

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

A CINGULÁRIS KÉREGBE ADOTT INTERLEUKIN-1 β
HOMEOSZTATIKUS ÉS MAGATARTÁSI HATÁSAI

Doktori (PhD) értekezés

László Bettina Réka

Témavezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán

Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szekeres Júlia

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

Élettani Intézet,

Pécs

2020

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	4
I. Bevezetés	6
II. Irodalmi háttér.....	7
1. A táplálkozás központi szabályozása	7
1.1. A táplálkozás szabályozásában résztvevő agyi struktúrák.....	7
1.2. Orexigén és anorexigén neuronok és transzmitterek	9
1.3. A központi glukózmonitorozó rendszer	11
1.4. Az ízlelés szerepe a táplálkozásszabályozásban	12
1.5. Az ízinformációk feldolgozása	13
2. Citokinek szerepe a homeosztázis szabályozásában	15
2.1. Interleukin-1	15
3. A cinguláris kéreg	20
3.1. Anatómiája és összeköttetései.....	20
3.2. Funkciói, szerepe a táplálkozás szabályozásában	22
III. Kérdésfelvetés	23
IV. Módszerek	25
1. Alanyok	25
2. Műtétek.....	25
3. Anyagbeadás	26
4. Kísérletes vizsgálatok.....	27
4.1. Táplálék- és vízfelvétel mérése.....	27
4.2. Testhőmérséklet mérése	27
4.3. Glukóztolerancia-teszt	28
4.4. Metabolitok mérése.....	28
4.5. Ízreaktivitás teszt	28
4.6. Kondicionált ízaverzió	31
4.7. Open field teszt	31
4.8. Kondicionált helypreferencia teszt.....	32
5. Adatok kiértékelése	33
5.1. Perfúzió és szövettan.....	33
5.2. Adatelemzés	34
V. Eredmények	35
1. Táplálék- és vízfelvétel	35

2.	Testhőmérséklet	36
3.	Glukóztolerancia-teszt.....	37
4.	Plazma metabolitok	38
5.	Ízreaktivitás teszt.....	39
6.	Kondicionált ízaverzió	42
7.	Open field teszt.....	43
8.	Helypreferencia teszt.....	45
VI.	Eredmények megbeszélése.....	46
1.	Táplálék- és vízfelvételekre gyakorolt hatás.....	46
2.	Lázkeltő hatás.....	47
	Paracetamol hatása az IL-1 β okozta testhőmérséklet-emelkedésre	48
3.	Metabolikus szerep.....	49
4.	Ízreaktivitás	51
5.	Kondicionált ízaverzió	55
6.	Magatartási kísérletek: open field és helypreferencia teszt.....	55
VII.	Eredmények összefoglalása.....	57
VIII.	Konklúzió	58
	Köszönetnyilvánítás	59
	Publikációs jegyzék.....	60
	Irodalomjegyzék.....	73

Rövidítések jegyzéke

α -MSH	melanocita stimuláló hormon
ACC	anterior cinguláris kéreg
AgRP	agouti-related protein
AMY	amygdala
AP	anteroposztior
CART	cocaine and amphetamine regulated transcript
CO	kontroll
COX	ciklooxigenáz
CPP	kondicionált helypreferencia
CRH	kortikotropin-felszabadító hormon
CTA	kondicionált ízaverzió
GM	glukózmonitorozó
GP	globus pallidus
GTT	glukóztolerancia-teszt
HDL	nagysűrűségű lipoprotein
IL-1 β	interleukin-1 beta
IL-1RI	I-es típusú interleukin-1 receptor
IL-1RII	II-es típusú interleukin-1 receptor
ip.	intraperitoneális
icv.	intracerebroventrikuláris
LDH	laktát-dehidrogenáz
LHA	laterális hipotalamusz área
LiCl	lítium-klorid
LPS	lipopoliszacharid
MCC	midcinguláris kéreg
ML	mediolaterális
MLDR	mezolimbikus-mezokortikális dopaminrendszer
MSG	Na-1-glutamát
NAcc	nucleus accumbens

NPY	Y-neuropeptid
NSAID	nem-szteroid gyulladásgátló szer
NSDR	nigrostriális dopaminrendszer
NTS	nucleus tractus solitarii
OFC	orbitofrontalis kéreg
OPF	open field teszt
P	paracetamol
pACC	pregenuális anterior cinguláris kéreg
PBS	sós foszfát puffer
PCC	poszterior cinguláris kéreg
PGE2	prostaglandin E2
POMC	proopiomelanocortin
QHCl	kinin-hidroklorid
STZ	streptozotocin
VMH	ventromediális hipotalamusz mag
VNAR	ventrális noradrenergiás pálya
VPM	ventroposteromedialis talamusz mag
POA	preoptikus hipotalamusz área

I. Bevezetés

A táplálkozási és anyagcsere betegségek (diabétesz mellitusz, anorexia és bulimia nervosa, metabolikus szindróma, kóros elhízás, stb.) napjaink népbetegségeinek számítanak, melyek egyre szélesebb rétegeket és korosztályokat érintenek, s melyek kezelésében döntően csupán tüneti eljárásokat alkalmaznak. Laboratóriumunk kutatásai arra a hipotézisre alapulnak, hogy a vitathatatlanul meglévő perifériás eltérések mellett, ezen kórképek oka nagyrészt a központi idegrendszeri szabályozás zavaraiiban keresendő, melyek inkább funkcionális, mintsem morfológiai eltérések formájában jelennek meg. A homeosztázis, vagyis a szervezet belső egyensúlyának központi szabályozása a neurokémiai, endokrinológiai és immunológiai folyamatok adaptív integrációján alapszik, ahol a sejtek közti kommunikációért többek között a citokinek felelnek. Jelen kísérletsorozatunk a citokin – specifikusan, interleukin-1 β – mediálta központi szabályozó mechanizmusok vizsgálatára irányul.

A primer citokin interleukin-1 β (IL-1 β) részvételét a táplálék- és folyadékfelvételi magatartást eredményező komplex idegi és humorális szabályozó folyamatokban számos tanulmány igazolja. Táplálékfelvételt csökkentő [1-3] és vízfelvételre gyakorolt hatásán [1, 4] túl jól ismert a testhőmérséklet-emelkedést kiváltó szerepe [1, 4-8], továbbá vizsgálták a jelentőségét a glukóz-homeosztázisban [9, 10] és kimutatták más metabolitok plazmaszintjére kifejtett hatását is [11, 12]. Ezen kívül egyre növekvő mennyiségű irodalmi adat áll rendelkezésünkre arra vonatkozóan, hogy az IL-1-hez köthető gyulladós állapotok összefüggésben állnak az ízlelőrendszer zavaraiival és a kapcsolódó megbetegedésekkel [13-18].

Az IL-1 β táplálkozási és anyagcserefolyamatokra, testhőmérsékletre, valamint a táplálkozáshoz köthető magatartási és tanulási folyamatokra gyakorolt hatását az anterior cinguláris kéregbe (ACC) mikroinjektálva vizsgáltuk. Ezen kérgi régió aktivációját kimutatták a homeosztázis fenntartását érintő folyamatokban, pl. éhség [19], szomjúság [20], hipoglikémia [21] esetén, valamint ismert a szerepe a táplálkozáshoz köthető motivációs folyamatokban [22, 23] és a releváns ingerek (pl. táplálék íze, aromája, textúrája) értékelésében [24-26].

A fent említetteken túl, vizsgálataink során kitértünk az IL-1 β hatásmechanizmusában a ciklooxygenáz (COX)-mediálta folyamatok szerepének tisztázására, valamint a citokinnek az állatok általános lokomotoros aktivitására való, ill. egyéb, esetleges negatív vagy pozitív megerősítő hatására is.

II. Irodalmi háttér

1. A táplálkozás központi szabályozása

A szervezet megfelelő energia-, valamint tápanyagokkal való ellátottsága kulcsfontosságú az élőlény túlélése szempontjából. Az energiamérleg egyensúlyának fenntartását, illetve a táplálék- és folyadékfelvételt számos tényező befolyásolja. A szervezet tápanyagokkal (glukóz, szabad zsírsav, aminosavak) való ellátottságán kívül a gyomor-bélrendszer feszülési állapota, a vér inzulin-glukagon koncentrációja, ún. brain-gut (gyomor-bélrendszeri, de az idegrendszerben is jelen lévő) peptidek, valamint a táplálékok szenzoros jellemzői (íz, illat, látvány) mind az éhség-jóllakottság szabályozói. Mindehhez szociális, kulturális, környezeti és motivációs tényezők is társulnak, melyek nagyban befolyásolják az aktuális táplálkozási viselkedést. A táplálkozás, a folyadékfelvétel és a testtömeg tehát rendkívül összetett szabályozó rendszer irányítása alatt áll, mely az idegrendszer egészének adaptív együttműködését feltételezi [27].

1.1. A táplálkozás szabályozásában résztvevő agyi struktúrák

A fenti szabályozó folyamatok központi idegrendszeri kulcsstruktúrái a hipotalamusz és a limbikus rendszer több más területe. A hipotalamusz neurális úton az agytörzsön keresztül, valamint humorális, ezt követően ismét neurális úton a vér-agy gát „ablakain” át információt kap a teljes belső környezetből, így a gasztrointesztinális rendszerből a gyomortelítődésről, a vérben lévő tápanyagok szintjéről, gasztrointesztinális, ill. a zsírszövetből felszabaduló hormonokról, valamint maga is rendelkezik speciális, a vér glukózsintjét érzékelő ún. glukózmonitorozó, valamint ozmoszenzitív sejtekkel. Az érzékszervekből a táplálékok jellemzőiről (íz-, szag-, vizuális ingerek) kap tájékoztatást [27-29].

A laterális hipotalamusz área (LHA) ingerlése fokozza a táplálék- és folyadékfelvételt még jóllakott állatban is [30, 31], míg kétoldali léziója afágiát, adipsziát, csökkent nyál- és gyomorsav elválasztást, csökkent ízérzékenységet, percepció-motivációs és humorális-metabolikus zavarokat, a testtömeg csökkenését, végül a kísérleti állatok elpusztulását okozza (ún. klasszikus laterális hipotalamusz szindróma [32]), ezért ezt a területet „éhségközpont”-ként ismerjük. [33]. Az LHA ezen szerepét igazolja az is, hogy neuronjainak aktivitásváltozása mutatható ki a táplálék látványára és táplálékfelvételkor, ami az evés idején módosul, majd a telítődés létrejöttével megszűnik [34-36]. A ventromediális mag (VMH) elektromos ingerlése

az előzőkkel szemben csökkenti a táplálék- és folyadékfelvételt még éhes állatban is, míg léziója hiperfágiához, hiperdipsziához, hosszabb távon súlyos elhízáshoz vezet, így a hipotalamusznak ezt a területét „jóllakottság központ”-nak nevezték el [37-39]. A korai elképzelések szerint e két központ egy adott beállítási pontnak („*set point*”) megfelelően, egyszerű visszacsatolós működéssel szabályozza a táplálékfelvételt. Ezen ún. *centrum elmélet* alapján az LHA endogén és exogén ingerekre válaszolva kiváltja a táplálékfelvételt, majd a táplálkozás és ivás során a VMH aktivációja veszi át az irányítást, mely az LHA-t gátolva jóllakottságérzést vált ki és felfüggeszti az evést [37-39].

Mára nyilvánvalóvá vált, hogy a táplálkozás központi szabályozásában számos extrahipotalamikus struktúra is részt vesz, s az éhségmotivált viselkedés ezen agyterületek összehangolt működése által valósul meg. Bebizonyosodott, hogy a hipotalamuszhoz hasonlóan az amygdalában (AMY) is megtalálható egy éhség (dorzomediális)- és jóllakottság (bazolaterális terület) központ. Az AMY dorzomediális részének sértése afágiához vezet, míg a bazolaterális terület roncsolása, eltávolítása macskában hiperfágiát okoz, krónikus elektródával történő ingerléssel pedig az ellentétes hatás váltható ki ezeken a területeken [40-43]. A táplálkozási magatartás zavarait számos további agyi struktúra léziója után megfigyelték. A globus pallidus (GP) roncsolása a LHA-szindrómához hasonló tünetegyüttest vált ki (afágia, adipositas, humorális és metabolikus, valamint szenzoros-motoros integrációs zavarok) [44, 45]. A preoptikus área (POA) kétoldali léziója hipofágiához, hipodipsziához és a testtömeg csökkenéséhez vezet [46]. A nucleus accumbens (NAcc) „shell” illetve „core” régiójának roncsolása ellentétes hatást vált ki: míg előbbi az evés fokozódását, utóbbi a táplálékfelvételi motiváció csökkenését okozza [47, 48]. Az orbitofrontális kéreg (OFC) léziója nemcsak a táplálék- és folyadékfelvétel csökkenéséhez, illetve ebből következő fogyáshoz vezet, hanem az evéssel kapcsolatos motoros funkciókban (nyelvöltés, a táplálék manccsal történő megfogása) is zavart okoz [49]. Agytörzsi magok szintén fontos szerepet játszanak a táplálkozás szabályozásában. A nucleus tractus solitarii (NTS) és a nucleus parabrachialis területéről kolecisztoxinin tartalmú rostok érkeznek a VMH-ba, melyek a táplálkozási folyamat leállításáért felelnek. Ezek roncsolása következőképpen elhízáshoz vezet [50, 51].

