birth. *Dev. Sci.* 9, 350–358.
- de Jonge FH, Boleij H, Baars AM, Dudink S, Spruijt BM (2008). Music during play-time: Using context conditioning as a tool to improve welfare in piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 115, 138–148.
- Dell'Anna E, Chen Y, Engidawork E, Andersson K, Lubec G, Luthman J, Herrera-Marschitz M (1997). Delayed neuronal death following perinatal asphyxia in rat. *Exp. Brain Res.* 115, 105–115.
- Diamond MC, Lindner B, Raymond A (1967). Extensive cortical depth measurements and neuron size increases in the cortex of environmentally enriched rats. *J. Comp. Neurol.* 131, 357–364.
- Dorfman D, Fernandez DC, Chianelli M, Miranda M, Aranda ML, Rosenstein RE (2013). Post-ischemic environmental enrichment protects the retina from ischemic damage in adult rats. *Exp. Neurol.* 240, 146–156.
- Dubovicky M, Tokarev D, Skultetyova I, Jezova D (1997). Changes in exploratory behavior and its habituation in rats neonatally treated with monosodium glutamate. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56, 565-569.

- Dunn AJ, Webster EL (1985). Neonatal treatment with monosodium glutamate does not alter grooming behavior induced by novelty or adrenocorticotrophic hormone. *Behav. Neur. Biol.* 44, 80-89.
- Eisenberg-Lerner A, Bialik S, Simon HU, Kimchi A (2009). Life and death partners: Apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. *Cell. Death Differ.* 16, 966–975.
- Fabricius K, Steiniger-Brach B, Helboe L, Fink-Jensen A, Wortwein G (2011). Socially isolated rats exhibit changes in dopamine homeostasis pertinent to schizophrenia. *Int. J. Dev. Neurosci.* 29, 347–350.
- Falkenberg T, Mohammed AK, Henriksson B, Persson H, Winblad B, Lindfors N (1992). Increased expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus is associated with improved spatial memory and enriched environment. *Neurosci. Lett.* 138, 153-156.
- Falluel-Morel A, Tascau LI, Sokolowski K, Brabet P, DiCicco-Bloom E (2008). Granule cell survival is deficient in PAC1^{-/-} mutant cerebellum. *J. Mol. Neurosci.* 36, 38-44.
- Farkas J, Reglodi D, Gaszner B, Szogyi D, Horvath G, Lubics A, Tamas A, Frank F, Besirevic D, Kiss P (2009). Effects of maternal separation on the neurobehavioral development of newborn Wistar rats. *Brain Res. Bull.* 79, 208–214.
- Farrell R, Evans S, Corbett D (2001). Environmental enrichment enhances recovery of function but exacerbates ischemic cell death. *Neuroscience* 107, 585–592.
- Fekete SGY, Korsos G (2013). Influence of different environmental effects of human origin (socialization, music, noisemusic, noise) upon the rats' behaviour. Part 2. Do rats react on human music? *Hung. Vet. J.* 135, 246-253.
- Fekete SGY, Lukacs A, Horvath K, Korsos G, Vezer T (2014). Effects of Mozart Sonata on the rats' learning and memory performance. *Hung. Vet. J.* 136, 167-176.
- Fekete SGY, Theodora B (2013). Influence of different environmental effects of human origin (socialization, music, noisemusic, noise) upon the rats' behaviour. Part 1. *Hung. Vet. J.* 135, 117-122.
- Ferchmin PA, Bennett EL (1975). Direct contact with enriched environment is required to alter cerebral weights in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 88, 360-367.
- Fernandez B, Romero EM, Kitchen I, Viveros MP (2000). Postnatal naltrindole treatments induce behavioral modifications in preweanling rats. *Neurosci. Lett.* 283, 73-76.
- Fernandez-Teruel A, Escorihuela RM, Castellano B, González B, Tobena A (1997). Neonatal handling and environmental enrichment effects on emotionality, novelty/reward seeking, and age-related cognitive and hippocampal impairments: Focus on the Roman rat lines. *Behav. Genet.* 27, 513–526.

- Fisher KN, Turner RA, Pineault G, Kleim J, Saari MJ (1991). The postweaning housing environment determines expression of learning deficit associated with neonatal monosodium glutamate (MSG). *Neurotoxicol. Teratol.* 13, 507-513.
- Foster TC, Fugger HN, Cunningham SG (2000). Receptor blockade reveals a correspondence between hippocampal-dependent behavior and experience-dependent synaptic enhancement. *Brain Res.* 871, 39-43.
- Frizzo JK, Cardoso MP, de Assis AM, Perry ML, Volonte C, Frizzo ME (2010). Effects of acute perinatal asphyxia in the rat hippocampus. *Cell. Mol. Neurobiol.* 30, 683-692.
- Gelfo F, Cutuli D, Foti F, Laricchiuta D, De Bartolo P, Caltagirone C, Petrosini L, Angelucci F (2011). Enriched environment improves motor function and increases neurotrophins in hemocerebellar lesioned rats. *Neurorehabil. Neural. Repair.* 25, 243-252.
- Ginet V, Puyal J, Clarke PG, Truttmann AC (2009). Enhancement of autophagic flux after neonatal cerebral hypoxia-ischemia and its region-specific relationship to apoptotic mechanisms. *Am. J. Pathol.* 175, 1962-1974.
- Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* 140, 918-934.
- Globus A, Rosenzweig MR, Bennett EL, Diamond MC (1973). Effects of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 82, 175-181.
- Gonzalez-Burgos I, Perez-Vega MI, Beas-Zarate C (2001). Neonatal exposure to monosodium glutamate induces cell death and dendritic hypotrophy in rat prefrontocortical pyramidal neurons. *Neurosci. Lett.* 297, 69-72.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat. Neurosci.* 2, 260-265.
- Green EJ, Greenough WT (1986). Altered synaptic transmission in dentate gyrus of rats reared in complex environments: evidence from hippocampal slices maintained in vitro. *J. Neurophysiol.* 55, 739-750.
- Greenough WT, Cohen NJ, Juraska JM (1999). New neurons in old brains: learning to survive? *Nat. Neurosci.* 2, 203-205.
- Greer ER, Diamond MC, Murphy GM Jr (1982). Increased branching of basal dendrites on pyramidal neurons in the occipital cortex of homozygous Brattleboro rats in standard and enriched environmental conditions: a Golgi study. *Exp. Neurol.* 76, 254-262.
- Groussard M, La Joie R, Rauchs G, Landeau B, Chetelat G, Viader F, Desgranges B, Eustache F, Platel H (2010). When music and long-term memory interact: effects of musical expertise on functional and structural plasticity in the hippocampus. *PLoS One.* 5, pii: e13225.

