
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET NEUROPROTEKTÍV HATÁSAINAK VIZSGÁLATA



DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Dr. Horváth Gábor

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Anatómiai Intézet

Témavezető:

Dr. Reglódi Dóra, Dr. Kiss Péter

Programvezető:

Dr. Csernus Valér

Doktori Iskola vezetője:

Dr. Szekeres Júlia

Pécs, 2015

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	1
BEVEZETÉS.....	2
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET	2
A ZENEI INGERGAZDAGSÁG	2
SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ	2
HIPOFÍZIS ADENILÁT CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID (PACAP).....	3
NÁTRIUM-GLUTAMÁT (MONOSODIUM-GLUTAMATE, MSG)	3
ASPHYXIA.....	3
KORAI POSZTNATÁLIS FEJLŐDÉS	4
CÉLKITŰZÉSEK.....	4
ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	5
KÍSÉRLETI ÁLLATOK.....	5
KEZELÉSEK	5
A NEUROLÓGIAI JELEK ÉS REFLEXEK VIZSGÁLATA.....	8
MOTOROS KOORDINÁCIÓ VIZSGÁLATA.....	10
TEJMINTA GYŰJTÉS (FEJÉS).....	11
SZÖVETANI VIZSGÁLATOK.....	11
RADIOIMMUNOASSAY MÉRÉS.....	12
STATISZTIKAI ELEMZÉS	13
EREDMÉNYEK.....	14
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE.....	14
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE	15
A ZENEI INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ÚJSZÜLÖTTKORI NÁTRIUM-GLUTAMÁT KEZELÉSRE	16
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENSZERI PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA FIATAL ÉS FELNŐTT PATKÁNYOKBAN.....	17
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA TENGERIMALAC TEJBEN	18
AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET ÉS SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ ÁLTAL INDUKÁLT NEMI KÜLÖNBBSÉGEK ISCHEMIÁS RETINA LÉZIÓS PATKÁNYMODELLBEN	18
ÖSSZEFOGLALÁS ÉS TÁVLATI CÉLOK	20
A PHD DOLGOZAT ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK	21
EGYÉB KÖZLEMÉNYEK.....	22
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	22

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 környezet központi idegrendszeri fejlődésre kifejtett jelentőségét - azon belül is az ingergazdag környezet pozitív hatását és annak fontosságát - először egy véletlen kapcsán sikerült bizonyítani.

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

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 faktoral 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 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.

SZOCIÁLIS IZOLÁCIÓ

Mivel a környezeti faktorok között fontos szerepe van a társas kapcsolatoknak, így azingerszegény környezet jól modellezhető szociálisan izolált rágcsáló állatmodellben. A szociális érintkezés jelentős hatással van az idegrendszer alakulására, fejlődésére.

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 izoláltak birka hipotalamusból, de később igazolták jelenlétét a központi és a környéki idegrendszer más területein is. A PACAP a VIP-secretin-glukagon peptidcsaládhoz 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.

Tanulmányunkban a PACAP-pal kapcsolatos kutatás célja egy eddig még kevésbé vizsgált terület, az ingergazdag környezet és PACAP kapcsolata.

NÁTRIUM-GLUTAMÁT (MONOSODIUM-GLUTAMATE, MSG)

A glutamát az egyik leggyakrabban előforduló excitátoros neurotranszmitter az agyban, de ugyanakkor excitotoxin is, a motoros, valamint kognitív és egyéb (endokrin) funkciókban egyaránt károsodásokat hoz létre. 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.

Az újszülött patkányoknak adott nagy dózisú subcutan MSG kezelés súlyos elváltozásokat okoz.

ASPHYXIA

A születés során kialakuló asphyxia napjaink egyik nagy kihívása az újszülött- és gyermekgyógyászati gyakorlatban. Az oxigén ellátás ideiglenes hiánya súlyos metabolikus eltéréseket indukál, amik hosszú távú idegrendszeri defícitek kialakulását okozhatják. 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.