A fentiek ismeretében ma már rendszerekben gondolkozunk, a centrum elmélet átadta a helyét a *katecholaminergiás pálya hipotézis*nek. Igazolták, hogy a „laterális hipotalamusz szindróma” a táplálék- és folyadékfogyasztás motoros vonatkozásait tekintve valójában a laterális hipotalamuszon áthaladó *nigrostriatális dopaminrendszer (NSDR)* léziójához [52], az ilyenkor megfigyelhető szenzoros neglekt pedig a *mezolimbikus-mezokortikális dopaminrendszer (MLDR)* roncsolásához köthető [45]. Utóbbi a ventrális tegmentális áréából

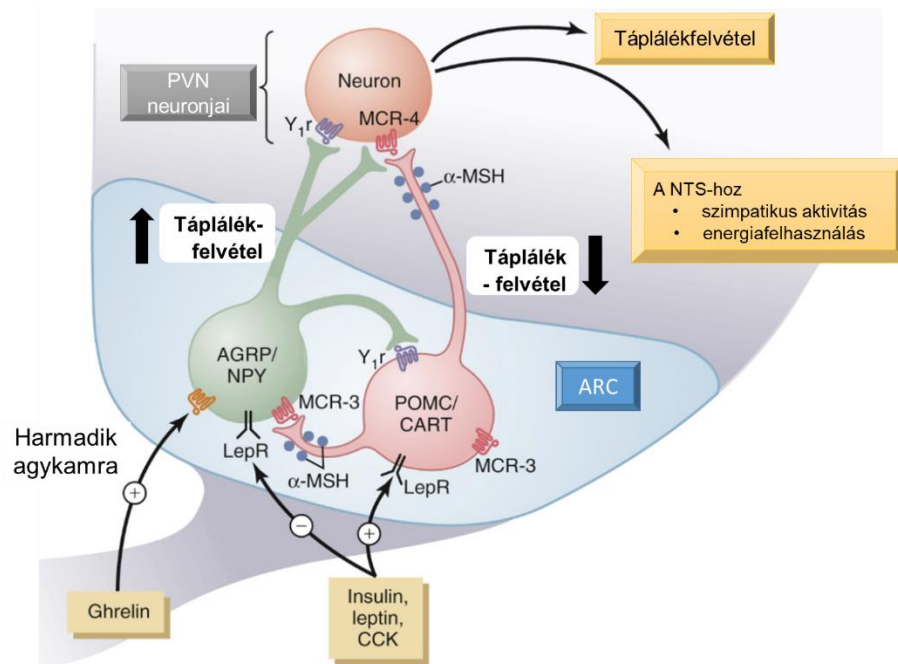
ered, a teljes limbikus rendszert, s az agykéregtet idegzi be. E rendszer limbikus területeken (AMY, POA, NAcc, OFC) történő, fent említett léziói hatására az éhség és szomjúság, illetve a testtömegszabályozás zavarait figyelték meg [27]. A jóllakottsági mechanizmusban a ventromediális és paraventriculáris hipotalamusz magban végződő *ventrális noradrenergias pálya (VNAR)* szerepét igazolták [53, 54]. Léziója az étvágy nagymértékű fokozódását váltotta ki, elhízáshoz vezetett, s ellensúlyozta az amfetaminnal kiváltott étvágytalanságot is. Ebben az összefüggésben tehát a NSDR és a MLDR együttesen felel meg az „éhségpálynak”, a VNAR pedig „jóllakottság pályának” tekinthető [27]. Ezt az elképzelést erősíti az a tény is, hogy a dopamin- és noradrenalin-aktivitás egyensúlya fontos tényezője az étvágy- és testtömegszabályozásnak. A dopamin relatív hiánya hipofágiához és fogyáshoz vezet, a noradrenalin relatív hiánya pedig az étvágy fokozódásával és a testtömeg növekedésével, azaz hízással jár [55].

A cinguláris kéregnek a táplálkozás központi regulációjában való részvételére csak az utóbbi évtized kutatásai mutattak rá. Szerepét „A cinguláris kéreg – Funkciói, szerepe a táplálkozás szabályozásában” című fejezet ismerteti.

1.2. Orexigén és anorexigén neuronok és transzmitterek

Az utóbbi évtizedekben számos olyan transzmittert fedeztek fel, melyek a központi idegrendszerben fokozzák (orexigén hatás), vagy gátolják (anorexigén hatás) a táplálék felvételét. Ezen peptidok jól lokalizálható idegsejtcsoportokban termelődnek, melyek közül a két legfontosabb a nucleus arcuatus területén található a hipotalamuszban. E két jelentős, eltérő funkciójú neuronpopuláció meghatározó szerepet játszik az étvágy, az energiafelhasználás és a szénhidrát anyagcsere regulációjában [56] (1. ábra, [57] alapján). Egyik az Y-neuropeptidet (NPY) és az agouti-related-proteint (AgRP) koexpresszáló sejtcsoport (NPY/AgRP-neuronok), melyből az ún. orexigén pálya indul ki, a másik pedig az anorexigén pályát elindító ún. POMC (proopiomelanocortin)/CART (cocaine and amphetamine regulated transcript) neuronok, melyek transzmitterei a melanokortin rendszerhez tartozó α -MSH (melanocita stimuláló hormon), valamint a CART. Az NPY/AgRP és a POMC/CART neuronok számos, a táplálkozás-szabályozásban fontos szerepet játszó hormon (pl. leptin, inzulin, kolecisztokinin, glukagonszerű peptid, ghrelin) által közvetített és neuronális információ felvevői. Ezáltal

értésülnek a szervezet energiaellátottságáról, zsírraktárainak állapotáról, a táplálkozás folyamatáról, s ennek megfelelően szabályozzák a táplálékfelvétel megindítását ill. leállítását.



1. ábra Orexigén és anorexigén neuronok és transzmitterek (az ábra értelmezését lásd a szövegben)
Barsh, G.S.; M.W. Schwartz; Nat Rev Genet, 2002 alapján

Az α -MSH az MCR-3 és MCR-4 melanokortin receptorokon keresztül fejt ki hatását. Ezen receptorok aktivációja csökkenti a táplálékfelvételt, miközben növeli az energiafelhasználást, ezáltal a hipotalamikusan melanokortin rendszer fontos szerepet játszik a szervezet energiaraktárainak szabályozásában. Az MCR-4 genetikai hibája obezitáshoz vezet, míg a melanokortin/MCR-4 rendszer túlműködése áll – s ezt dolgozatunk szempontjából fontos kiemelni – a súlyos fertőzések, valamint rosszindulatú daganatos betegségek során felszabaduló citokinek (elsősorban az $IL-1\beta$, az interleukin-6 és az α -tumornekrózis faktor) fokozott termelődése által okozott étvágytalanság és kóros lesoványodás hátterében [58]. Az MCR-4 által közvetített energiafelhasználás a NTS felé közvetített idegi információ és a szimpatikus idegrendszeri aktivitás fokozása által valósul meg.

Az AgRP az α -MSH kompetitív antagonistájaként gátolja annak hatását az MCR-3 és MCR-4 receptorokon, ezáltal növelve a táplálékfelvételt. A szervezet alacsony energiaellátottságának esetén az orexigén neuronok NPY-t szabadítanak fel, ami fokozza az étvágyat, miközben a POMC neuronok és a melanokortin rendszer aktivitása lecsökken [56, 58-64].

1.3. A központi glukózmonitorozó rendszer

A glukóz szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában alapvető jelentőségű. A máj fő vénájába juttatva csökkenti a táplálékfelvételt még éhes állapot esetén is, valamint megváltoztatja nemcsak a hepatikus vagus rostok kisülési frekvenciáját, hanem a hipotalamuszban lévő neuronokét is [65]. Inzulinnal kiváltott hypoglikémia ugyanakkor éhségérzetet indukál a hipotalamuszban található orexinneuronok aktivációja által. A nervus vagus egyes szabad idegvégződése a vena portae területén (hasnyálmirigy, vékonybél) érzékenységet mutatnak a vér glukózkoncentrációjára. Ezen perifériás glukózetektáló rendszerből az információ a nucleus tractus solitarii-n keresztül éri el a hipotalamuszt. A glukóz-érzékelés azonban nemcsak perifériásan, hanem a központi idegrendszerben is megvalósul [65].

Az ún. glukózmonitorozó (GM) sejtek jelenlétét elsőként Oomura mutatta ki a hipotalamuszban [28]. Ezen idegsejtek glukóz adására specifikusan megváltoztatják tüzelési frekvenciájukat. A glukózzal mutatott válaszkészség alapján a GM sejteknek két típusát különböztetjük meg: a glukóz hatására aktivitásuk fokozódásával reagáló sejteket glukózureceptor, míg a glukóz adására gátlódókat glukózszenzitív neuronoknak nevezzük. Azon sejteket, melyek a glukózt csupán metabolizmusuk során használják fel, de adására aktivitásváltozást nem mutatnak, glukóz-inszenzitív neuronoknak hívjuk [28].

A GM neuronok a vérben, a liquorban, valamint a közvetlen környezetükben jelen lévő neurokémiai anyagokat monitorozzák. Nemcsak glukózzal, hanem egyéb endogén kémiai ingerekre (inzulin, glukagon, szabad zsírsav, hormonok, neuropeptidok) is válaszolnak [66, 67]. A belső környezet ingerein kívül nagy arányban reakciókészséget mutatnak olyan külső környezeti szignálokra is, mint a táplálék íze, szaga, valamint látványa [34, 68-70], tehát az endogén és exogén információk integratív feldolgozását végzik.

Számos agyterületen igazolódott a GM sejthálózat részét képező neuronok jelenléte: LHA, VMH, AMY, GP, NAcc, OFC, NTS, area postrema, mediodorzális prefrontális kéreg, valamint az ACC [28, 67, 69, 71-81]. A perifériás szervek glukózzérzékelő elemei, valamint a központi glukózmonitorozó rendszer hierarchikusan szervezett hálózatot alkot, mely a táplálkozás szabályozásában és a homeosztázis fenntartásában alapvető jelentőségű [82].

Dolgozatunk témáját tekintve fontos kiemelni a cinguláris kéreg szerepét a glukózmonitorozó sejthálózat tagjaként. Laboratóriumunk mikroelektrofiziológiai kísérletei során az ACC vizsgált neuronjainak tíz százaléka mutatott válaszkészséget D-glukózzal [81]. Ezen központi GM sejteknek a streptozotocinnal (STZ) történt szelektív pusztítását követően táplálkozási és anyagcsere-zavarok – glukóztolerancia-tesztben a vércukorszint-görbe

dinamikájának változása (csúcsértékeinek eltolódása), plazma metabolitok koncentrációinak eltérése, valamint testtömegnövekedés – voltak megfigyelhetők [81].

Szintén fontos megemlíteni, hogy az erre vonatkozó kutatások alapján szoros kapcsolat van a neuronok glukózra való válaszkészsége és IL-1 β -érzékenysége között. Patkány VMH-ján végzett kísérletek azt mutatták, hogy azoknak a neuronoknak a döntő többsége, amelyek a glukózkoncentráció emelkedésére aktivitásfokozódással válaszoltak, IL-1 β adására szintén serkentődtek. A glukózra válaszkészséget nem mutató neuronok többségének aktivitására ugyanakkor a citokin sem volt hatással [83]. Laboratóriumunk patkány orbitofrontális kérgében történt mikroelektrofiziológiai vizsgálatainak során az IL-1 β -ra reagáló idegsejteknek körülbelül 90%-a D-glukózra is érzékeny volt, azaz a központi GM rendszer tagjának bizonyult [84].

1.4. Az ízlelés szerepe a táplálkozásszabályozásban

A dolgozat lényeges részét képezik az IL-1 β ízérzékelésben való szerepére irányuló vizsgálataink, ezért fontos kitérni az ízlelés táplálkozásszabályozásban játszott szerepére.

Az ízlelés alapvetően három fő funkciót tölt be. Az ételek íze (a többi szenzoros tulajdonsággal együtt, mint a táplálék szaga, látványa, textúrája) egyrészt kulcsszerepet játszik a táplálkozás konzumatív fázisát megelőző kefalikus reflexek kiváltásában. Ezek eredményeképpen fokozódik a nyálszekréció, a gyomornedv-elválasztás, a hasnyálmirigyenzimek és inzulin szekréciója, a gyomormozgások, az epeelválasztás és a gyomor-bélrendszeri hormonok elválasztása [85].

A másik fő szerepe, hogy a külső és belső környezet „határán”, a szájüregbe került inger alapján meghatározza, hogy az adott táplálék vagy folyadék fogyasztható, vagy a szervezet számára káros, veszélyes, tehát kerülendő. Az ízlelés érzésmodalitás az eddigieken felül, harmadik fő jellemzőként képes megítélni az étel ill. a szájüregbe kerülő bármilyen anyag nutritív, azaz metabolikus, továbbá, gyakran az anyagcsere szükségleteit is felülíró hedonikus értékét, ingerstív ill. averzív voltát. Utóbbi kiemelten fontos az általunk vizsgált agyterület szempontjából, hiszen ismert, hogy az ACC szerepet játszik a táplálék szenzoros jellemzőinek (íz, illat, textúra) előbbiek szerinti értékelésében [25, 26].

Az ízérzés öt alapíz megkülönböztetésére képes: édes, sós, savanyú, keserű, továbbá az aminosavak (emberben az L-glutamát és L-aszparaginat) által kiváltott „umami” íz detektálását tudjuk elvégezni [58]. Az édes, sós és az umami íz az értékes tápanyagok, a glukóz, ásványi sók és az aminosavforrások felismerését szolgálja, a hozzájuk társuló szubjektív benyomás

alapvetően kellemes, bár – mint minden íz esetében – ezt a koncentráció is befolyásolja. Az alapvetően kellemetlen keserű és savanyú íz a potenciálisan mérgező, illetve romlott ételekre figyelmeztet [58, 86, 87].