- Gudino-Cabrera G, Urena-Guerrero ME, Rivera-Cervantes MC, Feria-Velasco AI, Beas-Zarate C (2014). Excitotoxicity triggered by neonatal monosodium glutamate treatment and blood-brain barrier function. *Arch. Med. Res.* 45, 653-659.
- Gvaryahu, G., Cunningham, van Tienhoven, D.L., Filial imprinting, A., 1989. Environmental enrichment and music application effects on behavior and performance of meat strain chicks. *Poult. Sci.* 68, 211–217.
- Hagberg H, Mallard C, Rousset CI, Xiaoyang W (2009). Apoptotic mechanisms in the immature brain: Involvement of mitochondria. *J. Child Neurol.* 24, 1141–1146.
- Hagberg H, Thornberg E, Blennow M, Kjellmer I, Lagercrantz H, Thiringer K, Hamberger A, Sandberg M (1993). Excitatory amino acids in the cerebrospinal fluid of asphyxiated infants: Relationship to hypoxic-ischemic encephalopathy. *Acta Paediatr.* 82, 925–929.
- Hannan AJ (2014). Environmental enrichment and brain repair: harnessing the therapeutic effects of cognitive stimulation and physical activity to enhance experience-dependent plasticity. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 40, 13-25.
- Hannigan JH, O’leary-Moore SK, Berman RF (2007). Postnatal environmental or experiential amelioration of neurobehavioral effects of perinatal alcohol exposure in rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 31, 202–211.
- Harry CJ (1998). Developmental neurotoxicology, In: Korach KS (Ed.), *Reproductive and Developmental Toxicology* (Marcel Dekker, Inc), 211-257.
- Heath DL, Vink R (1997). Magnesium sulphate improves neurologic outcome following severe closed head injury in rats. *Neurosci. Lett.* 228, 175-178.
- Hebb DO. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *Am. Psychol.* 2, 306–307.
- Heiman ML, Ben-Jonathan N (1983). Increase in pituitary dopaminergic receptors after monosodium glutamate treatment. *Am. J. Physiol.* 245, E261-265.
- Herrera-Marschitz M, Morales P, Leyton L, Bustamante D, Klawitter V, Espina-Marchant P (2011). Perinatal asphyxia: Current status and approaches towards neuroprotective strategies, with focus on sentinel proteins. *Neurotox. Res.* 19, 603–627.
- Herrmann B, Henry MJ, Fromboluti EK, McAuley JD, Obleser J (2015). Statistical context shapes stimulus-specific adaptation in human auditory cortex. *J. Neurophysiol.* 113, 2582-2591.
- Hill JM, Gozes I, Hill JL, Fridkin M, Breneman DE (1991). Vasoactive intestinal peptide antagonist retards the development of neonatal behaviors in the rat. *Peptides* 12, 187-192.
- Hlinak Z, Gandalovicova D, Krejci I (2005). Behavioral deficits in adult rats treated neonatally with glutamate. *Neurotoxicol. Teratol.* 27, 465-473.

- Holighaus Y, Weihe E, Eiden LE (2012). STC1 induction by PACAP is mediated through cAMP and ERK1/2 but not PKA in cultured cortical neurons. *J. Mol. Neurosci.* 46, 75-87.
- Holopainen IE, Lauren HB (2012). Glutamate signaling in the pathophysiology and therapy of prenatal insults. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 100, 825–834.
- Hori M, Nakamachi T, Rakwal R, Shibato J, Ogawa T, Aiuchi T, Tsuruyama T, Tamaki K, Shioda S (2012). Transcriptomics and proteomics analyses of the PACAP38 influenced ischemic brain in permanent middle cerebral artery occlusion model mice. *J. Neuroinflammation* 9, 256. Erratum in: *J. Neuroinflammation* (2013), 10, 18.
- Horvath G, Reglodi D, Vadasz G, Farkas J, Kiss P (2013). Exposure to enriched environment decreases neurobehavioral deficits induced by neonatal glutamate toxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19054–19066.
- Ickes BR, Pham TM, Sanders LA, Albeck DS, Mohammed AH, Granholm AC (2000). Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp. Neurol.* 164, 45-52.
- Imanaka A, Morinobu S, Toki S, Yamamoto S, Matsuki A, Kozuru T, Yamawaki S (2008). Neonatal tactile stimulation reverses the effect of neonatal isolation on open-field and anxiety-like behavior, and pain sensitivity in male and female adult Sprague-Dawley rats. *Behav. Brain Res.* 186, 91–97.
- Imanaka A, Morinobu S, Toki S, Yamawaki S (2006). Importance of early environment in the development of post-traumatic stress disorder-like behaviors. *Behav. Brain Res.* 173, 129–137.
- Ishihama T, Ago Y, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Takuma K, Matsuda T (2010). Environmental factors during early developmental period influence psychobehavioral abnormalities in adult PACAP-deficient mice. *Behav. Brain Res.* 209, 274-280.
- Ishikawa K, Kubo T, Shibasaki S, Matsumoto A, Hata H, Atai S (1997). Hippocampal degeneration inducing impairment of learning in rats: model of dementia? *Behav. Brain Res.* 83, 39-44.
- Iwata S, Ichimura M, Matsusawa Y, Takasaki Y, Sasaoka M (1979). Behavioral studies in rats treated with monosodium l-glutamate during the early stages of life. *Toxicol. Lett.* 4, 345-357.
- Jain V, Baitharu I, Prasad D, Ilavazhagan G (2013). Enriched Environment prevents hypobaric hypoxia induced memory impairment and neurodegeneration: Role of BDNF/PI3K/GSK3 β pathway coupled with CREB activation. *PLoS One* 8, e62235.
- Jakab B, Reglodi D, Jozsa R, Hollosy T, Tamas A, Lubics A, Lengvari I, Oroszi G, Szilvassy Z, Szolcsanyi J, Nemeth J (2004). Distribution of PACAP-38 in the central nervous system of various species determined by a novel radioimmunoassay. *J. Biochem. Biophys. Meth.* 61, 189-198.
- Johnson EM, Traver KL, Hoffman SW, Harrison CR, Herman JP (2013). Environmental enrichment protects against functional deficits caused by traumatic brain injury. *Front. Behav. Neurosci.* 7, 44.

- Jozsa R, Somogyvari-Vigh A, Reglodi D, Hollosy T, Arimura A (2001). Distribution and daily variations of PACAP in the chicken brain. *Peptides* 22, 1371-1377.
- Kajta M, Makarewicz D, Zieminska E, Jantas D, Domin H, Lason W, Kutner A, Lazarewicz JW (2009). Neuroprotection by co-treatment and post-treating with calcitriol following the ischemic and excitotoxic insult in vivo and in vitro. *Neurochem. Int.* 55, 265–274.
- Kambe Y, Miyata A (2012). Role of mitochondrial activation in PACAP dependent neurite outgrowth. *J. Mol. Neurosci.* 48, 550-557.
- Katz RJ (1983). Neonatal monosodium glutamate differentially alters two models of behavioral activity in conjunction with reduced hypothalamic endorphins. *Physiol. Behav.* 31, 147-151.
- Kazl C, Foote LT, Kim MJ, Koh S (2009). Early-life experience alters response of developing brain to seizures. *Brain Res.* 1285, 174–181.
- Keilhoff G, John R, Langnaese K, Schweizer H, Ebmeyer U (2010). Triggered by asphyxia neurogenesis seems not to be an endogenous repair mechanism, gliogenesis more like it. *Neuroscience* 171, 869–884.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1997). Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 10409-10414.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature.* 386, 493-495.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH (1998). Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. *J. Neurosci.* 18, 3206-3212.
- Kim H, Lee MH, Chang HK, Lee TH, Lee HH, Shin MC, Shin MS, Won R, Shin HS, Kim CJ (2006). Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats. *Brain Dev.* 28, 109-114.
- Kim YW, Choi DW, Park YH, Huh JY, Won KC, Choi KH, Park SY, Kim JY, Lee SK (2005). Leptin-like effects of MTII are augmented in MSG-obese rats. *Regul. Pept.* 127, 63-70.
- Kiss P, Atlasz T, Szabadfi K, Horvath G, Griecs M, Farkas J, Matkovits A, Toth G, Lubics A, Tamas A, Gabriel R, Reglodi D (2011). Comparison between PACAP- and enriched environment-induced retinal protection in MSG-treated newborn rats. *Neurosci. Lett.* 487, 400-405.
- Kiss P, Hauser D, Tamas A, Lubics A, Racz B, Horvath Z, Farkas J, Zimmermann F, Stepien A, Lengvari I, Reglodi D (2007). Changes in open-field activity and novelty-seeking behavior in periadolescent rats neonatally treated with monosodium glutamate. *Neurotox. Res.* 12, 85–93.
- Kiss P, Reglodi D, Tamas A, Lubics A, Lengvari I, Jozsa R, Somogyvari-Vigh A, Szilvassy Z, Nemeth J (2007). Changes of PACAP levels in the brain show gender differences following short-term water and food deprivation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 152, 225-230.