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, ischaemiás hatások mellett a szociális izolációnak és ingergazdag környezetnek is fontos, a fejlődést meghatározó szerepe van.

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

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. A kezelési csoportok random módon kerültek kiválasztásra, az összes alom tartalmazott kontroll és kezelt állatokat. Az egyes csoportokat a saját kontrolljaikhoz hasonlítottunk a statisztikai elemzés során.

TENGERIMALAC MODELL

Kísérleteink egy részében tengerimalacokat vizsgáltunk. 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.

KEZELÉSEK

INGERGAZDAG KÖRNYEZET

Patkánykísérleteink során kétféle környezeti elrendezést alkalmaztunk. Az állatok első csoportját a laboratóriumi állattartásban hagyományosan használt ketrecben tartottuk. Ez a tartási körülmény szolgált a kontroll, standard („ingerszegény”) környezetnek. Az állatok második csoportját megnövelt élettérben, vagyis egy több, mint 3-szor nagyobb alapterületű és 2-szer magasabb ketrecben tartottuk születésük után. 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, majd azok felét naponta cseréltük. Így elkerültük azt, hogy teljesen új környezetet, és ezzel egy stresszfaktort hozzunk létre, egyidejűleg azonban biztosítottuk számukra a változatosságot, tovább növelve így az ingergazdagságot.

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 stresszfactor létrehozását, egyidejűleg biztosítva számukra a változatosságot, az ingergazdagságot.

ZENEI INGERGAZDAGSÁG

A zenei ingergazdagság vizsgálatához három állatcsoportot három külön szobába különítettünk el. Az egyik szobában a kontroll csoport volt hagyományos méretű ketrecben, 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.

Az állatok egy része fiziológias sóoldatos, másik része 4 mg/g MSG kezelést kapott. Kísérleteink során a csendes környezetben lévő kontroll fiziológias 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 nátrium-glutamátot subcutan injekcióként adtuk 100 µl fiziológiás sóoldatban oldva az 1, 5, 9. posztnatális napokon. A dózis 2 mg/testtömeg gramm volt retinával kapcsolatos vizsgálataink, 4 mg/testtömeg gramm volt az idegrendszeri fejlődéssel kapcsolatos vizsgálataink során. 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 középvonali 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. 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), pótanyához 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 állatscsoportra (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.

Az állatok súlyát mértük minden nap. A neurológiai jeleket és reflexeket irodalmi adatok alapján összeállított komplex tesztrendszer segítségével vizsgáltuk.

FELEGYENESEDÉSI (RIGHTING) REFLEXEK

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

(b) 50 centiméter magasból fejfelé egy szivacsra ejtve az állatokat, a négy végtagjukra érkezésük első napját jegyeztük fel.

NEGATÍV GEOTAXIS

Az állatokat egy 45°-ban megdőntött, 30 cm magas rácsra helyeztük fejfelé úgy, hogy az állat hátsó végtagja a rács közepén legyen. Feljegyeztük azt a napot, amikor a patkány megfordult, és felmászott a rács tetejére, azaz amikor mindkét mellső mancsával elérte annak legfelső fokát. 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.

KERESZTEZETT EXTENSOR REFLEX

A bal hátsó végtagon fájdalomingert (csipeszcsípés) alkalmazva vizsgáltuk az állat reakcióját. Azt a napot jegyeztük fel, amikor látszólag eltűnt a keresztezett extensor reflex, vagyis az ellenkező oldali végtag extenziója elmaradt. Az állat ilyenkor egy, az egyszerű reflextevékenységnél bonyolultabb, összetettebb mechanizmusú elhárító magatartással válaszolt az inzultusra.