A kellemes és kellemetlen ízekre adott viselkedési mintázatok (pl. arckifejezések) genetikai szinten kódoltak. Ezt jól bizonyítják a csecsemőkön ill. vakon született személyeken történt ízingerléses vizsgálatok eredményei [88]. Az ízekre adott válaszok – bár fajra jellemzők – nagy hasonlóságot mutatnak a különböző fajok között, s az ingerstív ill. averzív mintázatok egyértelműen elkülöníthetők egymástól. Ezen alapul az *ízreaktivitás* teszt, mely az ízpercepciónak az ízingerekre adott elfogadó ill. elutasító válaszok értékelésén alapuló vizsgálata [89].

Az ízésnek ugyanakkor vannak tanulási folyamathoz köthető aspektusai is. Azokkal az ételekkel szemben megfigyelhető tartózkodás, csökkent fogyasztás, melyeknek ízével korábbi tapasztalat nem áll rendelkezésre, a *neofóbia* jelensége [90, 91]. Az ismeretlen ízű étel vagy ital elfogyasztását követő éhség- ill. szomjúságcsökkenés, valamint a normális emésztőműködés hatására a neofóbia gyengül, vagy megszűnik. Azonban ha a táplálék fogyasztását követően gasztrointesztinális diszkomfort (hányinger, hányás, intesztinális spazmus, hasmenés, stb.) alakul ki, akkor az egyed az adott ételt vagy italt a jövőben hosszú távon elkerüli. Ez a *kondicionált ízaverzió* jelensége [92, 93].

A megváltozott ízésékelés következménye a táplálkozási szokások megváltozása, a csökkent vagy éppen fokozott étvágy, amely hosszabb távon nagymértékben hozzájárul a kóros soványság, illetve obezitás kialakulásához.

1.5. Az ízinformációk feldolgozása

Az ízéső szenzoros sejtek receptorainak információja a nyelv és a légyszájpad területéről a VII. és IX. agyideg közvetítésével, a garat hátsó részéről, a gégetájékról, valamint a nyelvőcső legfelső szakaszáról pedig a X. agyidegen keresztül jut a központi idegrendszerbe. Újabb kutatások alapján, a gyomor-bélrendszerben is található az umami ill. az édes íz hatására ingerületbe kerülő kemoreceptorok [94, 95].

Az ízinformáció feldolgozásának első átkapcsolódási helye a NTS [96-98]. Ezt követően az íz-afferensek átkapcsolódási pontjai főemlősökben és rágcsálókban némileg eltérnek. *Főemlősökben* az ízekkel összefüggő jelzések a NTS-ból a ventroposteromedialis talamusz magba (VPM), innen az elsődleges ízkéregbe (frontalis operculum, elülső insula),

majd az OFC kaudolaterális területére jutnak, melyet másodlagos ízkéregként tartanak számon [98, 99]. Az insularis-orbitofrontalis területekhez további kitüntetett területek kapcsolódnak reciprok összeköttetésekkel: az AMY centrális magcsoportja, valamint a LHA és a GP [98, 100-105]. *Rágcsálók* esetében a NTS-tól a hídbéli központba, a nucleus parabrachialis ún. „pontin ízéző területére” jut az információ, innen pedig a VPM-en keresztül éri el az elsődleges és másodlagos ízkérget, mely az agranuláris és diszgranuláris insulában található [96]. Ezen kívül egy ún. ventrális ízprojekció is ismert, mely rágcsálóknál a hátsó agytörzset az előagy területeivel (AMY, LHA, GP) közvetlenül is összekapcsolja [96, 106-108].

A cinguláris kéreg szoros kölcsönkapcsolatban áll a főemlősökben másodlagos ízkéregként számon tartott OFC-vel [99, 109], valamint egyes források ún. harmadlagos ízkéregként is említik [110]. Ízérezélelésben betöltött szerepét részletesen „A cinguláris kéreg – Funkciói, szerepe a táplálkozás szabályozásában” című fejezet ismerteti.

2. Citokinek szerepe a homeosztázis szabályozásában

A külső környezet folyamatos változásainak kitett élő szervezetek számára a belső környezet (*milieu intérieur*) védelme és állandóságának biztosítása, azaz a homeosztázis fenntartása alapvető jelentőségű. A homeosztázis meghatározó tényezőit, így többek között a táplálék- és folyadékfelvétel, és a testhőmérséklet szabályozását, az energiaforgalom ill. a metabolizmus kontrollját összetett mechanizmusok irányítják. Ezen bonyolult folyamatok között is kitüntetett jelentőségűek az ideg- és immunrendszer közötti kétirányú kapcsolatok: a központi idegrendszer felől idegi és humorális úton folyik az információközvetítés az immunrendszer felé; ugyanakkor az immunrendszer is képes neurofiziológiai, neurokémiai és neuroendokrinológiai változásokat létrehozni aktivált immunsejtek ill. a neuronok által termelt ún. *immunregulátorok* közvetítésével [111].

A citokinek polipeptid mediátorok, melyek alapvető szerepet játszanak a sejtek közötti kommunikációban a homeosztázis egyensúlyát megzavaró folyamatok során. A patogének megjelenése, szöveti károsodás, tumorok, valamint a gyulladások számos folyamat elindítói, melyeket összefoglaló néven *a szervezet védekező reakcióinak* nevezünk. Ezek magukban foglalják a neuroendokrin rendszer (elsősorban a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese-tengely aktivációja), a keringési rendszer, a gyomor-bélrendszer, a perifériás ideg- és immunrendszer, valamint a központi idegrendszer (pl. fokozott lassú hullámú alvás kísérette) változásait. Ezt a sajátos, „sickness behavior”-ként elnevezett állapotot csökkent étvágy, rossz közérzet, fokozott anyagcsere (hőtermelés) és megváltozott termoreguláció jellemzi mely többnyire láz formájában manifesztálódik. A citokinek mindezen folyamatokban részt vesznek s legtöbbjüket a központi idegrendszerre kifejtett hatásukon keresztül mediálják [111-113].

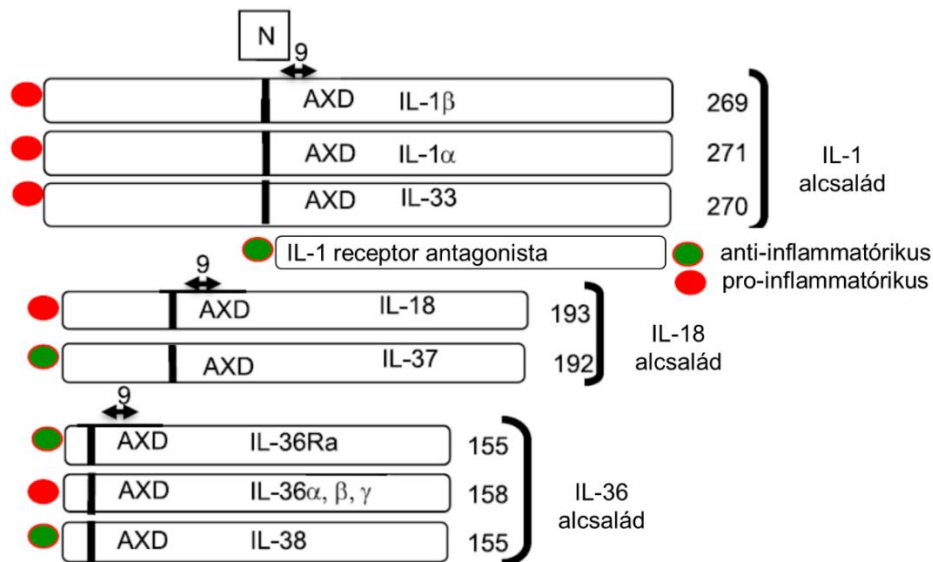
2.1. Interleukin-1

Az interleukin-1 (IL-1) a citokinek egyik legelőször azonosított, kiemelkedő tagja, mely elsősorban fertőzések, gyulladások, immunológiai reakciók, szöveti sérülések során termelődik. Biológiai hatásai a sérülést vagy fertőzést követő első órákban szinte minden szövetben és szervben manifesztálódnak [114].

Szintézise. Az IL-1 szintézisét perifériásan és centrálisan is igazolták. A periférián többek között a monocyták, macrophagok, lymphocyták, fibroblastok és endothelsejtek termelik [115, 116], a cerebrospinális folyadékban való jelenléte pedig egyrészt a perifériás

vérből ered: az aktivált T-limfociták a vér-agy gáton átjutva az agyban is termelnek IL-1-et [117], másrészt az agyi macrophagok [118], cerebrovascularis endothelsejtek [119], microgliák [120], astrocyták [121], valamint maguk a neuronok [122] lokálisan is szintetizálják.

Az interleukin-1 citokincsaládnak 11 tagja ismert, melyeket 3 alcshaládba (IL-1, IL-18, IL-36) sorolunk [123] (2. ábra, [124] alapján). Az IL-1-nek két molekulaformája ismert, az interleukin-1 α (citokin prekursor: 271 aminosav, aktív forma: 159 aminosav, 17,5 kD) és az interleukin-1 β (citokin prekursor 269 aminosav, aktív forma: 153 aminosav, 17,5 kD), melyek közül a jelen dolgozat tárgyát is képező β izomer bizonyult biológiailag aktívabbnak mind rácsálókban, mind főemlősökben [116, 125]. A hasonló biológiai szereppel rendelkező IL-1 α -n és IL-1 β -n kívül az IL-33 tartozik az IL-1 alcshaládba.



2. ábra Az IL-1 citokincsalád 3 alcshaládja. A citokin prekursorok jobb oldalán feltüntetett számok az adott citokin aminosavszámát mutatják. AXD: konszenzus szekvencia) Garlanda, C., C.A. Dinarello, A. Mantovani; Immunity, 2013. alapján

Az IL-1 β receptorai. Az IL-1 receptorainak heterogén eloszlása figyelhető meg az idegrendszerben, számos agyterület között az ACC-ben is azonosították őket [126]. Az IL-1 β az IL-1 családba tartozó 10 receptor közül kettőhöz, az I-es (IL-1RI) és a II-es (IL-1RII) típusúhoz kötődik [123]. Az I-es típusú receptorok többek között a T sejteken, fibroblasztokon, endothel sejteken, hepatocitákon található. Ezzel szemben a II-es típusú receptorokat B sejteken, neutrofil granulocitákon és csontvelő sejteken azonosították [127]. Az idegrendszerben az IL-1 receptorait legnagyobb sűrűségben a neuronban gazdag területeken azonosították, eloszlásuk mintázata a neuronok sejttestjén való jelenlétükre enged következtetni

[126]. Az IL-1 β minden ismert biológiai hatását az IL-1RI-en keresztül fejt ki. Az IL-1RII feltételezhetően anti-inflammatorikus hatást közvetít, emiatt ún. „csalétek” receptornak is nevezik, amely az IL-1 hatását semlegesíti [128, 129].

Az IL-1 β hatásai. Biológiai hatásai rendkívül szerteágazóak [130-132], mind az immun-, mind az idegrendszerben fontos funkciót tölt be. A veleszületett immunitás kulcsfontosságú közvetítőjeként az IL-1 β erőteljes pirogén [133], növeli a neutrofil granulociták számát, valamint a keringő leukociták gyulladt szövetekbe történő infiltrációját [134, 135]. A limfociták aktivációjával az adaptív immunválaszban is fontos szerepet játszik [136]. A periférián az IL-1 β szükséges a bakteriális fertőzések hatékony eliminálásához [137]. Azonban számos akut és krónikus perifériás betegség patogenezisében is involvált. Az IL-1 β -rendszer fokozott akut aktivációja hozzájárul például a szepszis okozta többszervi elégtelenséghez [138]. Az IL-1 β krónikus túlprodukciója kulcstényező a periodikus láz szindrómában [139], valamint hozzájárulhat rosszindulatú daganatok növekedéséhez, vaszkularizációjához és metasztázisához [140-142]. A krónikusan megemelkedett IL-1 β szint szerepet játszik továbbá a rheumatoid arthritis [143] és a krónikus obstruktív tüdőbetegség patogenezisében is [144].

Az egészséges agyban alacsony az endogén IL-1 β expresszió [145]. Fiziológias működésekben való jelentőségét ezért sokáig csekélynek gondolták, ám újabb kutatások szerint szerepe van olyan fiziológias funkciókban, mint az alvás (alvás során magasabb az IL-1 koncentrációja az agyban) [146] és a szinaptikus plaszticitás (hosszú távú potenciáció indukcióját követően az IL-1 fokozott expressziója figyelhető meg a hippocampusban) [145, 147]. IL-1RI knock-out egerek a kevesebb alvás és a szinaptikus plaszticitásban bekövetkezett deficitek mellett térbeli memóriafeladat megoldásában is elmaradtak kontroll társaiktól [148, 149]. A citokin centrális hatásainak többsége a neuroinflammációval van összefüggésben, mely felülszabályozza a központi idegrendszer rezidens makrofágjait, a mikroglia IL-1 β termelését [150-153]. A fokozott IL-1 β expresszió számos akut (stroke, agyi trauma) és krónikus (pl. Alzheimer kór) neurodegeneratív betegség esetén megfigyelhető, s az ezen megbetegedések iránti fogékonyságot is növeli [154]. Bizonyított az IL-1 β jelentősége ischaemia okozta agykárosodás során is [155-157]. A központi idegrendszeri gyulladás vagy sérülés során termelődő IL-1 nem csak a lokális környezetet befolyásolja, hanem olyan lokális hatásai is vannak, melyek szisztémás funkciókat érintenek, mint például az étvágy, a lassú hullámú alvás, testhőmérséklet, neuroendokrinológiai funkciók, perifériás immunfunkciók. Ezek közül számos a szervezet védekező mechanizmusainak is részét képezi („sickness behavior”, akut

fázis reakció) [111, 112, 154]. Ezen válaszokat az IL-1 neurális (pl. a szimpatikus idegrendszer aktivációja), valamint hormonális úton mediálja, elsősorban CRH felszabadulás stimulációja által, mely a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely aktivációjához vezet [113]. Jelen dolgozat szempontjából kiemelendő területeken betöltött szerepét (táplálkozás és anyagcsere szabályozásában való jelentősége, lázkeltség hatás) a következő bekezdések részletezik.