- Kiss P, Szogyi D, Reglodi D, Horvath G, Farkas J, Lubics A, Tamas A, Atlasz T, Szabadfi K, Babai N, Gabriel R, Koppan M (2009). Effects of perinatal asphyxia on the neurobehavioral and retinal development of newborn rats. *Brain Res.* 1255, 42–50.
- Kiss P, Tamas A, Lubics A, Lengvari I, Szalai M, Hauser D, Horvath Zs, Racz B, Gabriel R, Babai N, Toth G, Reglodi D (2006). Effects of systemic PACAP treatment in monosodium glutamate-induced behavioral changes and retinal degeneration. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1070, 365-370.
- Kiss P, Tamas A, Lubics A, Szalai M, Szalontay L, Lengvari I, Reglodi D (2005). Development of neurological reflexes and motor coordination in rats neonatally treated with monosodium glutamate. *Neurotox. Res.* 8, 235-244.
- Klawitter V, Morales P, Bustamante D, Gomez-Urquijo S, Hokfelt T, Herrera-Marschitz M (2007). Plasticity of basal ganglia neurocircuitries following perinatal asphyxia: Effect of nicotinamide. *Exp. Brain Res.* 180, 139–152.
- Kleim JA, Lussnig E, Schwarz ER, Comery TA, Greenough WT (1996). Synaptogenesis and Fos expression in the motor cortex of the adult rat after motor skill learning. *J. Neurosci.* 16, 4529-4535.
- Klingberg H, Brankack J, Klingberg F (1987). Long-term effects on behavior after postnatal treatment with monosodium-L-glutamate. *Biomed. Biochim. Acta* 46, 705-711.
- Kondo M, Takei Y, Hirokawa N (2012). Motor protein KIF1A is essential for hippocampal synaptogenesis and learning enhancement in an enriched environment. *Neuron* 73, 743–757.
- Kostrzewa RM, Kostrzewa JP, Brus R (2003). Dopamine receptor supersensitivity: an outcome and index of neurotoxicity. *Neurotox. Res.* 5, 111-118.
- Kubo T, Kohira R, Okano T, Ishikawa K (1993). Neonatal glutamate can destroy the hippocampal CA1 structure and impair discrimination learning in rats. *Brain Res.* 616, 311-314.
- Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, Thal LJ, Gage FH (1997). Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J. Neurosci.* 17, 5820-5829.
- Kumral A, Genc S, Ozer E, Yilmaz O, Gokmen N, Koroglu TF, Duman N, Genc K, Ozkan H (2006). Erythropoietin downregulates bax and DP5 proapoptotic gene expression in neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Biol. Neonate* 89, 205–210.
- Kusaka K, Morinobu S, Kawano K, Yamawaki S (2004). Effect of neonatal isolation on the noradrenergic transduction system in the rat hippocampal slice. *Synapse* 54, 223–232.
- Landi S, Ciucci F, Maffei L, Berardi N, Cenni MC (2009). Setting the pace for retinal development: Environmental enrichment acts through insulin-like growth factor 1 and brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurosci.* 29, 10809–10819.

- Lang JT, McCullough LD (2008). Pathways to ischemic neuronal cell death: Are sex differences relevant? *J. Transl. Med.* 6, 33.
- Le Roy I, Perez-Diaz F, Cherfouh A, Roubertoux PL (1999). Preweanling sensorial and motor development in laboratory mice: quantitative trait loci mapping. *Dev. Psychobiol.* 34, 138-158.
- Leasure JL, Decker L (2009). Social isolation prevents exercise-induced proliferation of hippocampal progenitor cells in female rats. *Hippocampus* 19, 907–912.
- Lee EH, Kim SS, Lee S, Baek KH, Seo SR (2015). Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide (PACAP) Targets Down Syndrome Candidate Region 1 (DSCR1/RCAN1) to control Neuronal Differentiation. *J. Biol. Chem.* 290, 21019-21031.
- Lee MY, Yu JH, Kim JY, Seo JH, Park ES, Kim CH, Kim H, Cho SR (2013). Alteration of synaptic activity-regulating genes underlying functional improvement by long-term exposure to an enriched environment in the adult brain. *Neurorehabil. Neural. Repair* 27, 561–574.
- Lehnardt S, Lehmann S, Kaul D, Tschimmel K, Hoffmann O, Cho S (2007). Toll-like receptor 2 mediates CNS injury in focal cerebral ischemia. *J. Neuroimmunol.* 190, 28–33.
- Lengvari I (1977). Effect of perinatal monosodium glutamate treatment on endocrine functions of rats in maturity. *Acta Biol. Hung.* 28, 133-141.
- Lestaevel P, Airault F, Racine R, Bensoussan H, Dhieux B, Delissen O, Manens L, Aigueperse J, Voisin P, Souidi M (2013). Influence of environmental enrichment and depleted uranium on behaviour, cholesterol and acetylcholine in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Mol. Neurosci.* 53, 469-479.
- Leuthner SR, Das UG (2004). Low Apgar scores and the definition of birth asphyxia. *Pediatr. Clin. North. Am.* 51, 737–745.
- Lu Y, Liu M, Shi S, Jiang H, Yang L, Liu X, Zhang Q, Pan F (2010). Effects of stress in early life on immune functions in rats with asthma and the effects of music therapy. *J. Asthma.* 47, 526-531.
- Lubics A, Reglodi D, Tamás A, Kiss P, Szalai M, Szalontay L, Lengvári (2005). Neurological reflexes and early motor behavior in rats subjected to neonatal hypoxic/ischemic injury. *Behav. Brain Res.* 157, 157–165.
- Mainardi M, Landi S, Gianfranceschi L, Baldini S, de Pasquale R, Berardi N, Maffei L, Caleo M (2010). Environmental enrichment potentiates thalamocortical transmission and plasticity in the adult rat visual cortex. *J. Neurosci. Res.* 88, 3048–3059.
- Markgraf CG, Green EJ, Hurwitz BE, Morikawa E, Dietrich WD, McCabe PM, Ginsberg MD, Schneiderman N (1992). Sensorimotor and cognitive consequences of middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res.* 575, 238-246.