FÜLRÁNGÁS REFLEX

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

SZEMHÉJREFLEX

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

VÉGTAG KONTAKT RÁHELYEZÉSI (PLACING) REFLEX

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

TAKTILIS FOGÓREFLEX (GRASPING)

Egy vékony rúddal érintettük a patkány mellső és hátsó végtagjának ventrális felszínét, és regisztráltuk az első napot, amikor erre az érintésre a rúd megragadásával válaszolt.

ELMOZDULÁSI REFLEX (GAIT)

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

AKUSZTIKUS MEGRETENÉSI REFLEX

Regisztráltuk az első napot, amikor az állat egy hirtelen hangingerre (taps) összerezett.

MOTOROS KOORDINÁCIÓ VIZSGÁLATA

Az állatokat posztnatális 2-5 hetes kor között teszteltük heti rendszerességgel. A teszteket az irodalomban elfogadott leírások alapján végeztük, 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.

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.

FÜGGESZKEDÉSI TESZT KÖTÉLEN

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

ROTAROD (MÓKUSKERÉK) TESZT

Egy 14 cm átmérőjű mókuskereket motorral hajtottunk meg 13/perces fordulatszámmal, 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.

KAPASZKODÁSI TESZT MEGDÖNTÖTT DESZKÁN

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

TEJMINTA GYŰJTÉS (FEJÉS)

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. 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.

SZÖVETTANI VIZSGÁLATOK

A neurológiai tesztek követően, az állatokat 5 hetes korukban túlaltattuk, 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 nagyagyú területek) külön-külön dolgoztuk fel. 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 jódoltunk (¹²⁵I, Izotóp Intézet Kft., Budapest, Magyarország), a reakciókeveréket reverz HPLC oszlopon választottuk el. A mono-jodinált peptidok (¹²⁵I-PACAP24-38 és ¹²⁵I-PACAP27) szolgáltak 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% NaN₃-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 ± standard hiba (standard error of the mean, SEM) formájában tüntettük 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

Az ingergazdag állatcsoport esetében azt tapasztaltuk, hogy nem alakult ki szignifikáns testtömeg különbség a fiziológiás sóoldattal és a nátrium-glutamáttal kezelt állatok között, vagyis az MSG kezelés testtömeg csökkentő hatása ingergazdag környezetben elmaradt. Az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a neonatális excitotoxikus lézió esetén az ingergazdag környezet védő hatással bír.

FIZIKÁLIS PARAMÉTEREK ÉS REFLEXFEJLŐDÉS

Az ingergazdag környezet nem befolyásolja ezen fizikális paraméterek megjelenését.

A többi neurológiai reflexet vizsgálva enyhe, nem szignifikáns késés jelentkezett a reflexek megjelenésében az MSG kezelt kontroll állatok esetén. Ezzel szemben az ingergazdag környezetben tartott állatok esetén a legtöbb reflex korábban jelent meg, de a különbségek nem voltak szignifikánsak.

MOTOROS KOORDINÁCIÓ

Tapasztalataink alapján a motoros koordinációval kapcsolatos vizsgálataink egyik legmegbízhatóbb indikátora a lépésszám és lépéshiba teszt. A rácson megtett lépéseket számolva azt találtuk, hogy a posztnatális 3. héten a komplex ingergazdag környezetben felnövő állatok többet mozogtak, mint a kontroll patkányok. 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. Az adatok arra utalnak, hogy a

motoros koordináció fejlődése, ami szükséges a rácsokon való hiba nélküli járáshoz, az MSG kezelés által késétt, de ezt a fejlődési késedelmet az ingergazdag környezet kompenzálni tudta.

A kötélén 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. 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.

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET HATÁSA AZ ASPHYXIA-INDUKÁLT KÉSLELTETETT FEJLŐDÉSRE

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. 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. Az eredmények alapján az a következtetés vonható le, hogy az ingergazdag környezet kivédi az újszülöttkori asphyxia által indukált csökkent testtömeg gyarapodást.