Az IL-1 β szerepe a táplálkozás és anyagcsere szabályozásában. Az IL-1 β anorexigén hatása jól ismert az irodalomban. A citokin csökkenti a táplálékfelvételt perifériásan [2], valamint centrálisan icv. [3] és intracerebrálisan, a hipotalamuszba adva is [1]. Az IL-1 β anorexigén hatását kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai a globus pallidusba, az orbitofrontális kéregbe, valamint a nucleus accumbensbe történő bilaterális mikroinjekcióját követően is kimutatták [4, 6, 8].

A táplálkozási magatartásra gyakorolt ezen közvetlen hatásokon kívül egyre több tanulmány eredményei igazolják, hogy a citokinhez köthető gyulladással járó állapotok és az ízérzékelésbeli zavarok között összefüggés áll fenn. Az ízdetekció és -felismerés küszöbének eltolódását mutatták ki az umami ízre vonatkozóan akut gyulladással járó megbetegedéssel küzdő alanyokban [18]. Lipopoliszacharid (LPS) ip. injekcióját követő gyulladással járó citokinfelszabadulás szignifikánsan csökkentette az új ízlelőbimbó receptorsejtek számát, gátolva ezzel az ízsejtek megújulását [14]. Az LPS növelte az averzív és csökkentette az ingerstímválaszreakciókat kevert ízoldat esetén [13], továbbá az LPS és az IL-1 β preferencia tesztben csökkentette a szukrózfelvételt patkányokban [15]. Ízérzékelésbeli zavarokat figyeltek meg nem alkoholos zsírmájbetegségben szenvedő páciensekben [16], s tudva lévő, hogy a betegség kórfolyamataiban az interleukin-1 típusú citokinek szorosan involváltak [158]. A hepatitis C vírusnak kitett humán makrofágok IL-1 β szekréciója valószínűsíthetően fontos szerepet játszik a májgyulladás kialakulásában [159]. A krónikus hepatitis C vírusfertőzött betegekben szintén megfigyeltek ízpercepciósváltozásokat [17]. A májbetegségekhez köthető ízérzékelésbeli változások mögött feltételezhetően központi idegrendszeri mechanizmusok állnak [160]. Mivel az IL-1 β portális vénába történő infúziója fokozta a vagus aktivitását [161], májbetegségekben a fokozott citokinfelszabadulás által az agytörzs felé (mely az ízinformációfeldolgozás első átkapcsoló helye) irányuló idegi stimuláció magyarázhatja a kapcsolódó ízlelőrendszeri diszfunkciókat [160].

Jelen kísérleteink során az IL-1 β táplálkozási magatartásra gyakorolt mind közvetlen (táplálék- és vízfelvétel), mind közvetett, az ízérzékelést/értékelést befolyásoló hatását (ízreaktivitás) vizsgáltuk.

Régóta kutatott az IL-1 β szerepe a glukóanyagcserében is, azonban az ide vonatkozó tanulmányok leletei ellentmondásosak. Kimutatták, hogy részben a vér inzulinszintjének növelésével, részben ettől független mechanizmussal hypoglikémiát okoz [10, 162]. Rendelkezésre állnak eredmények, melyek a glukózhomoeosztázis normalizálását támasztják alá diabéteszes elhízott Zucker patkányokon [11], újabb kutatások ugyanakkor az 1-es és a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásához való hozzájárulását hangsúlyozzák [163-167]. A kérdést részletesebben az „Eredmények megbeszélése” c. fejezetben tárgyaljuk. Hatással van ezen kívül a zsíryanycserére, folyamatos infúziója csökkenti a plazma koleszterin- és trigliceridszintjét [11, 12].

Az IL-1 β lázkeltő hatása. Az IL-1 β anorexigén hatásához hasonlóan, testhőmérséklet-emelkedést okozó hatása is széles körben ismert az irodalomban. Ezt a megfigyelést centrális és perifériás adását követően is közölték [1, 5, 7], továbbá kutatócsoportunk korábbi vizsgálatai során az IL-1 β globus pallidusba, NAcc-be, valamint az OFC-be történő bilaterális mikroinjekcióját követően is leírták a szignifikáns testhőmérséklet-emelkedést [4, 6, 8].

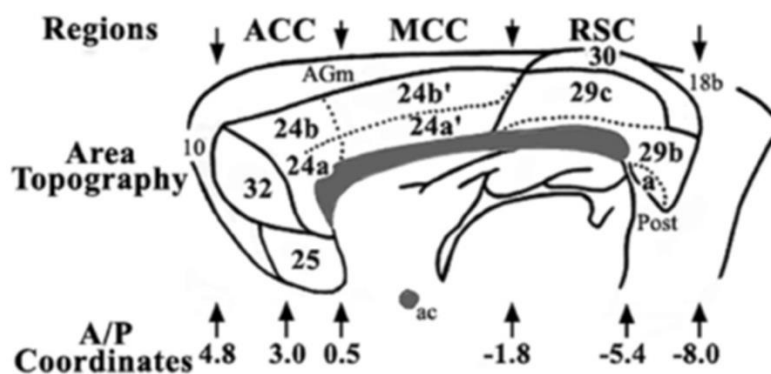
Az IL-1 β homeosztatis hatásainak hátterében *prostaglandin-mediálta mechanizmusok* feltételezhetők [168, 169]. A nem-szteroid gyulladásgátlók (NSAID-ok) gátolják a prosztoglandinok szintézisében fontos szerepet játszó COX enzimet [170], így a citokin testhőmérsékletre, valamint táplálék- és vízfelvétele gyakorolt hatásainak vizsgálatára irányuló kísérleteinkben az NSAID-okhoz nagyban hasonló hatásmechanizmusú, COX-gátló paracetamollal végeztünk előkezelést a prosztoglandin-mediálta folyamatok szerepének tisztázására.

Magatartásra gyakorolt hatásai. Ismert, hogy az IL-1 β , mint proinflammatorikus citokin az étvágytalanságon és testhőmérséklet-emelkedésen túl olyan, a gyulladással kapcsolatos állapotokhoz kapcsolódó tünetek megjelenéséért is felelős, mint a rossz közérzet, letargia, vagy az aluszékonyság. Ezen tüneteket összefoglaló néven *sickness behavior* néven említi a szakirodalom. Ezenkívül ismert, hogy ez a primer citokin szorongásos viselkedést és depressziót is kiválthat [5, 171-175], mely állapotok csökkent lokomotoros aktivitást eredményezhetnek. Mivel kísérleteink során az ízleléssel kapcsolatos magatartást (ízreaktivitás) is vizsgáljuk, fontos tisztáznunk, hogy az itt megfigyelt eltérések nem csupán közvetett hatásai-e a fent említett tünetegyüttesnek. Ennek érdekében magatartási tesztekkel végeztünk az IL-1 β általános lokomotoros aktivitásra kifejtett hatásának (open field teszt) és esetleges negatív (vagy pozitív) megerősítő hatásának (helypreferencia teszt) vizsgálatára.

3. A cinguláris kéreg

3.1. Anatómiája és összeköttetései

A cinguláris kéreg szerkezetileg és funkcionálisan egyaránt heterogén agykérgi régió, mely a corpus callosum körül ível az agy mediális felszínén [176]. Brodmann eredetileg egy rostralisabban elhelyezkedő elülső (anterior) cinguláris kéregre (ACC; 24, 25, 32 és 33-as area) és egy caudalisabban elhelyezkedő poszterior cinguláris kéregre (PCC; 23, 29, 30 és 31-es area) tagolta [177]. Ennek a felosztásnak az alapja egyrészt morfológiai: az anterior cinguláris kéregben vékony agranuláris, míg a poszterior régióban markáns granuláris réteget láthatunk [178], másrészt funkcionális: az ACC-t „végrehajtó”, míg a PCC-t „értékelő” területként írták le [179]. Az anterior régió azonban nem egységes, struktúrája, összeköttetései és funkcionális vizsgálatok alapján legalább két részre osztható: perigenuális ACC-re és egy kaudális midcinguláris kéregre (MCC) [180]. A cinguláris kéreg ennek megfelelő felosztását patkányban a 3. ábra ([181, 182] alapján) szemlélteti.

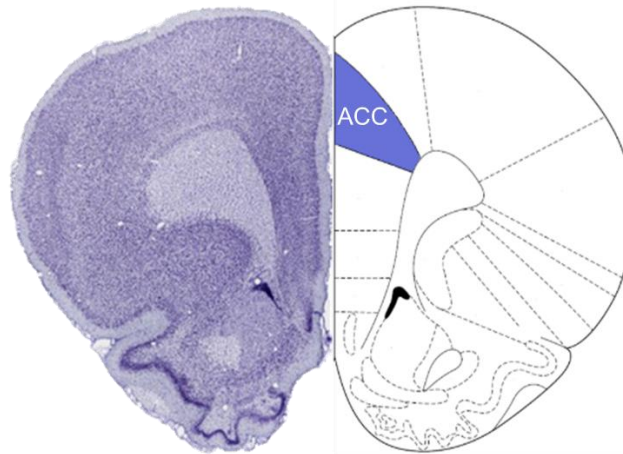


3. ábra Patkány cinguláris kérgének és szomszédos területeinek áttekintése. Az ACC, MCC, RSC feliratok és nyilak jelölik a három régió (anterior cinguláris kéreg, midcinguláris kéreg és retrospleniális kéreg) hozzávetőleges anteroposzterior határait. Az ACC a 25-ös, 32-es és 24a-b areákat tartalmazza, a MCC a 24-es area 24'-vel jelölt poszterior része, mely a 24a' és 24b' areákat foglalja magában, a RSC pedig a 29-es és 30-as areákat. A retrospleniális kéreg megfeleltethető a poszterior cinguláris kéregnek, de patkányban nem figyelhető meg a primátáknál jelen lévő kiterjedt 23-as és 31-es poszterior cinguláris terület, ez indokolja az elnevezésbeli megkülönböztetést. Az A/P koordináták (A/P Coordinates) a Paxinos és Watson-féle agyatlasz Bregmához viszonyított koordinátáinak felelnek meg.

Vogt, B.A.V.L., *Cingulate Cortex and Disease Models*;2004 és
Paxinos, G., C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 1997 alapján

Az „eredeti” ACC két régiójának összeköttetései meglehetősen eltérnek egymástól. A MCC-nek kiterjedt kapcsolatai vannak a kéreg kognitív (pl. laterális prefrontális kéreg) és motoros

(pl. premotoros és elsődleges motoros kéreg) funkciókhoz kapcsolódó területeivel, valamint fájdalomhoz köthető és motoros thalamikus magokkal. Magába foglalja a cinguláris motoros területet is, amely a gerincvelőhöz projiciál. Ezzel szemben az általunk is vizsgált anterior résznek olyan területekkel vannak kiterjedt kapcsolatai, amelyek az emocionális (pl. AMY), autonóm (pl. laterális hipotalamusz, agytörzsi központok), memória- (pl. hippocampális régió) és jutalmazáshoz kapcsolódó (pl. OFC, ventrális striátum) folyamatokban töltenek be fontos szerepet [183], továbbá ismert a szoros kölcsönkapcsolata az insularis kéreggel, melynek többek között a tudatosságban, a fájdalomélmény kialakulásában, valamint az emocionális feldolgozásban van szerepe [184]. A két régió határát humán képalkotó eljárásokkal széles körben végzett kísérletek eredményeként [185] definiálták. Anatómiailag mindkét terület tovább osztható két részre: anterior és poszterior MCC-re (aMCC és pMCC), valamint szubgenuális és pregenuális ACC-re (sACC és pACC). Jelen vizsgálataink célterülete az ACC pregenuális területe (Bregma + 2,7 mm, Paxinos és Watson agyatlasza alapján [182], 4. ábra), melynek a szubgenuális résszel összehasonlítva jóval szerteágazóbb kapcsolatai vannak a laterális prefrontális kéreggel és jelentősen kevesebb az amigdalával és a ventrális striátummal [186, 187]. A pACC-hez a fájdalomhoz köthető thalamikus magoktól is érkezik projekció [188].



4. ábra Az ACC elhelyezkedése az általunk célzott A/P koordinátánál (B+2,7 mm, Paxinos és Watson agyatlasza)

Paxinos, G., C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 1997 alapján

3.2. Funkciói, szerepe a táplálkozás szabályozásában

Az ACC a limbikus rendszer része, alapvető jelentőségű emocionális és kognitív folyamatokban. Központi elhelyezkedésének köszönhetően fontos integráló szerepe is van. Részt vesz a viselkedés szervezésében: monitorozza az ingerek érzelmi vonatkozásait és ezek alapján módosítja a válaszreakciót, amikor fokozott kognitív irányításra van szükség [189]. Képzelt eljárások segítségével az ACC megnövekedett aktivációját többek között az alábbi állapotokkal ill. folyamatokkal kapcsolták össze: figyelem [190], célirányos viselkedés [191], a fájdalom érzelmi vonatkozásai [192], autonóm idegrendszeri szabályozás [193], az inger hedonikus jellegének, kellemes illetve averzív voltának értékelése [24]. A jelen vizsgálatok szempontjából külön kiemelendő az ACC érintettsége a homeosztázis fenntartásához köthető állapotokban, például éhség, szomjúság, hipoglikémia vagy hőhullámok esetében [19-21, 194].