- Martinez M, Brezun JM, Xerri C (2011). Sensorimotor experience influences recovery of forelimb abilities but not tissue loss after focal cortical compression in adult rats. *PLoS One* 6, e16726.
- Maslinska D, Laure-Kamionowska M, Kaliszek A, Makarewicz D (2002). Proinflammatory cytokines in injured rat brain following perinatal asphyxia. *Folia Neuropathol.* 40, 177–182.
- McCall A, Glaeser BS, Millington W, Wurtman RJ (1979). Monosodium glutamate neurotoxicity, hyperosmolarity, and blood-brain barrier dysfunction. *Neurobehav. Toxicol.* 1, 279-283.
- McCraty R, Barrios-Choplin B, Atkinson M, Tomasino D (1998). The effects of different types of music on mood, tension and mental clarity. *Altern. Ther. Health Med.* 4, 75–84.
- Mesa-Gresa P, Pérez-Martinez A, Redolat R (2013). Behavioral effects of combined environmental enrichment and chronic nicotine administration in male NMRI mice. *Physiol. Behav.* 114–115, 65–76.
- Mester L, Szabo A, Atlasz T, Szabadfi K, Reglodi D, Kiss P, Racz B, Tamas A, Gallyas F Jr, Sumegi B, Hocsak E, Gabriel R, Kovacs K (2009). Protection against chronic hypoperfusion-induced retinal neurodegeneration by PARP inhibition via activation of PI-3-kinase Akt pathway and suppression of JNK and p38 MAP kinases. *Neurotox. Res.* 16, 68–76.
- Miendlarzewska EA, Trost WJ (2014). How musical training affects cognitive development: rhythm, reward and other modulating variables. *Front. Neurosci.* 7, 279.
- Miquel M, Font L, Sanchis-Segura C, Aragon CM (2003). Neonatal administration of monosodium glutamate prevents the development of ethanol- but not psychostimulant-induced sensitization: A putative role of the arcuate nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 17, 2163–2170.
- Mistlberger RE, Antle MC (1999). Neonatal monosodium glutamate alters circadian organization of feeding, food anticipatory activity and photic masking in the rat. *Brain Res.* 842, 73-83.
- Miyabo S, Yamamura I, Ooya E, Aoyagi N, Horikawa Y, Hayashi S (1985). Effects of neonatal treatment with monosodium glutamate on circadian locomotor rhythm in the rat. *Brain Res.* 339, 201-208.
- Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, Culler MD, Coy DH (1989). Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 164, 567-574.
- Mohammed AH, Henriksson BG, Söderström S, Ebendal T, Olsson T, Seckl JR (1993). Environmental influences on the central nervous system and their implications for the aging rat. *Behav. Brain Res.* 57, 183-191.
- Monaco CM, Mattioli VV, Folweiler KA, Tay JK, Yelleswarapu NK, Curatolo LM, Matter AM, Cheng JP, Kline AE (2013). Environmental enrichment promotes robust functional and histological benefits in female rats after controlled cortical impact injury. *Exp. Neurol.* 247, 410–418.

- Morales P, Fiedler JL, Andres S, Berrios C, Huaiquin P, Bustamante D, Cardenas S, Parra E, Herrera-Marschitz M (2008). Plasticity of hippocampus following perinatal asphyxia: Effects on postnatal apoptosis and neurogenesis. *J. Neurosci. Res.* 86, 2650–2662.
- Morales P, Huaiquin P, Bustamante D, Fiedler J, Herrera-Marschitz M (2007). Perinatal asphyxia induces neurogenesis in hippocampus: An organotypic study. *Neurotox. Res.* 12, 81–84.
- Morales P, Simola N, Bustamante D, Lisboa F, Fiedler J, Gebicke-Haerter PJ, Morelli M, Tasker RA, Herrera-Marschitz M (2010). Nicotinamide prevents the long-term effects of perinatal asphyxia on apoptosis, non-spatial working memory and anxiety in rats. *Exp. Brain Res.* 202, 1–14.
- Nakamachi T, Farkas J, Watanabe J, Ohtaki H, Dohi K, Arata S, Shioda S (2011). Role of PACAP in neural stem/progenitor cell and astrocyte--from neural development to neural repair. *Curr. Pharm. Des.* 17, 973-984.
- Nakamachi T, Tsuchida M, Kagami N, Yofu S, Wada Y, Hori M, Tsuchikawa D, Yoshikawa A, Imai N, Nakamura K, Arata S, Shioda S (2012). IL-6 and PACAP receptor expression and localization after global brain ischemia in mice. *J. Mol. Neurosci.* 48, 518-525.
- Nakamura T, Tanida M, Niijima A, Hibino H, Shen J, Nagai K (2007). Auditory stimulation affects renal sympathetic nerve activity and blood pressure in rats. *Neurosci. Lett.* 416, 107-112.
- Neeper SA, Gómez-Pinilla F, Choi J, Cotman C (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature.* 373, 109.
- Nemeth J, Jakab B, Jozsa R, Hollosy T, Tamas A, Lubics A, Lengvari I, Kiss P, Oberritter Zs, Horvath B, Szilvassy Z, Reglodi D (2007). PACAP-27 radioimmunoassay: Description and application of a novel method. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 273, 327-332.
- Nemeth J, Tamas A, Jozsa R, Horvath JE, Jakab B, Lengvari I, Arimura A, Lubics A, Reglodi D (2006). Changes in PACAP levels in the central nervous system after ovariectomy and castration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1070, 468-473.
- Newberry RC (1995). Environmental enrichment: increasing the biological relevance of captive environments. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 44, 229–243.
- Nicot A, DiCicco-Bloom E (2001). Regulation of neuroblast mitosis is determined by PACAP receptor isoform expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 4758-4763.
- Nobrega JN, Saari MJ, Armstrong JN, Reed T (1992). Neonatal 6-OHDA lesions and rearing in complex environments: Regional effects on adult brain 14C-2-deoxyglucose uptake revealed by exposure to novel stimulation. *Dev. Psychobiol.* 25, 183–198.
- Northington FJ, Zelaya ME, O’Riordan DP, Blomgren K, Flock DL, Hagberg H, Ferriero DM, Martin LJ (2007). Failure to complete apoptosis following neonatal hypoxia-ischemia manifests as “continuum” phenotype of cell death and occurs with multiple manifestations of mitochondrial dysfunction in rodent forebrain. *Neuroscience* 149, 822–833.

- Olney JW (1969). Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 164, 719-721.
- Olsson T, Mohammed AH, Donaldson LF, Henriksson BG, Seckl JR (1994). Glucocorticoid receptor and NGFI-A gene expression are induced in the hippocampus after environmental enrichment in adult rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 23, 349–353.
- Ortuzar N, Argandona EG, Bengoetxea H, Lafuente JV (2011). Combination of intracortically administered VEGF and environmental enrichment enhances brain protection in developing rats. *J. Neural Transm.* 118, 135–144.
- Paban V, Chambon C, Manrique C, Touzet C, Alescio-Lautier B (2011). Neurotrophic signaling molecules associated with cholinergic damage in young and aged rats: environmental enrichment as potential therapeutic agent. *Neurobiol. Aging* 32, 470-485.
- Palomo T, Beninger RJ, Kostrzewa RM, Archer T (2003). Brain sites of movement disorder: genetic and environmental agents in neurodevelopmental perturbations. *Neurotox. Res.* 5, 1-26.
- Papoutsoglou SE, Karakatsouli N, Louizos E, Chadio S, Kalogiannisc D, Dallad C, Polissidisd A, Papadopoulou-Daifoti Z (2007). Effect of Mozart’s music (Romanze-Andante of “Eine Kleine Nacht Musik”, sol major, K525) stimulus on common carp (*Cyprinus carpio* L.) physiology under different light conditions. *Aquacultural Eng.* 36, 61–72.
- Parks EA, McMechan AP, Hannigan JH, Berman RF (2008). Environmental enrichment alters neurotrophin levels after fetal alcohol exposure in rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 32, 1741-1751.
- Pereira LO, Arteni NS, Petersen RC, da Rocha AP, Achaval M, Netto CA (2007). Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiol. Learn. Mem.* 87, 101–108.
- Pesini P, Rois JL, Menendez L, Vidal S (2004). The neonatal treatment of rats with monosodium glutamate induces morphological changes in the subfornical organ. *Acta Histo. Embryol.* 33, 273-277.
- Pham TM, Ickes B, Albeck D, Söderström S, Granholm AC, Mohammed AH (1999). Changes in brain nerve growth factor levels and nerve growth factor receptors in rats exposed to environmental enrichment for one year. *Neuroscience.* 94, 279-286.
- Pizzi WJ, Barnhart JE (1976). Effects of monosodium glutamate on somatic development, obesity and activity in the mouse. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 5, 551-557.
- Poon TK, Cameron DP (1978). Measurement of oxygen consumption and locomotor activity in monosodium glutamate-induced obesity. *Am. J. Physiol.* 234, E532-534.
- Por SB, Bennett EL, Bondy SC (1982). Environmental enrichment and neurotransmitter receptors. *Behav. Neural Biol.* 34, 132-140.