FIZIKÁLIS PARAMÉTEREK ÉS REFLEXFEJLŐDÉS

Nem találtunk szignifikáns különbséget a szemnyitás, fül kiegyenesedés és metszőfog kinövés megjelenési napját tekintve a kontroll kis ketrechen tartott és ingergazdag környezetben tartott állatok között. 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.

Az ingergazdag környezet képes volt szignifikánsan csökkenteni a keresztezett extensor reflexnél asphyxiás állatokban a fejlődési késést. A végtag ráhelyezési reflexek

vizsgálatakor megfigyelhető volt, hogy az asphyxia szignifikáns késést okozott mind a mellső, mind a hátsó végtag reflexeinek megjelenésében. Az ingergazdag környezet mind a mellső, mind a hátsó végtag kontakt ráhelyezési reflex megjelenését elősegítette, azaz a komplex ingergazdagság segítette a kivédni az asphyxia negatív hatásait. Ehhez hasonló eredményeket kaptunk a taktilis fogóreflexek vizsgálata során. Az asphyxia kb. 1,5 napos késést okozott a reflex megjelenésében, ezt az időeltolódást az ingergazdag környezet szignifikánsan nem tudta csökkenteni.

MOTOROS KOORDINÁCIÓ

A lépéshiba vizsgálata azt mutatta, 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.

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.

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. A két zenés csoport között különbség nem volt. Ez alapján egyik típusú zene sem rendelkezett a másiktól eltérő hatással.

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 fiziológiás sóoldattal kezelt állatok, illetve mint a heavy metál zenét hallgató MSG kezelt patkányok esetén. A fül kiegyenesedésének megjelenésében is a szemnyításhoz hasonló eredményt kaptunk, a klasszikus MSG kezelt csoportnál szignifikánsan később jelent meg, de itt csak a csendes körülmények között

élő fiziológiás sóoldattal kezelt csoporthoz képest, a heavy metál zenés MSG kezelt és a klasszikus zenés MSG kezelt állatok között szignifikáns különbség nem mutatkozott.

A reflexfejlődés vizsgálata során a mellső végtagok taktilis fogóreflexe az előzőekben tárgyalt szemnyitás és fül kiegyenesedés megjelenéséhez hasonló tendenciát mutatott. A magasból történő leejtés során mutakozó felegyenesedési reflex megjelenése a heavy metál zenés MSG kezelt csoportnál szignifikánsan korábban jelentkezett, mint a másik két állatcsoportnál. 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.

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET KÖZPONTI IDEGRENDSZERI 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. Kísérletünkben kb. 10x magasabb PACAP38 szinteket mértünk, mint a PACAP27 szintje. Hogy a különböző korú, és eltérő környezetben felnövő állatokból vett minták eredményeit megfelelően össze tudjuk hasonlítani, mindig a kontroll csoporthoz viszonyítva százalékban adtuk meg a mért adatokat.

PACAP SZINTEK A 3 HETES PATKÁNYOK KÖZPONTI IDEGRENDSZERÉBEN

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.

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.

PACAP SZINTEK A FELNŐTT PATKÁNYOK KÖZPONTI IDEGRENDSZERÉBEN

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. A PACAP38-at vizsgálva 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 .

AZ INGERGAZDAG KÖRNYEZET PACAP SZINTET BEFOLYÁSOLÓ HATÁSA TENGERIMALAC TEJBE

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. A tengerimalacok tejében lévő PACAP mennyiségére a környezet jelentős hatással van, a komplex ingergazdag környezet hatására szignifikánsan alacsonyabb PACAP szintet mértünk a tejmintákból.