Ma már bizonyított tény, hogy az ACC nélkülözhetetlen a motivációs szabályozással kapcsolatos idegi mechanizmusokban. Az utóbbi évtizedben számos fMRI tanulmány igazolta ezen agyterület szerepét az ételekkel kapcsolatos motivációs folyamatokban. Leírták például, hogy egészséges személyekkel összehasonlítva, elhízott egyéneknél az ACC nagyobb aktivitást mutatott ételekről készült képek láttára, mint nem ételt ábrázoló képek esetén [22]. Szintén kimutatták, hogy az ACC aktivációja nagyobb mértékű volt édes magas kalória tartalmú, mint sós magas kalória tartalmú ételekre való válaszként [23]. Általánosságban is igaz, hogy az elülső cinguláris kéreg az orbitofrontális kéreggel együtt részt vesz a szenzoros ingerek kellemes illetve averzív voltának „dekódolásában” [24, 195].

A pACC-nek az orbitofrontális kéreggel is van összeköttetése [109], azzal az agyi régióval, ahol primátáknál a másodlagos ízkéreg található [99]. Újabb kísérleti leletek tanúsága szerint a cinguláris kéregben egy harmadlagos ízkéreg is működik [110], mivel itt ugyancsak kimutatták ízválaszkésztséggel rendelkező idegsejtek jelenlétét [25].

Az ACC a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozásában alapvető jelentőségű GM sejthálózat fontos tagjának bizonyult, glukózérzékeny neuronjainak STZ-vel történő szelektív pusztítása táplálkozási és metabolikus zavarok kialakulásához vezet [81].

A cinguláris kéreg tehát az általánosságban neki tulajdonított „klasszikus” funkción, az emocionális és motivációs folyamatok szabályozásán túlmenően, több irányból bizonyítottan, a táplálkozás és anyagcsere regulációjában is involvált.

III. Kérdésfelvetés

Kísérletsorozatunk célja az volt, hogy megismerjük az IL-1 β cinguláris kéregbe történő mikroinjekciójának homeosztatis, anyagcsere és magatartási folyamatokra gyakorolt hatásait, s ennek révén jobban megértsük e primer citokin sokrétű élettani szerepét.

A citokin homeosztatis jelentőségének vizsgálata során mértük az állatok rövid-, közép- és hosszútávú táplálék- és vízfelvételét, valamint testhőmérsékletét. Ezen kísérletekben tanulmányoztuk a prosztaglandin-mediálta folyamatok szerepét az IL-1 β szabályozó működésében. Ennek érdekében a patkányok egy részénél a prosztaglandinok szintézisében kulcsszerepet játszó ciklooxygenáz enzimet gátló paracetamollal végeztünk előkezelést.

A metabolikus mérésekben a citokin cinguláris kérgi mikroinjekcióját követően a szénhidrát-, a fehérje- és a zsíryanycserében bekövetkező változások feltárására törekedtünk. Vizsgáltuk a vércukorszint változásait glukóztolerancia-tesztben, ill. a plazma összkoleszterin, triglicerid, HDL (nagyűrsűgű lipoprotein), LDH (laktát-dehidrogenáz) és hűgsav szintekben bekövetkező eltéréseket.

A dolgozat harmadik nagyobb egységét az ízérzékeléssel összefűgű és a kapcsolódó tanulási folyamatokat tesztelő magatartási kísérletek képezik. A cinguláris kéregbe juttatott IL-1 β ízpercepciót megváltoztató hatását ízreaktivitás és kondicionált ízaverziós tesztekkel elemeztük.

Végezetűl, az ACC-be adott IL-1 β mikroinjekció lokomotoros aktivitásra és fajspecifikus mozgásmintázatokra kifejtett hatását open field tesztben, esetleges pozitív ill. negatív megerősítő hatását pedig kondicionált helypreferencia tesztben tanulmányoztuk.

Kísérletsorozatunkban tehát az alább összefoglalt kérdésekre kerestük a választ:

- I. A homeosztatis folyamatok vizsgálatára irányuló kísérleteinkben tisztáztuk, hogy a cinguláris kéregbe juttatott IL-1 β hatással van-e a patkányok
 1. táplálékfelvételére,
 2. vízfelvételére,
 3. testhőmérsékletére, valamint
 4. a COX gátló paracetamol befolyásolja-e az IL-1 β ezen hatásait.

- II. Metabolikus kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy az ACC-be adott IL-1 β milyen hatással van az állatok
1. vércukorszintjére és
 2. a releváns, széles körben legtöbbször mért metabolitok (összkoleszterin, triglicerid, HDL, LDH, húgysav) plazmaszintjére.
- III. Táplálkozási magatartás tekintetében az ízlelésbeli változásokat elemző kísérleteink sorában
1. ízreaktivitás tesztben megfigyeltük, hogy az ACC-be juttatott IL-1 β befolyásolja-e a patkányok ízpercepcióját,
 2. kiváltható-e vele kondicionált ízaverzió, ill.
 3. a lítium-kloriddal indukált ízaverzió kialakulására van-e befolyása.
- IV. Általános magatartási kísérleteink annak megvilágítására irányultak, hogy az elülső cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció
1. hatással van-e az állatok lokomotoros aktivitására (megtett út, keresztezések száma, a kísérleti apparátus egyes részeiben eltöltött idő), ill. a patkányok fajra jellemző mozgásmintáztatának (ágaskodás, mosakodás, szaglászás) megjelenésére, módjára és intenzitására (open field teszt), valamint
 2. rendelkezik-e pozitív vagy negatív megerősítő hatással (kondicionált helypreferencia teszt).

IV. Módszerek

1. Alanyok

Kísérleteinkben összesen 280 db felnőtt, hím Wistar patkányt használtunk. Az állatokat standard laboratóriumi körülmények között tartottuk, állandó hőmérsékletet (23 ± 2 °C) és páratartalmat (55-60%), valamint 12-12 órás sötét-világos periódust biztosító állatszobában. Rendszeres „handling”-ben részesítettük őket, hogy az emberi jelenléthez és érintéshez hozzászokjanak. Standard laboratóriumi tápot (Charles River Kft, Budapest), ill. csapvizet *ad libitum* tettünk elérhetővé számukra (kivéve ahol a kísérlet leírása másképp jelzi). A kísérleti állatok tartása és a velük való foglalkozás során az intézeti (kísérleti engedély száma: BA 02/2000-8/2012; BA 02/2000-72/2017) hazai (1998. évi XXVIII. tv. az állatok védelméről és kíméletéről; 40/2013. (II.14) Kormányrendelet az állatkísérletekről) és nemzetközi előírások, európai uniós irányelvek érvényesültek (A Tanács 86/609/EGK irányelve, 1986, 2006; Az Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU irányelve).

2. Műtétek

Metabolikus és magatartási kísérleteink során az IL-1 β ill. a vehikulum mikroinjekciójához krónikusan beültetett ún. *vezető kanülre* volt szükség, melyet rozsdamentes acél injekciós tűből (23 G) készítettünk és sztereotaxikus műtét során rögzítettünk bilaterálisan a koponyához a cinguláris kéreg felett. Az ún. *beadó kanüloket*, amelyek segítségével a későbbiekben a mikroinjekció történt, ezeken keresztül juttattuk az agyba.

Az operációra az állatok 10-14 napos adaptációját követően került sor, ez idő alatt testtömegük változását folyamatosan monitoroztuk. Az operációt ketamin (Calypsol, 80 mg/ttkg) és diazepam (Seduxen, 20 mg/ttkg) 4:1 arányú keverékének intraperitoneális injekciójával előidézett anesztéziában végeztük. Az állatok fejét sztereotaxiás keretben rögzítettük, ezután a skalpon hosszanti metszést ejtettünk, majd megtisztítottuk a koponyafelszínt, a bőrt, izmot és a kötőszövetet eltávolítottuk. Lokális vérzéscsillapítás és fertőtlenítés céljából hidrogén-peroxidot alkalmaztunk. Ezt követően fogászati fúró segítségével, patkány agyatlasz [182] alapján meghatározott helyen, kb. 4 mm átmérőjű lyukat fúrtunk a koponyán. A kanülpárt ezen keresztül, mikromanipulátor (MN-33 Narishige, Japán) segítségével vezettük le a dura felszínéig a cinguláris kéreg fölé (B + 2,7 mm anteroposterior

/AP/; 0,9 mm mediolaterálisan /ML/, Paxinos és Watson agyatlasza alapján [182]). A kanüloket ezután fogászati akrilát segítségével rögzítettük, majd antiszeptikus hintőpor (Tetran, Richter Gedeon Rt., Magyarország) alkalmazása után kapcsokkal zártuk a sebet. A műtétet egyhetes felépülési időszak követte, melynek során folyamatosan ellenőriztük az állatok egészségi állapotát, az első három napban, ill. szükség esetén tovább, fájdalomcsillapítást alkalmaztunk (Meloxidyl 5 mg/ml; 1 mg/kg sc.).

Azoknál az állatoknál, amelyek ízreaktivitás tesztben vettek részt, a vezető kanülok beültetésén kívül ún. *ízkanül* implantálására is szükség volt. Az állatok műtéti megterhelésének redukálása céljából ezt az operációt az előbbivel egy ülésben végeztük el, egyszeri altatással. A polietilén csőből (HIBIKI, Japán) készített ízkanült buccális behatolásból szubkután vezetünk ki a fejtetőre, ahol sebészeti öltésekkel rögzítettük. A kanül egyik végét előzetesen láng felett megolvastva, majd vizes üveglaphoz nyomva kissé kiszélesítettük, ez végződött a szájüregben a felső molárisok mellett, a fejtetőre kivezetett véget pedig a behatolási oldalnak megfelelő fültől kb. 1 cm távolságra rögzítettük. A kanül átjárhatóságát a teszt napjáig rendszeresen ellenőriztük, átmosása egyben az állatoknak a kísérleti körülményekhez való szoktatásához is hozzájárult.

3. Anyagbeadás

Az anyagbeadást éber, kézben tartott állatokon végeztük a műtéteket követő egy hetes felépülési időszak után, mikor a patkányok visszanyerték a műtétet megelőző testtömegüket, ill. testtömeggyarapodásuk, valamint táplálék- és vízfelvételük fiziológiás mértékét. Az állatokat az adott kísérlettől függően két, ill. négy (a táplálék-, vízfelvétel és testhőmérséklet mérése esetén az anyagbeadásokat paracetamol előkezeléssel egészítettük ki) testtömegeik átlagában egyező csoportra osztottuk a kapott anyagoknak megfelelően:

- IL-1 β (Sigma-Aldrich, I2393; 5 ng/ μ l; 0,1% BSA-t /marha szérum albumin/ tartalmazó 0,1%-os sószófoszfát pufferben /PBS/ oldva);
- steril PBS
- paracetamol (PTE ÁOK Gyógyszertár, 15 μ g/ μ l, steril PBS-ben oldva) + IL-1 β
- paracetamol + steril PBS

Az anyagok cinguláris kéregbe juttatása bilaterális mikroinjekció formájában, mikroinfúziós pumpa (Cole Parmer 789200C) segítségével történt. Az oldatokat tartalmazó 25 µl-es Hamilton-fecskendőket polietilén csővel csatlakoztattuk a rozsdamentes *beadó kanülökhöz* (30 G), melyeket az előzetesen a dura felszínére (AP: B + 2,7 mm; ML: 0,9 mm) beültetett *vezető kanülön* keresztül juttattunk le a kívánt célterületre. A beadó kanülok a durán keresztülhalolva ventralisan 1,6 mm-rel értek túl a vezető kanülön, így Paxinos és Watson agyatlasza [182] alapján a cinguláris kéregben végződtek. A mikroinjekció során 1 perc alatt oldalanként 0,75 µl oldatot juttattunk az agyba, így az IL-1β esetében oldalanként 3,75 ng volt a beadott anyagmennyiség. A mikroinfúziós pumpa leállítását követően, a kanülok eltávolítása előtt, további 1 percet vártunk az oldat visszaáramlásának elkerülése, ill. az oldatok egyenletes és teljes diffúziója érdekében. A paracetamol előkezelésre az IL-1β ill. PBS beadása előtt 25 perccel, szintén bilaterális mikroinjekció formájában került sor.

4. Kísérletes vizsgálatok

4.1. Táplálék- és vízfelvétel mérése

Az állatokat négy csoportra osztottuk ebben a kísérletsorozatban: a citokin-kezelt és a kontroll állatokat két további csoportra választottuk szét, így az állatok fele paracetamol előkezelésben részesült az IL-1β ill. a PBS beadása előtt 25 perccel. A kezeléseket megelőzően egy héten át monitoroztuk az állatok táp- és vízfogyasztását.

A táplálék- és vízfelvételi mérésekre 24 órás táplálékmevontást követően került sor. Az állatok a laboratóriumi tápot a mikroinjekciókat követően, a sötét periódus kezdetekor, 18 órakor (a patkányok számára az aktív periódus kezdete) kapták vissza. Ezt követően rövid- (2 órás, 20 órakor), közép- (12 órás, másnap 6 órakor) és hosszútávú (24 órás, másnap 18 órakor) táp- és vízfelvételi méréseket végeztünk 0,5 grammnyi pontosságú mérleggel.

Az anyagbeadási napot megelőző időszakban kontroll napokat iktattunk be, melyek során a kísérleti körülményekkel azonos módon táp- és vízfelvételi mérések történtek.

4.2. Testhőmérséklet mérése

A testhőmérséklet mérését rektálisan végeztük digitális hőmérővel, tized °C-os pontossággal. Minden állat esetén három, közvetlenül egymást követő mérést végeztünk, s ezek

átlagával számoltunk. A mérés közvetlenül a mikroinjekciók előtt, ill. 2 órával később (20 órákor) történt a rövid távú táp- és vízfelvételi mérésekkel egyidőben, az előzőekben leírtakkal azonos négy csoportban.