- Prilloff S, Henrich-Noack P, Kropf S, Sabel BA (2010). Experience-dependent plasticity and vision restoration in rats after optic nerve crush. *J. Neurotrauma* 27, 2295–2307.
- Purrier N, Engeland WC, Kofuji P (2014). Mice deficient of glutamatergic signaling from intrinsically photosensitive retinal ganglion cells exhibit abnormal circadian photoentrainment. *PLoS One*. 9, e111449.
- Ragneskoog H, Brane G, Karlsson I, Kihlgren M (1996). Influence of dinner music on food intake and symptoms common in dementia. *Scan. J. Caring Sci.* 10, 11–17.
- Rasika S, Alvarez-Buylla A, Nottebohm F (1999). BDNF mediates the effects of testosterone on the survival of new neurons in an adult brain. *Neuron*. 22, 53-62.
- Rasmuson S, Olsson T, Henriksson BG, Kelly PA, Holmes MC, Seckl JR, Mohammed AH (1998). Environmental enrichment selectively increases 5-HT1A receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 53, 285-290.
- Rauscher FH, Robinson KD, Jens JJ (1998). Improved maze learning through early music exposure in rats. *Neurol. Res.* 20, 427-432.
- Ravenelle R, Byrnes EM, Byrnes JJ, McInnis C, Park JH, Donaldson ST (2013). Environmental enrichment effects on the neurobehavioral profile of selective outbred trait anxiety rats. *Behav. Brain Res.* 252, 49–57.
- Reddy GR, Suresh A, Murthy KS, Chetty CS (2002). Lead neurotoxicity: heme oxygenase and nitric oxide synthase activities in developing rat brain. *Neurotox. Res.* 4, 33-39.
- Reglodi D, Kiss P, Lubics A, Tamas A (2011). Review of the protective effects of PACAP in models of neurodegenerative diseases in vitro and in vivo. *Curr. Pharm. Des.* 17, 962-972.
- Reglodi D, Kiss P, Szabadfi K, Atlasz T, Gabriel R, Horvath G, Szakaly P, Sandor B, Lubics A, Laszlo E, Farkas J, Matkovits A, Brubel R, Hashimoto H, Ferencz A, Vincze A, Helyes Zs, Welke L, Lakatos A, Tamas A (2012). PACAP is an endogenous protective factor – insights from PACAP deficient mice. *J. Mol. Neurosci.* 48, 482-492.
- Reglodi D, Kiss P, Tamas A, Lengvari I (2003). The effects of PACAP and PACAP antagonist on the neurobehavioral development of newborn rats. *Behav. Brain Res.* 140, 131–139.
- Reglodi D, Lubics A, Kiss P, Lengvari I, Gaszner B, Toth G, Hegyi O, Tamas A (2006). Effect of PACAP in 6-OHDA-induced injury of the substantia nigra in intact young and ovariectomized female rats. *Neuropeptides* 40, 265–274.
- Reglodi D, Tamas A, Lengvari I (2003). Examination of sensorimotor performance following middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res. Bull.* 59, 459-466.

- Reynolds S, Urruela M, Devine DP (2013). Effects of environmental enrichment on repetitive behaviors in the BTBR T + tf/J mouse model of autism. *Autism Res.* 6, 337-343.
- Richter SH, Zeuch B, Riva MA, Gass P, Vollmayr B (2013). Environmental enrichment ameliorates depressive-like symptoms in young rats bred for learned helplessness. *Behav. Brain Res.* 252, 287–292.
- Riikonen RS, Kero PO, Simell OG (1992). Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid in neonatal asphyxia. *Pediatr. Neurol.* 8, 37–40.
- Robertson CL, Scafidi S, McKenna MC, Fiskum G (2009). Mitochondrial mechanisms of cell death and neuroprotection in pediatric ischemic and traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 218, 371–380.
- Rogers DC, Campbell CA, Stretton JL, Mackay KB (1997). Correlation between motor impairment and infarct volume after permanent and transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke* 28, 2060-2066.
- Rojas JJ, Deniz BF, Miguel PM, Diaz R, Hermel Edo E, Achaval M, Netto CA, Pereira LO (2013). Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Exp. Neurol.* 241, 25–33.
- Rosenzweig MR, Bennett EL (1976). *Neural Mechanisms of Learning and Memory.* MIT Press, Cambridge. 255-278.
- Roy S, Nag TC, Upadhyay AD, Mathur R, Jain S (2014). Prenatal music stimulation facilitates the postnatal functional development of the auditory as well as visual system in chicks (*Gallus domesticus*). *J. Biosci.* 39, 107-117.
- Saari MJ, Fong S, Shivji A, Armstrong JN (1990). Enriched housing masks deficits in place navigation induced by neonatal monosodium glutamate. *Neurotoxicol. Teratol.* 12, 29-32.
- Sale A, Maya Vetencourt JF, Medini P, Cenni MC, Baroncelli L, de Pasquale R, Maffei L (2007). Environmental enrichment in adulthood promotes amblyopia recovery through a reduction of intracortical inhibition. *Nat. Neurosci.* 10, 679–681.
- Sanchis-Segura C, Aragon CM (2002). Consequences of monosodium glutamate or goldthioglucose arcuate nucleus lesions on ethanol-induced locomotion. *Drug Alcohol Depend.* 68, 189-194.
- Sarnat HB, Sarnat MS (1976). Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch. Neurol.* 33, 696–705.
- Saucier DM, Yager JY, Armstrong EA (2010). Housing environment and sex affect behavioral recovery from ischemic brain damage. *Behav. Brain Res.* 214, 48–54.
- Saucier DM, Yager JY, Armstrong EA, Keller A, Shultz S (2007). Enriched environment and the effect of age on ischemic brain damage. *Brain Res.* 1170, 31–38.