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

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

Az áloperált állatok (SHAM) retinája normál képet mutatott. Nem találtunk különbséget az áloperált és intakt, nem operált állatok retinája között. 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 súlyos szerkezeti károsodás alakult ki a retinában. A retina egyes rétegeinek vastagsága szignifikánsan

csökkent, a legnagyobb mértékű csökkenést a str. granulosum internum és a str. plexiforme internum rétegeiben találtuk. Ennek következtében a távolság a membrana limitans externa (OLM) és a membrana limitans interna (ILM) szignifikánsan csökkent, a retina teljes vastagságának jelentős csökkenéséhez vezetve. Számos egyéb szerkezeti abnormalitást lehetett felfedezni: A sejtes 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. Érzékelhető volt a lecsökkent sejtszám az ONL és GCL rétegekben. 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. 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 állatoknál. Ez szignifikánsan nagyobb OLM-ILM távolságot eredményezett, a retina vastagabb volt. Az ingergazdag környezetnek nem volt szignifikáns hatása a stratum plexiforme rétegeinek vastagságára. 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. 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.

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

A kétoldali arteria carotis communis lekötetést követően a szociális izolációt elszenvedett hím patkányok és a kis ketrecbe helyezett állatok között nem találtunk jelentős különbséget. A BCCAO-t követően szociálisan izolált nőstény állatok retinája azonban súlyosabb mértékben károsodott, mint az azonos körülmények között tartott hímeké. A morfometriai analízis szignifikáns különbséget mutatott a hím és nőstény patkányok között az OLM-ILM távolság és az ONL vastagság tekintetében. Az OPL mind a hím, mind a nőstény csoport esetében szignifikánsan

vékonyabb volt a BCCAO hatására, mint a kis ketrecben tartott állatoknál. Az ONL-ben és INL-ben láthatóak voltak a sejtek között üres területek. A legsúlyosabb sérülés érintette az ONL és INL valamint az IPL területét. A kvantitatív analízis szignifikáns különbséget mutatott a GCL és az ONL rétegekben a kis ketreces és a szociálisan izolált csoportok között. A hím és nőstény szociálisan izolált csoportok között a GCL-ben nem, de az ONL-ben szignifikánsan jobb eredményt mutatott a hím patkányoknál.

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.
- 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.
- A 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 alapkutatásban szerzett eredmény évek múlva elegendő lehet ahhoz, hogy az orvostudomány területén sokszor kizárólagosként alkalmazott gyógyszeres terápiát kiegészítse, hatékony eszközt adva az orvosok kezébe, amit sikerrel lehetne bevezetni a központi idegrendszert érintő megbetegedések gyógyításában, és az azt követő hosszú távú rehabilitációs kezeléseknél.

A PHD DOLGOZAT ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

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

Szeretnék a sok segítségért köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Reglodi Dórának és Dr. Kiss Péternek. Köszönöm Dr. Farkas Józsefnek is, hogy kutatásaim módszertanának elsajátításában nagy segítséget nyújtott. Dr. Atlasz Tamásra és Dr. Szabadfi Krisztinára† a retinával kapcsolatos vizsgálatok során mindig számíthattam, köszönöm. A tengerimalac tejminta vételek során nagy segítségemre volt Rabovszky Helga és Gréczy Brigitta, a minták RIA méréseiben Dr. Németh József és Dr. Bagoly Terézia, valamint Vass Réka TDK hallgató, köszönöm mindannyiuknak. Dr. Tamás Andreának is szeretnék köszönetet mondani, mind közös kutatásainkkal kapcsolatos segítsége, útmutatása, mind a konferenciákkal kapcsolatos felkészítési, szervezési tevékenységéért. TDK hallgatóimnak: Vadász Gyöngyvérnek, Farkas Csilla Dorottyának, Jüngling Adélnak, Karádi Zsófia Nozominak, Novográdecz Gergelynek és Nikli Balázsnak is hálával tartozom, mindig érdeklődően, pozitívan álltak a közös munkához, ezt mutatja sok TDK konferencia részvételük, és sikeres díjjal is elismert előadásuk is. Szeretnék köszönetet mondani a PTE ÁOK Anatómiai Intézet dolgozóinak, mindig inspiráltak és támogattak kutatásaim során. 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 ideig. Köszönöm szépen!