Az előzőleg említett ún. kontroll napokon a testhőmérséklet mérését is elvégeztük a kísérleti nappal azonos módon. Ez amellet, hogy kontroll eljárásként szolgált, az állatok kísérleti körülményekhez való hozzászokását is erősítette.

4.3. Glukóztolerancia-teszt

Az állatok vércukorszintjét glukóztolerancia-tesztben (GTT) vizsgáltuk 12 órás táplálékmegvonást követően. A kísérlet kezdetén egy kontroll GTT-t végeztünk, hogy az esetlegesen metabolikus rendellenességgel rendelkező állatokat kizárhassuk a vizsgálatokból. Ebben a kísérletben két állatcsoporttal dolgoztunk (citokin-kezelt, ill. PBS-t kapott kontroll).

A cukorterhelést 20%-os D-glukóz oldat intraperitoneális injekciójával végeztük (0,2 g/100 ttg /ml) 20 perccel az IL-1 β vagy a PBS agyi mikroinjekcióját követően. Az állatok vércukorszintjét közvetlenül a mikroinjekciók előtt, illetve a cukorterhelést követő 9., 18., 30., 60. és 120. percben mértük. A mintákat a patkányok farokvénájából nyertük és a glukóz szintet bioszenzoros (elektrokémiai) mérési technológiával működő vércukorszintmérő készülékkel határoztuk meg (Dcont Ideál, 77 Elektronika Kft., Magyarország).

4.4. Metabolitok mérése

A releváns, anyagcsere állapotát jelző metabolitok (összcholeszterin, HDL, LDH, trigliceridek, húgysav) plazmaszintjét 12 órás táplálékmegvonást követően mértük a GTT-nél leírt két állatcsoportban. A vérmintákat a patkányok dekapitálásával nyertük 20 perccel az IL-1 β ill. PBS mikroinjekciókat követően, és a meghatározásokat hidegkémiai fotométerrel (Spotchem EZ SP4430, Arkray, Japán) végeztük.

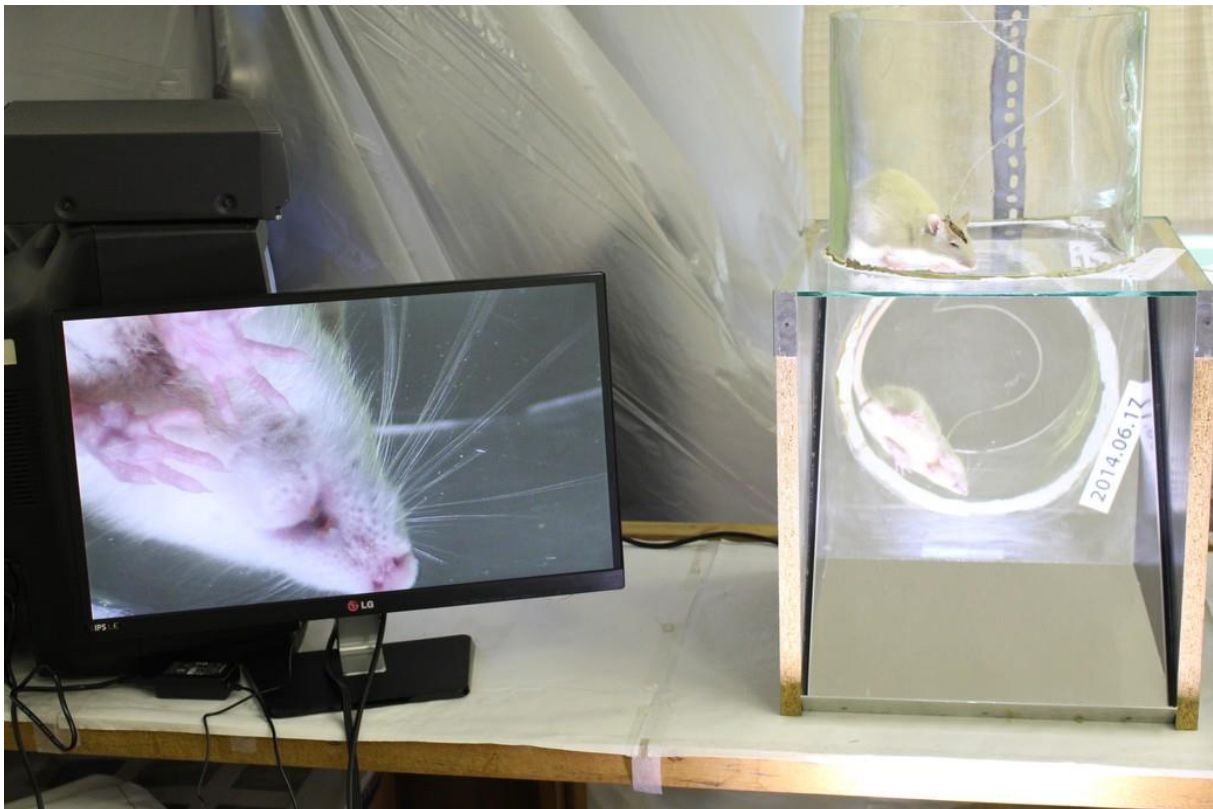
4.5. Ízreaktivitás teszt

A patkányok kellemes és kellemetlen ízekre adott fajspecifikus mimikai, poszturális és lokomotoros válaszreakcióit Grill és Norgren [89] módosított protokollja szerint értékeltük.

Három nappal a műtétet követően az állatokat elkezdjük hozzászoktatni a kísérleti körülményekhez. Egy 30 cm magas és 30 cm átmérőjű plexiüveg cylinderbe helyeztük őket egy

percre és a szájüregbe ültetett, fejtetőre kivezetett ízkanüloket desztillált vizes átöblítést követően levegővel átfújtuk.

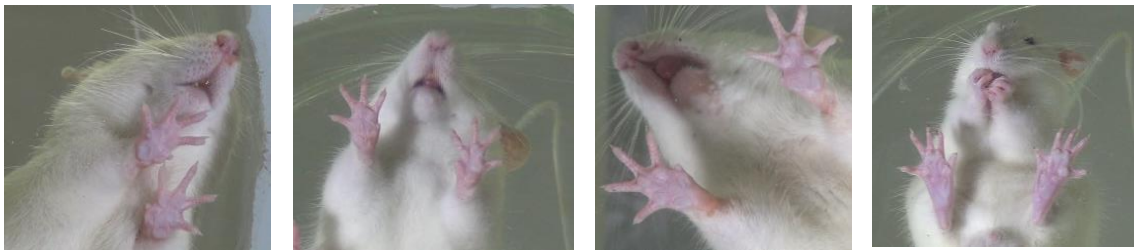
Az ízreaktivitás tesztre 20 perccel az intracerebrális mikroinjekciókat követően került sor. A patkányokat a cilinderbe helyeztük, s az ízkanüloket polietilén csővel az ízoldatot tartalmazó fecskendőkhöz csatlakoztattuk. Mikroinfúziós pumpa segítségével 0,5 ml ízoldatot juttattunk a patkányok szájüregébe 0,5 ml/min áramlási sebességgel. Az öt alapíznek megfelelő ízoldatok hatását két különböző koncentrációban teszteltük: édes (szukróz, 0,05 és 0,5 M), sós (NaCl, 0,05 és 0,5 M), savanyú (HCl, 0,03 és 0,3 M), keserű (kinin-HCl /QHCl/, 0,03 és 3 mM), umami (Na-l-glutamát /MSG/, 0,05 és 0,5 M). Két oldat között desztillált vízzel átmostuk a kanüloket, majd levegőátfúvással eltávolítottuk a vizet a rendszerből. Az ízekre adott reakciókat videokamerával rögzítettük későbbi elemzés céljából. Ehhez egy 45°-os szögben megdőntött tükröt helyeztünk az üvegcilinder alá, amelyben az állatok tartózkodtak a kísérlet során. Ily módon lehetővé vált a száj-, nyelv- és mancsmozgások alulról történő megfigyelése. A kísérleti elrendezés az 5. ábrán látható.



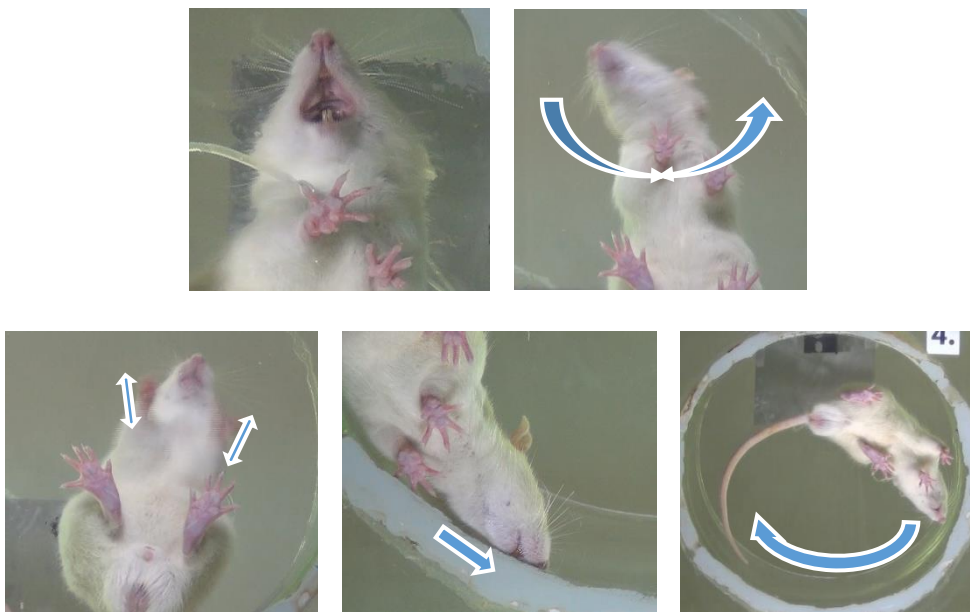
5. ábra Az ízreaktivitás teszt kísérleti elrendezése

A ritmikus szájmozgást, ritmikus nyelvöltögetést, oldalsó nyelvöltést, valamint a mancsnyalást ingerstív válaszként (6. ábra), míg a szájtátást (gaping), álldörzsölést,

mancsrázást, fejrázást és a menekülésszerű kiváltott lokomóciót averzív reakcióként (7. ábra) értékeltük. Az elemzés során minden íz esetében egy 0-3-ig terjedő skálán értékeltük mind az állatok ingerztív, mind pedig averzív reakcióit. Minél többször ismétlődött, illetve minél tovább tartott egy reakciósor, annál magasabb pontszámot adtunk. Az elemzést három gyakorlott bíráló végezte, akik nem ismerték a patkányok csoportbeosztását. A három bíráló által adott értékeket átlagoltuk, majd ebből minden állat esetén minden ízre egy ingerztív és egy averzív ún. *ízreaktivitási indexet* számoltunk.



6. ábra. Ingerztív válaszok az ízreaktivitás teszt során (balról jobbra: ritmikus szájmozgások, ritmikus nyelvöltögetés, oldalsó nyelvöltögetés, mancsnyalás)



7. ábra. Averzív válaszok az ízreaktivitás teszt során (balról jobbra: gaping, fejrázás, mancsrázás, álldörzsölés, lokomóció)

4.6. Kondicionált ízaverzió

A kondicionált ízaverzió (CTA) egy bizonyos ízű táplálék vagy folyadék hosszú távú elkerülését jelenti, miután az gasztrointesztinális diszkomfortot vált ki, vagy az adott ízt (feltételes inger) gyomor-bélrendszeri megbetegedést okozó kezeléssel (feltétlen inger) társítjuk. Jelen kutatásainkban két kísérleti elrendezésben vizsgáltuk a jelenséget, két különböző állatcsoporton. Egyrészt arra voltunk kíváncsiak, hogy az IL-1 β -val kiváltható-e az ízaverzió (1. paradigma), másrészt az IL-1 β ízaverzió kialakulására gyakorolt esetleges módosító hatását tanulmányoztuk (2. paradigma).

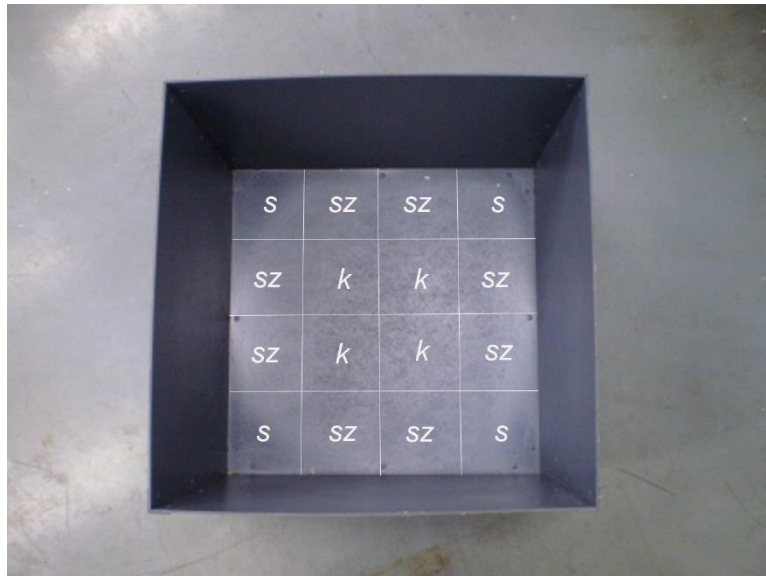
A patkányokat megtanítottuk arra, hogy a napi folyadékszükségletüket minden nap egy adott fél óra (10:00-10:30) alatt fogyasszák el. A vezető kanülök beültetésére azt követően került sor, hogy az állatok hozzászoktak ehhez az itatási rendszerhez. Az operációkat követő három napos lábadozási időszak alatt ad libitum fogyaszthattak vizet, ezt követően visszaszoktattuk őket a fél órás ivásra. A kondicionálás napján a vizet egy számukra új ízoldatra, 0,1%-os szacharin oldatra cseréltük.