- Schneider T, Lee MH, Anderson DW, Zuck L, Lidsky TI (2001). Enriched environment during development is protective against lead-induced neurotoxicity. *Brain Res.* 896, 48–55.
- Schoelch C, Hubschle T, Schmidt I, Nuesslein-Hildesheim B (2002). MSG lesions decrease body mass of suckling-age rats by attenuating circadian decreases of energy expenditure. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283, E604-611.
- Segura-Aguilar J, Kostrzewa RM (2004). Neurotoxins and neurotoxic species implicated in neurodegeneration. *Neurotox. Res.* 6, 615-630.
- Seress L (1982). Divergent effects of acute and chronic monosodium glutamate treatment on the anterior and posterior parts of the arcuate nucleus. *Neuroscience* 7, 2207-2216.
- Seress L, Lazar G, Kosaras B, Robertson RT (1984). Regional effect of monosodium-L-glutamate on the superficial layers of superior colliculus in rat. *Cell Tissue Res.* 235, 453-457.
- Sforzo GA, Seeger TF, Pert CB, Pert A, Dotson CO (1986). In vivo opioid receptor occupation in the rat brain following exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* 18, 380-384.
- Sharp PE, McNaughton BL, Barnes CA (1985). Enhancement of hippocampal field potentials in rats exposed to a novel, complex environment. *Brain Res.* 339, 361-365.
- Sheikhi S, Saboory E (2015). Neuroplasticity Changes of Rat Brain by Musical Stimuli during Fetal Period. *Cell J.* 16, 448-455.
- Simola N, Bustamante D, Pinna A, Pontis S, Morales P, Morelli M, Herrera-Marschitz M (2008). Acute perinatal asphyxia impairs non-spatial memory and alters motor coordination in adult male rats. *Exp. Brain Res.* 185, 595–601.
- Simpson J, Bree D, Kelly JP (2012). Effect of early life housing manipulation on baseline and drug-induced behavioural responses on neurochemistry in the male rat. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 37, 252-263.
- Smart JL, Dobbing J (1971a). Vulnerability of developing brain II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development on behavior in the rat. *Brain Res.* 28, 85-95.
- Smart JL, Dobbing J (1971b). Vulnerability of developing brain VI. Relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behavior in the rat. *Brain Res.* 33, 303-314.
- Soares J, Holmes PV, Renner KJ, Edwards GL, Bunnell BN, Dishman RK (1999). Brain noradrenergic responses to footshock after chronic activity-wheel running. *Behav. Neurosci.* 113, 558-566.
- Somogyvari-Vigh A, Reglodi D (2004). Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: a potential neuroprotective peptide. *Curr. Pharm. Des.* 10, 2861-2889.
- Sousou SD (1997). Effects of melody and lyrics on mood and memory. *Percept. Mot. Skills.* 85, 31–40.

- Souza SK, Martins TL, Ferreira GD, Vinagre AS, Silva RS, Frizzo ME (2013). Metabolic effects of perinatal asphyxia in the rat cerebral cortex. *Metab. Brain Dis.* 28, 25–32.
- Squibb RE, Tilson HA, Meyer OA, Lamartiniere CA (1981). Neonatal exposure to monosodium glutamate alters the neurobehavioral performance of adult rats. *Neurotoxicology* 2, 471-484.
- Stein DG (2001). Brain damage, sex hormones and recovery: A new role for progesterone and estrogens? *Trends Neurosci.* 24, 386–391.
- Strata F, Stoianov IP, de Villiers-Sidani E, Bonham B, Martone T, Kenet T, Chang EF, Vincenti V, Merzenich MM (2010). Perinatal asphyxia affects rat auditory processing: Implications for auditory perceptual impairments in neurodevelopmental disorders. *PLoS One* 5, e15326.
- Stricker-Krongrad A, Beck B (2004). Up-regulation of neuropeptide Y receptors in the hypothalamus of monosodium glutamate-lesioned Sprague-Dawley rats. *Nutr. Neurosci.* 7, 241-245.
- Sun X, Zhou H, Luo X, Li S, Yu D, Hua J, Mu D, Mao M (2008). Neuroprotection of brain-derived neurotrophic factor against hypoxic injury in vitro requires activation of extracellular signal-regulated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Int. J. Dev. Neurosci.* 26, 363–370.
- Suzuki T, Bramlett HM, Dietrich D (2003). The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp. Neurol.* 184, 1017–1026.
- Szabadfi K, Atlasz T, Horvath G, Kiss P, Hamza L, Farkas J, Tamas A, Lubics A, Gabriel R, Reglodi D (2009). Early postnatal enriched environment decreases retinal degeneration induced by monosodium glutamate treatment. *Brain Res.* 1259, 107–112.
- Szabadfi K, Atlasz T, Reglodi D, Kiss P, Danyadi B, Fekete EM, Zorrilla EP, Tamas A, Szabo K, Gabriel R (2009). Urocortin 2 protects against retinal degeneration following bilateral common carotid artery occlusion in the rat. *Neurosci. Lett.* 455, 42–45.
- Szabadfi K, Mester L, Reglodi D, Kiss P, Babai N, Racz B, Kovacs K, Szabo A, Tamas A, Gabriel R, Atlasz T (2010). Novel neuroprotective strategies in ischemic retinal lesions. *Int. J. Mol. Sci.* 11, 544-561.
- Szeligo F, Leblond CP (1977). Response of the three main types of glial cells of cortex and corpus callosum in rats handled during suckling or exposed to enriched, control and impoverished environments following weaning. *J. Comp. Neurol.* 172, 247-263.
- Takemoto TI, Suzuki T, Miyama T (1975). Effects of isolation on mice in relation to age and sex. *Tohoku J. Exp. Med.* 117, 153–165.
- Takuma K, Maeda Y, Ago Y, Ishihama T, Takemoto K, Nakagawa A, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Matsuda T (2014). An enriched environment ameliorates memory impairments in PACAP-deficient mice. *Behav. Brain Res.* 272, 269-278.

- Tamas A, Gabriel R, Racz B, Denes V, Kiss P, Lubics A, Lengvari I, Reglodi D (2004). Effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in retinal degeneration induced by monosodium-glutamate. *Neurosci. Lett.* 372, 110-113.
- Tamas A, Vass R. A, Helyes Zs, Bagoly T, Nagy P, Juhasz J, Sotonyi P, Horvath G, Nikli B, Tarcai I, Reglodi D (2015). Examination of PACAP in different milk samples. 12th International Symposium on VIP, PACAP and Related Peptides, 2015. Szeptember 21-26, Cappadocia, Törökország.
- Ten VS, Bradley-Moore M, Gingrich JA, Stark RI, Pinsky DJ (2003). Brain injury and neurofunctional deficit in neonatal mice with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Behav. Brain Res.* 145, 209–219.
- Thiriet N, Gennequin B, Lardeux V, Chauvet C, Decressac M, Janet T, Jaber M, Solinas M (2011). Environmental enrichment does not reduce the rewarding and neurotoxic effects of methamphetamine. *Neurotox. Res.* 19, 172–182.
- Tracey KJ (2007). Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *J. Clin. Invest.* 117, 289–296.
- Tsuchikawa D, Nakamachi T, Tsuchida M, Wada Y, Hori M, Farkas J, Yoshikawa A, Kagami N, Imai N, Shintani N, Hashimoto H, Atsumi T, Shioda S (2012). Neuroprotective effect of endogenous pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on spinal cord injury. *J. Mol. Neurosci.* 48, 508-517.
- Tsumuraya T, Ohtaki H, Song D, Sato A, Watanabe J, Hiraizumi Y, Nakamachi T, Xu Z, Dohi K, Hashimoto H, Atsumi T, Shioda S (2015). Human mesenchymal stem/stromal cells suppress spinal inflammation in mice with contribution of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP). *J. Neuroinflammation.* 12, 35.
- Ujhazy E, Dubovicky M, Navarova J, Sedlackova N, Danihel L, Brucknerova I, Mach M (2013). Subchronic perinatal asphyxia in rats: Embryo-foetal assessment of a new model of oxidative stress during critical period of development. *Food Chem. Toxicol.* 61, 233-239.
- Ulanovsky N, Las L, Farkas D, Nelken I (2004). Multiple time scales of adaptation in auditory cortex neurons. *J. Neurosci.* 24, 10440-10453.
- Urakawa S, Hida H, Masuda T, Misumi S, Kim TS, Nishino H (2007). Environmental enrichment brings a beneficial effect on beam walking and enhances the migration of doublecortin-positive cells following striatal lesions in rats. *Neuroscience* 144, 920–933.
- Urena-Guerrero ME, Lopez-Perez SJ, Beas-Zarate C (2003). Neonatal monosodium glutamate treatment modifies glutamic acid decarboxylase activity during rat brain postnatal development. *Neurochem. Int.* 42, 269-276.
- Van de Berg WD, Schmitz C, Steinbusch HW, Blanco CE (2002). Perinatal asphyxia induced neuronal loss by apoptosis in the neonatal rat striatum: A combined TUNEL and stereological study. *Exp. Neurol.* 174, 29–36.