Az első paradigmában az IL-1 β , ill. a kontroll állatoknál a PBS mikroinjekciójára 30 perccel a fél órás itatást követően került sor. A másik kísérleti elrendezésben az IL-1 β vagy a PBS beadás közvetlenül az ivás után történt, majd 15 perccel később lítium-klorid (LiCl; 0,15 M, 20 ml/ttkg) i.p. injekciójával gasztrointesztinális diszkomfortot váltottunk ki. Ezt követően mindkét paradigmában három napig ismét vizet kaptak az állatok a szokásos fél órában, majd a negyedik (teszt) napon a vizet a kondicionálás napján alkalmazott szacharin oldatra cseréltük. A kondicionálási és a teszt napon mért szacharinfogyasztást hasonlítottuk össze statisztikailag a kontroll és a citokin-kezelt állatok között.

4.7. Open field teszt

Az állatok fajra jellemző mozgásmintázatait, valamint lokomotoros aktivitását open field tesztben vizsgáltuk (OPF). Az első napon habituáltuk az állatokat, majd a második napon az alapaktivitás tanulmányozása történt anyagbeadás nélkül. A tesztenapon az IL-1 β ill. a PBS agyi mikroinjekciója után 20 perccel vette kezdetét a kísérlet. A kísérleti apparátus egy 50 cm x 50 cm x 50 cm-es doboz volt, melyet vörös színű égővel világítottunk meg. Az állatok 5 percig tartózkodtak benne, aktivitásukat a fölé helyezett digitális kamera segítségével rögzítettük. A doboz alját virtuálisan 16 egyenlő négyzetre osztottuk. A négyzeteket tovább csoportosítottuk aszerint, hogy a doboz szélén (sz), közepén (k), vagy a sarkaiban (s) helyezkedtek el (8. ábra).

A teszt során az ágaskodást, mosakodást, szaglászást, a vizelet- és székletürítést, valamint a megtett távolságot, a keresztezések számát és a doboz különböző helyein eltöltött időt vizsgáltuk. Az adatokat a Noldus EthoVision Basic szoftver (Noldus Information Technology B.V., Wageningen, Hollandia) segítségével rögzítettük és elemeztük.



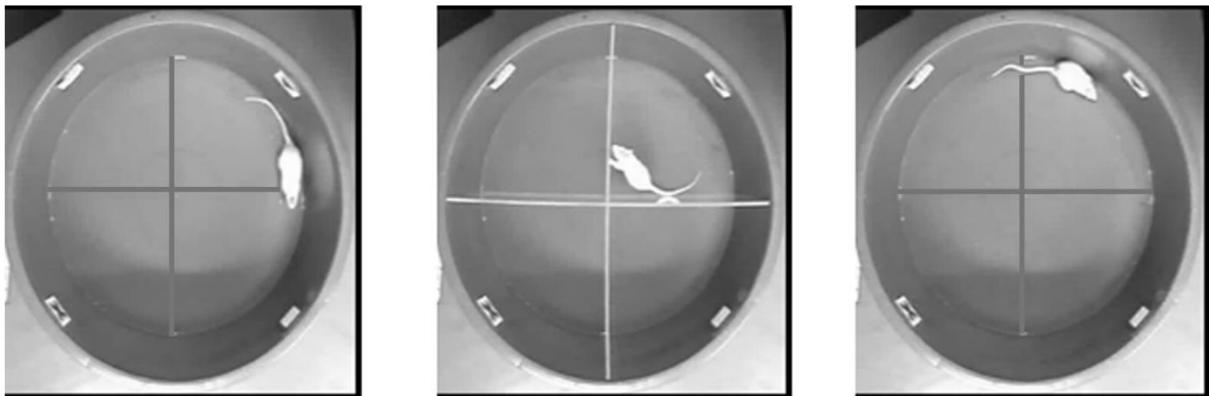
8. ábra Az open field apparátus virtuálisan felosztott területe

4.8. Kondicionált helypreferencia teszt

Az IL-1 β pozitív ill. negatív megerősítő hatását kondicionált helypreferencia (CPP) tesztben vizsgáltuk [196, 197]. A kísérleteket enyhén megvilágított, hangszigetelt szobában végeztük. Kör alapú, 85 cm átmérőjű, 40 cm magas falú kísérleti apparátust használtunk, melynek az alját fekete vonalakkal négy egyenlő kvadránsra osztottuk. Az apparátus belső falán elhelyezett vizuális jelzések segítették az állatokat a térbeli tájékozódásban.

A CPP kísérlet habituációból (1. nap), kondicionálásból (2. nap) és a tesztből (3. nap) állt, ezek mindegyike 900 s (15 min) hosszúságú volt állatonként. A habituáció napján a patkányokat az apparátusba helyeztük, melynek bármely részén szabadon mozoghattak a 900 s során. A dobozt minden állat után kitisztítottuk és hagytuk megszáradni. Kvadránsenként mértük a bennük töltött időt, ellenőrizve, hogy egyikben sem mutattak helypreferenciát vagy helyaverziót az állatok. A kezelőkvadránst ezután random választottuk ki.

A kondicionálás napján 20 perccel az IL-1 β vagy a PBS agyi mikroinjekcióját követően a plexiüveg határolófallal leválasztott kezelőkvadránsba helyeztük a patkányokat 15 percre. A tesztnapon ismét szabad hozzáférésük volt az apparátus egész területéhez. Az egyes kvadránsokban töltött időt mértük és összehasonlítottuk a citokin-kezelt és a kontrollcsoport között. Az állatok viselkedését digitális videokamera segítségével rögzítettük, az adatokat a Noldus EthoVision Basic szoftverrel (Noldus Information Technology B.V., Wageningen, Hollandia) tároltuk és elemeztük ki. A kísérleti elrendezés a 9. ábrán látható.



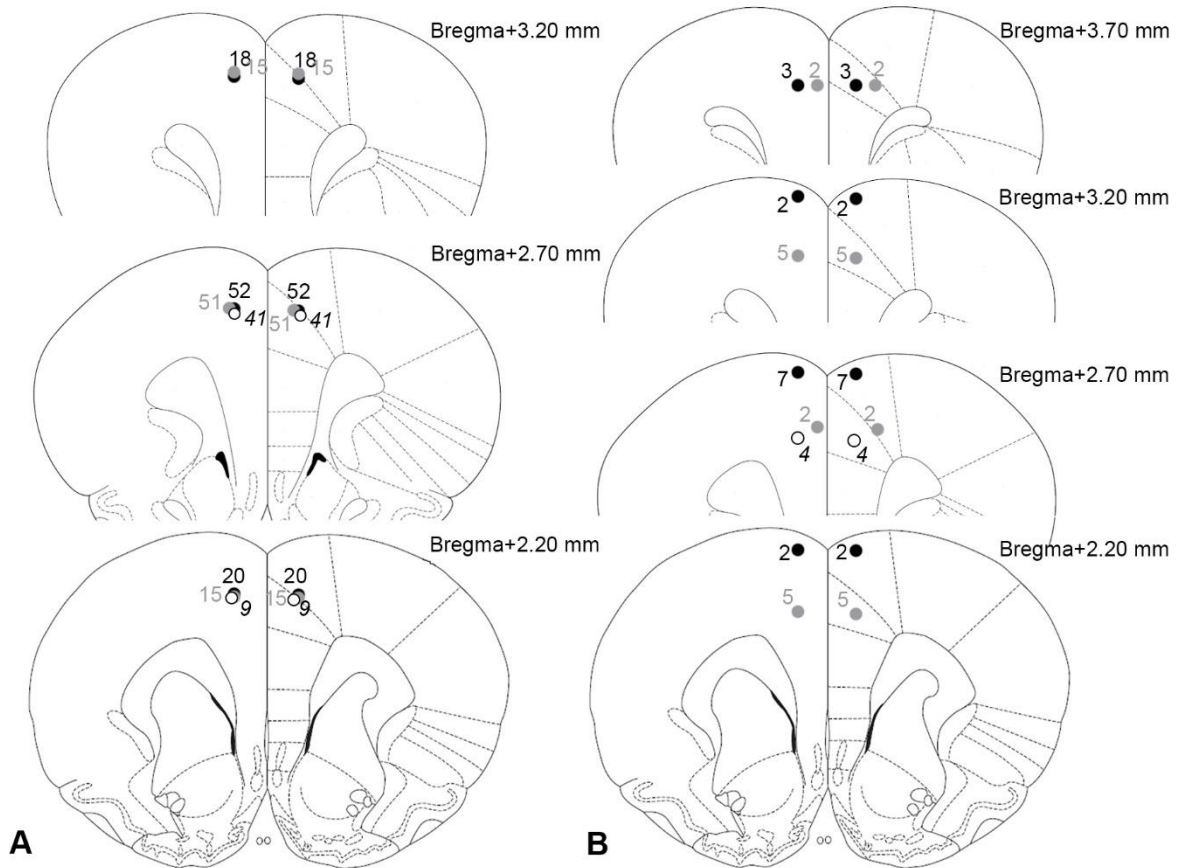
9. ábra A kondicionált helypreferencia teszt kísérleti elrendezése (sorban: habituáció, kondicionálás, teszt)

5. Adatok kiértékelése

5.1. Perfúzió és szövettan

Az agyi mikroinjekció pontos helyének ellenőrzése céljából szövettani vizsgálatokat végeztünk. A kísérletek befejeztével az állatokat i.p. adott uretánnal (40%, 1,4 g /ttkg) túlaltattuk, majd először izotóniás sóoldattal, azután pedig 10%-os formaldehid-oldattal transzkardiálisan perfundáltuk. Az állatok agyát eltávolítottuk, majd 4%-os formalinban fixáltuk. Ezt követően fagyasztott, 40 μ m-es sorozatmetszeteket készítettünk, amiket krezil-violával festettünk meg (Nyssl-festés), majd azonosítottuk a bilaterális beadókanül nyomvonalát és végződési helyét. Azokat a patkányokat, amelyeknél így a kanül nem megfelelő pozíciójára derült fény, kizártuk az adatelemzésből (32 állat), így 221 állat eredményeit értékeltük (10. ábra, [182] alapján). A kezdeti 280-as állatszámhoz képest mutatózó

különbözetet az egyéb okok miatt (betegség, gennyesedés az ízkanül helyén, freezing miatt értékelhetetlen magatartási teszt) kieső állatok eredményezik.



10. ábra A beadó kanülök végződési helyeinek rekonstrukciója a Paxinos és Watson agyatlasz megfelelő AP koordinátájú koronális metszetei alapján . Az A oldal a megfelelő pozíciójú beadásokat (n=221), a B oldal a hibás pozíciójú beadásokat (n=32) mutatja. Az azonos jelzések (fekete és szürke pontok, fekete körök) a bilaterális mikroinjekciók összetartozó végződési helyeit, a felettük lévő számok a hozzájuk tartozó állatszámot jelölik.

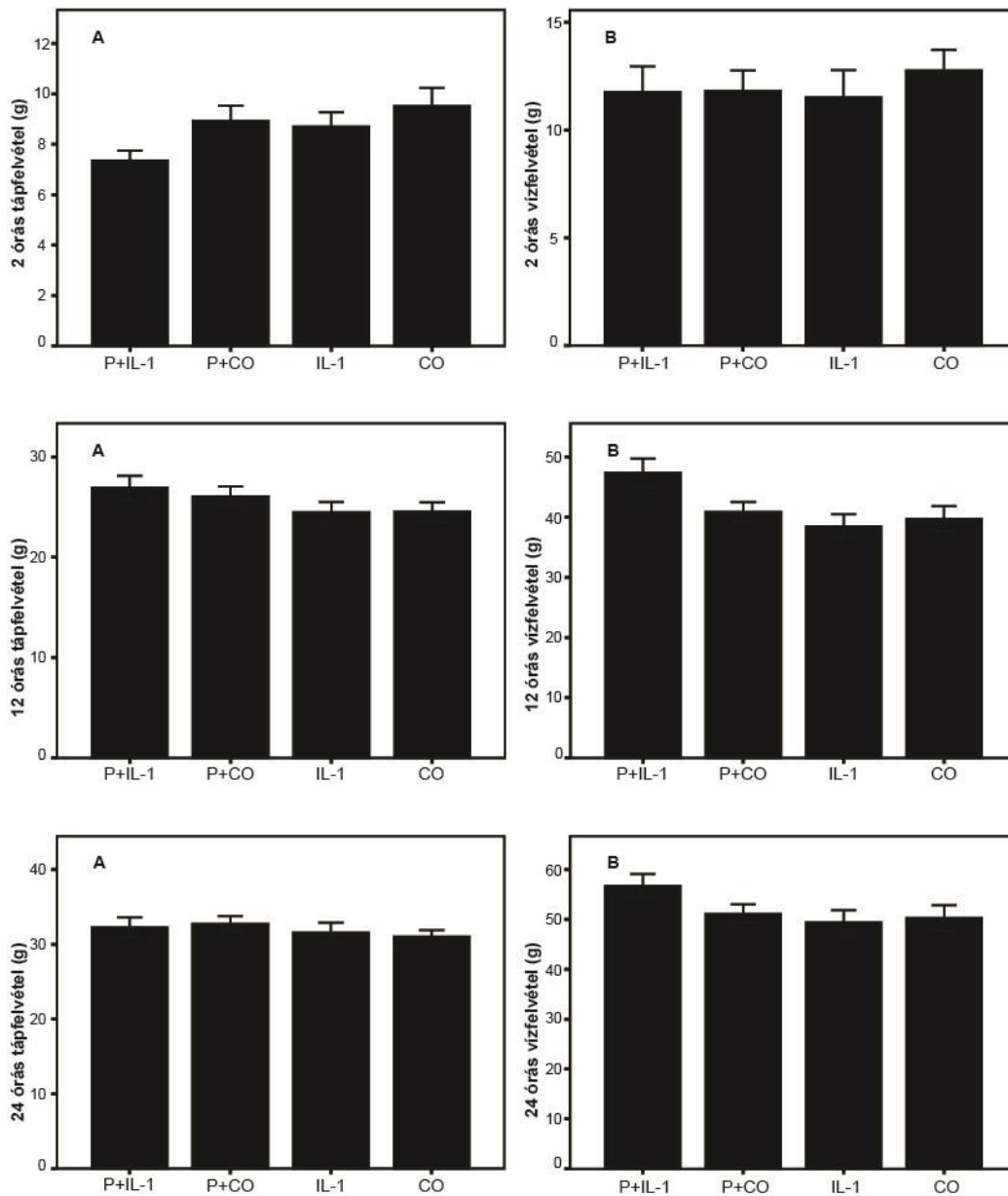
5.2. Adatelemzés

Adataink feldolgozására és statisztikai elemzésére az “SPSS for Windows” programcsomagot használtuk. Az eredményeket átlag \pm SEM formában fejeztük ki és egyszempontos varianciaanalízissel (ANOVA) és post hoc Tukey-teszttel, illetve Student-féle független mintás t-próbával értékeltük. Az eltéréseket $p < 0,05$ esetén értékeltük szignifikánsnak.