- van de Weerd HA, Baumans V (1995). Environmental enrichment in rodents. In: Smith, C.P., Taylor (Eds.), *Environmental Enrichment Information Resources for Laboratory Animals: 1965-1995*. AWIC Resource Series 2, Department of Agriculture, Beltsville, ME and Universities Federation of Animal Welfare, Herts, UK, 145-212.
- van der Staay FJ, Augstein KH, Horváth E (1996). Sensorimotor impairments in Wistar Kyoto rats with cerebral infarction, induced by unilateral occlusion of the middle cerebral artery: recovery of function. *Brain Res.* 715, 180-188.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* 2, 266-270.
- van Praag H, Kempermann G, Gage FH (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nat. Rev. Neurosci.* 1, 191-198.
- van Rijn CM, Marani E, Rietveld WJ (1986). The neurotoxic effect of monosodium glutamate (MSG) on the retinal ganglion cells of the albino rat. *Histol. Histopathol.* 1, 291-295.
- Vannucci RC (2000). Hypoxic-ischemic encephalopathy. *Am. J. Perinatol.* 17, 113–120.
- Vannucci RC, Christensen MA, Yager JY (1993). Nature, time-course, and extent of cerebral edema in perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatr. Neurol.* 9, 29–34.
- Varga B, Szabadfi K, Kiss P, Fabian E, Tamas A, Griecs M, Gabriel R, Reglodi D, Kemeny-Beke A, Pamer Z, Biro Z, Tosaki A, Atlasz T, Juhasz B (2011). PACAP improves functional outcome in excitotoxic retinal lesion: an electroretinographic study. *J. Mol. Neurosci.* 43, 44–50.
- Vazquez-Sanroman D, Sanchis-Segura C, Toledo R, Hernandez ME, Manzo J, Miquel M (2013). The effects of enriched environment on BDNF expression in the mouse cerebellum depending on the length of exposure. *Behav. Brain Res.* 243, 118–128.
- Vedovelli K, Silveira E, Velho E, Stertz L, Kapczinski F, Schroder N, Bromberg E (2011). Effects of increased opportunity for physical exercise and learning experiences on recognition memory and brain-derived neurotrophic factor levels in brain and serum of rats. *Neuroscience* 199, 284-291.
- Videan EN, Fritz J, Howell S, Murphy J (2007). Effects of two types and two genre of music on social behavior in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 46, 66-70.
- Vivinetto AL, Suarez MM, Rivarola MA (2013). Neurobiological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. *Behav. Brain Res.* 240, 110–118.
- Vlassaks E, Strackx E, Vles JS, Nikiforou M, Martinez-Martinez P, Kramer BW, Gavilanes AW (2013). Fetal asphyctic preconditioning modulates the acute cytokine response thereby protecting against perinatal asphyxia in neonatal rats. *J. Neuroinflammation* 10, 14.

- Wagner AK, Kline AE, Sokoloski J, Zafonte RD, Capulong E, Dixon CE (2002). Intervention with environmental enrichment after experimental brain trauma enhances cognitive recovery in male but not female rats. *Neurosci. Lett.* 334, 165–168.
- Wainwright PE, Lévesque S, Krempulec L, Bulman-Fleming B, McCutcheon D (1993). Effects of environmental enrichment on cortical depth and Morris-maze performance in B6D2F2 mice exposed prenatally to ethanol. *Neurotoxicol. Teratol.* 15, 11-20.
- Waschek J (2013). VIP and PACAP: neuropeptide modulators of CNS inflammation, injury, and repair. *Br. J. Pharmacol.* 169, 512-523.
- Wells DL (2009). Sensory stimulation as environmental enrichment for captive animals: A review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 118, 1–11.
- Wells DL, Coleman D, Challis MG (2006). A note on the effect of auditory stimulation on the behaviour and welfare of zoo-housed gorillas. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 100, 327–332.
- Wells DL, Graham L, Hepper PG (2002a). The influence of auditory stimulation on the behaviour of dogs housed in a rescue shelter. *Anim. Welf.* 11, 385–393.
- Wells DL, Irwin RM (2008). Auditory stimulation as enrichment for zoo-housed Asian elephants (*Elephas maximus*). *Anim. Welf.* 17, 335–340.
- Westenbroek C, Snijders TA, den Boer JA, Gerrits M, Fokkema DS, ter Horst GJ (2005). Pair-housing of male and female rats during chronic stress exposure results in gender-specific behavioral responses. *Horm. Behav.* 47, 620–628.
- Xie H, Wu Y, Jia J, Liu G, Zhang Q, Yu K, Guo Z, Shen L, Hu R (2013). Enrichment-induced exercise to quantify the effect of different housing conditions: a tool to standardize enriched environment protocols. *Behav. Brain Res.* 249, 81-89.
- Yalch RF, Spangenberg ER (2000). The effects of music in a retail setting on real and perceived shopping times. *J. Bus. Res.* 49, 139–147.
- Yan Y, Zhou X, Pan Z, Ma J, Waschek JA, DiCicco-Bloom E (2013). Pro- and anti-mitogenic actions of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in developing cerebral cortex: potential mediation by developmental switch of PAC1 receptor mRNA isoforms. *J. Neurosci.* 33, 3865-3878.
- Yang S, Lu W, Zhou DS, Tang Y (2012). Enriched environment and white matter in aging brain. *Anat. Rec. (Hoboken)* 295, 1406–1414.
- Yang T, Zhuang L, Terrando N, Wu X, Jonhson MR, Maze M, Ma D (2011). A clinically relevant model of perinatal global ischemic brain damage in rats. *Brain Res.* 1383, 317–323.
- Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ (1999). Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Nat. Med.* 5, 448-453.

- Young D, Lawlor PA, Leone P, Dragunow M, During MJ (2012). Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. *Behav. Brain Res.* 230, 92–99.
- Young RJ (2003). *Environmental enrichment for captive animals*. Malden, MA: Blackwell Science. Oxford, UK.
- Yu K, Wu Y, Jia J, Hu Y, Zhang Q, Xie H, Liu G, Chen Y, Guo Z (2013). Neuroprotective effects of prior exposure to enriched environment on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats: The possible molecular mechanism. *Brain Res.* 1538, 93-103.
- Zakharova E, Starosciak A, Wade D, Izenwasser S (2012). Sex differences in the effects of social and physical environment on novelty-induced exploratory behavior and cocaine-stimulated locomotor activity in adolescent rats. *Behav. Brain Res.* 230, 92–99.
- Zeynalov E, Nemoto M, Hurn PD, Koehler RC, Bhardwaj A (2006). Neuroprotective effect of kappa opioid receptor agonist is gender specific and linked to reduced neuronal nitric oxide. *J. Cereb. Blood Flow Metabolism* 26, 414–420.
- Zhu H, Zhang J, Sun H, Zhang L, Liu H, Zeng X, Yang Y, Yao Z (2011). An enriched environment reverses the synaptic plasticity deficit induced by chronic cerebral hypoperfusion. *Neurosci. Lett.* 502, 71–75.
- Zhu W, Oxford GS (2011). Differential gene expression of neonatal and adult DRG neurons correlates with the differential sensitization of TRPV1 responses to nerve growth factor. *Neurosci. Lett.* 500, 192-196.
- Ziebell JM, Morganti-Kossmann MC (2010). Review Involvement of pro- and anti-inflammatory cytokines and chemokines in the pathophysiology of traumatic brain injury. *Neurotherapeutics* 7, 22–30.

Az alábbi képeket az internetről használtam fel, a linkek az alábbiakban kerülnek feltüntetésre:

1. ábra: http://cdnmedhall.org/sites/default/files/inductees/sketch/hebb_dr._donald_o.jpg
2. ábra: <http://www.oncolink.org/library/images/mozart.jpg>
3. ábra: <http://sci-toys.com/ingredients/msg.gif>
21. ábra: http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Radioimmunoassay
ng=1#

A fentebb felsoroltakon kívül minden további fényképes illusztráció, grafikon és ábra saját, a kísérletek során készített fényképfelvétel, valamint az kísérletek során nyert eredmény alapján Microsoft Excel program segítségével szerkesztett grafikon.

A fent felsoroltakon kívül a dolgozat írásában felhasználtam az *Orvosi Helyesírási Szótár*-at. (szerkesztette: Dr. Fábíán Pál, Dr. Magasi Péter)

Horvath G, Reglodi D, Vadasz G, Farkas J, Kiss P (2013). Exposure to enriched environment decreases neurobehavioral deficits induced by neonatal glutamate toxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19054-19066. IF: 2,339

Horvath G, Reglodi D, Farkas J, Vadasz G, Mammel B, Kvarik T, Bodzai G, Kiss-Illes B, Farkas D, Matkovits A, Manavalan S, Gaszner B, Tamas A, Kiss P (2015). Perinatal positive and negative influences on the early neurobehavioral reflex and motor development. *Adv. Neurobiol.* 10, 149-167. *Perinatal Programming of Neurodevelopment*. Chapter 8. Antonelli, Marta (Ed.), Springer ISBN 978-1-4939-1371-8 (könyvfejezet)

Horvath G, Kiss P, Nemeth J, Lelesz B, Tamas A, Reglodi D (2015). Environmental enrichment increases PACAP levels in the CNS of adult rats. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 36, 143-147. IF: 0,799

Kiss P, Atlasz T, Szabadfi K, **Horvath G**, Griecs M, Farkas J, Matkovits A, Toth G, Lubics A, Tamas A, Gabriel R, Reglodi D (2011). Comparison between PACAP- and enriched environment-induced retinal protection in MSG-treated newborn rats. *Neurosci. Lett.* 487, 400-405. IF: 2,105

Kiss P, Szabadfi K, **Horvath G**, Tamas A, Farkas J, Gabriel R, Reglodi D (2013). Gender-dependent effects of enriched environment and social isolation in ischemic retinal lesion in adult rats. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 16111-16123. IF: 2,339

Kiss P, Vadasz G, Kiss-Illes B, **Horvath G**, Tamas A, Reglodi D, Koppan M (2013). Environmental enrichment decreases asphyxia-induced neurobehavioral developmental delay in neonatal rats. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 22258-22273. IF: 2,339

Szabadfi K, Atlasz T, **Horváth G**, Kiss P, Hamza L, Farkas J, Tamas A, Lubics A, Gabriel R, Reglodi D (2009). Early postnatal enriched environment decreases retinal degeneration induced by monosodium glutamate treatment in rats. *Brain Res.* 1259, 107-112. IF: 2,463

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Kiss P, Szogyi D, Reglodi D, **Horvath G**, Farkas J, Lubics A, Tamas A, Atlasz T, Szabadfi K, Babai N, Gabriel R, Koppan M (2009). Effects of perinatal asphyxia on the neurobehavioral and retinal development of newborn rats. *Brain Res.* 1255, 42-50. IF: 2,463

Farkas J, Reglodi D, Gaszner B, Szogyi D, **Horvath G**, Lubics A, Tamas A, Frank F, Besirevic D, Kiss P (2009). Effects of maternal separation on the

neurobehavioral development of newborn Wistar rats. Brain Res. Bull. 79,
208-214. IF: 2,184

TUDOMÁNYOS MUTATÓK

Közlemények összes impakt faktora: 17,031

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Még TDK hallgatóként kezdtem kutatói munkát végezni a PTE ÁOK Anatómiai Intézetében, ahol témavezetőim Dr. Reglődi Dóra és Dr. Kiss Péter már a kezdetektől, az első kísérletek megtervezésétől, előadásokra való készüléstől, és poszterszerkesztéstől kezdve nagyon sokat segített, mindig támogatt. Ők ösztönöztek első hazai konferencia részvételeim, első külföldi konferenciáim, első angol nyelvű előadásaim előtt is. A kezdetekben kutatásaim módszertanának megtanulásában, elsajátításában nagy segítséget nyújtott Dr. Farkas József, aki mindig segített, ha kérdésem volt. A tudományos diákköri munkával töltött időszak meghatározó volt számomra, az Anatómiai Intézet baráti hangulata, a kollégák segítő keze nagyban hozzájárult ahhoz, hogy további kutatásra, és így a PhD tanulmányok elkezdésére ösztönözzön. Az egész Anatómiai Intézetnek hálával tartozom ezért. A PhD munkám során sok segítséget nyújtottak témavezetőimen kívül TDK hallgatóim is. Vadász Gyöngyvér, Farkas Csilla Dorottya, Jüngling Adél, Karádi Zsófia Nozomi, Novográdecz Gergely és Nikli Balázs is mindig érdeklődően, pozitívan álltak a közös munkához, ezt mutatja a sok TDK konferencia részvételük, és sikeres díjjal is elismert előadásuk is. Jó volt együtt készülni ezekre, együtt gondolkodni új kísérleteken, és együtt örülni a közös sikereknek is.

Szeretnék még köszönetet mondani Dr. Atlasz Tamásnak és Dr. Szabadfi Krisztinának† a retinával kapcsolatos vizsgálatokban nyújtott segítségükért, illetve hogy a még TDK hallgatóként készített Dékáni Pályamunkámban sok értékes észrevétellel segítették munkámat.

A tengerimalac tejjel kapcsolatos vizsgálatokban a tejminta vételek során nagy segítségemre volt Rabovszky Helga és Gréczi Brigitta, köszönöm nekik is.

A minták RIA méréseiben Dr. Németh József és Dr. Bagoly Terézia, valamint Vass Réka TDK hallgató nyújtott sok nélkülözhetetlen segítséget, amit ezúton is köszönök mindannyiuknak.

Dr. Tamás Andreának is szeretnék köszönetet mondani, mind közös kutatásainkkal kapcsolatos segítsége, útmutatása, mind a konferenciákkal kapcsolatos felkészítési és szervezési tevékenységéért.

PhD tanulmányaim mellett aktívan részt vettem az oktatásban is, így mindenképpen szeretnék köszönetet mondani az Anatómiai Intézet összes oktatójának, szakmai kérdésekben, oktatástechnikai dolgok terén mindig számíthattam rájuk, sokszor voltak segítségemre.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani Családomnak, Szüleimnek, Borbély Évának, Horváth Sándornak és testvéremnek Dr. Horváth Zsófiának. Az ő támogatásuk, ösztönzésük és szeretetük nélkül nem jutottam volna el idáig. Köszönöm szépen!