V. Eredmények

1. Táplálék- és vízfelvétel

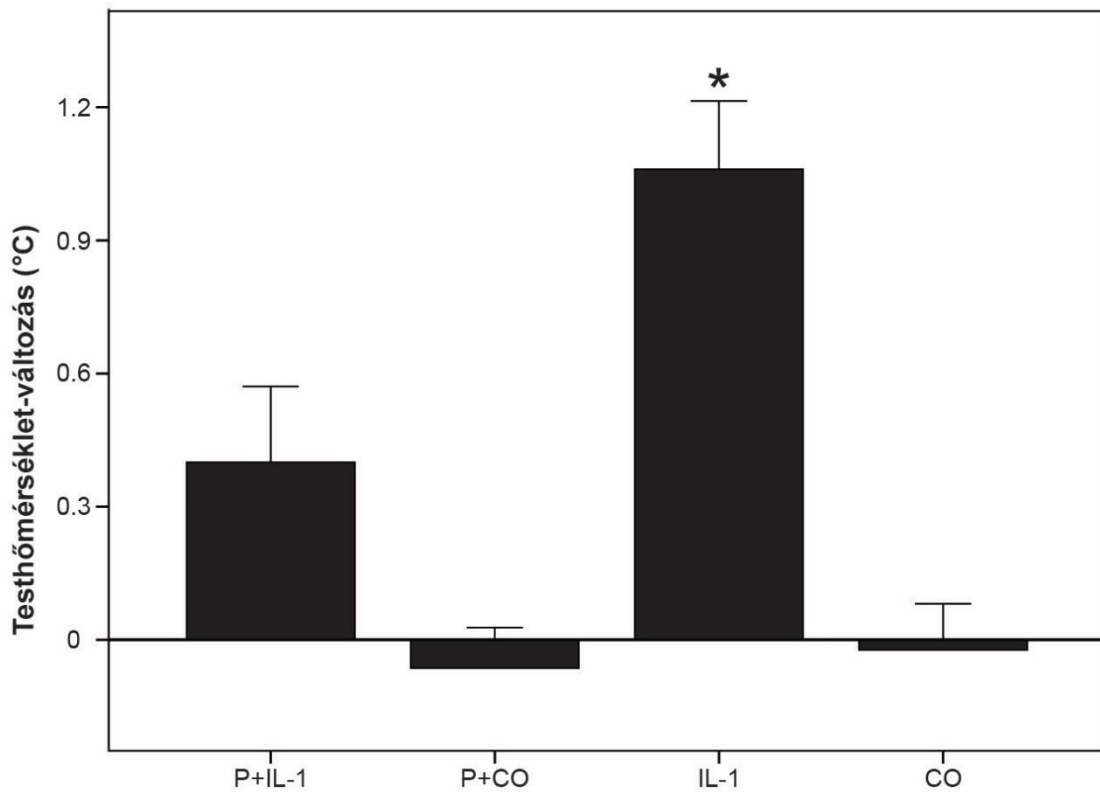
A táplálék- és vízfelvételi mérések során kapott eredmények egyik mérési időpontban (2h, 12h, 24h) sem különböztek szignifikánsan a kezelt és a kontroll állatok között (11. ábra; egyszempontos ANOVA; az F értékek a megfelelő párosítások esetén $F(3, 81)=0,260$ -tól $3,049$ -ig változtak, $p>0,05$ minden esetben).



11. ábra A táp (A)- és vízfelvételi mérések (B) eredménye. P (paracetamol előkezelés) + IL-1 (n = 21); P+ CO (kontroll) (n = 22); IL-1 (n = 20); CO (n = 22). Hibasávok: átlag ± SEM.

2. Testhőmérséklet

A cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció a testhőmérséklet szignifikáns megemelkedését eredményezte (12. ábra; egyszempontos ANOVA; $F(3, 81) = 15,166$; $p < 0,001$). A kezdeti és az anyagbeadások után két órával mért testhőmérséklet-különbségek a következők voltak: P+IL-1: $0,40 \pm 0,17$ °C, P+CO: $-0,06 \pm 0,09$ °C, IL-1: $1,06 \pm 0,15$ °C, CO: $-0,02 \pm 0,10$ °C. A citokinkezelt és a kontroll csoportok közötti különbség szignifikánsnak bizonyult (IL-1 vs. CO, $p < 0,001$; IL-1 vs. P + CO, $p < 0,001$; Tukey-teszt). A paracetamol előkezelés részben kivédte az IL-1 β okozta hatást. (P+ IL-1 vs. IL-1, $p = 0,005$; P + IL-1 vs. CO, $p = 0,113$; P + IL-1 vs. P+CO, $p = 0,069$; Tukey-teszt). A paracetamol önmagában, valamint a PBS nem okozott számottevő változást a patkányok testhőmérsékletében.

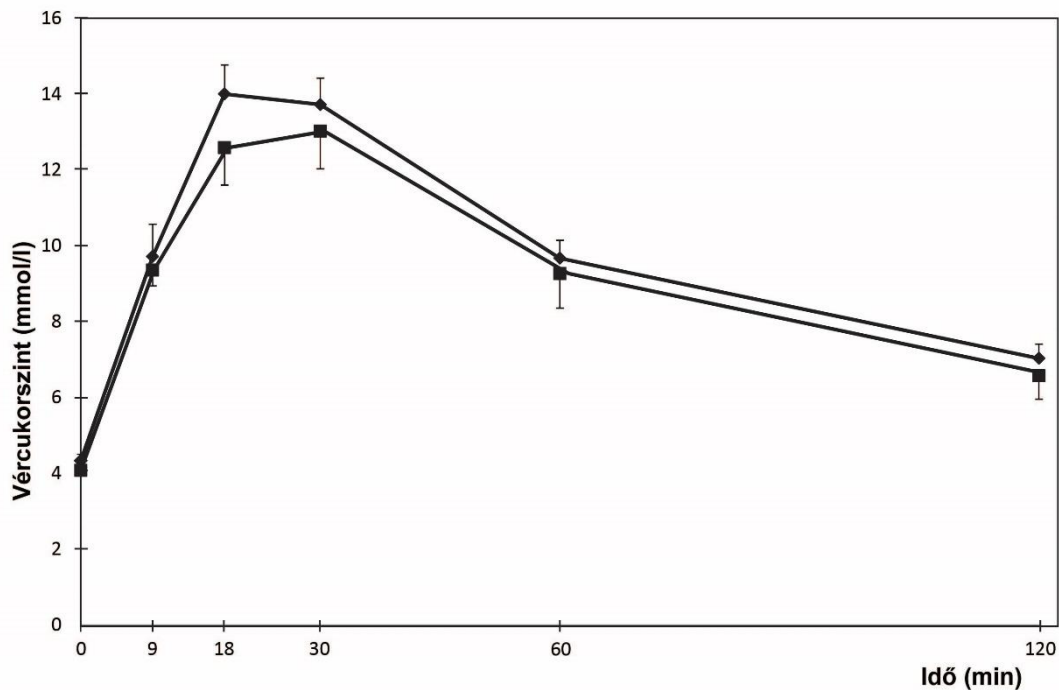


12. ábra A testhőmérséklet szignifikáns növekedése IL-1 β kezelést követően. IL-1 (n = 21);

P+ CO (n = 22); IL-1 (n = 20); CO (n = 22). Hibasávok: átlag \pm SEM; *: $p < 0,001$

3. Glukóztolerancia-teszt

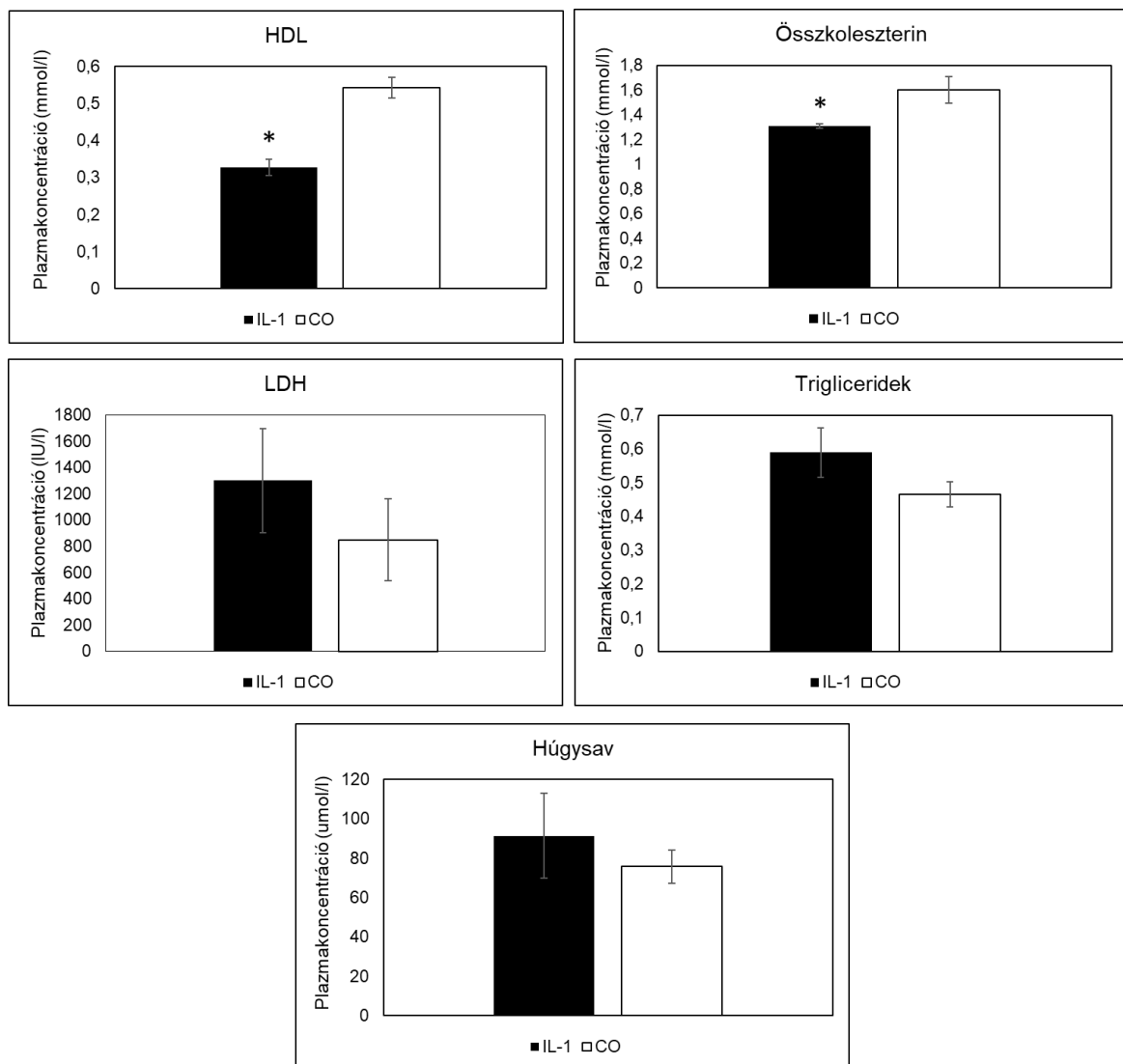
Az IL-1 β -kezelt patkányok vércukorszintje a glukóztolerancia-teszt során tendenciáját tekintve magasabb értékeket mutatott, mint a kontroll állatoké, valamint sajátos módon a görbe csúcsa időben eltérően jelent meg (13. ábra, 0': 4,33 \pm 0,17 mmol/l vs. 4,08 \pm 0,11 mmol/l, 9': 9,71 \pm 0,85 mmol/l vs. 9,36 \pm 0,42 mmol/l, 18': 14,00 \pm 0,77 mmol/l vs. 12,58 \pm 0,98 mmol/l, 30': 13,72 \pm 0,69 mmol/l vs. 13,02 \pm 0,99 mmol/l, 60': 9,67 \pm 0,47 mmol/l vs. 9,27 \pm 0,91 mmol/l, 120': 7,03 \pm 0,38 mmol/l vs. 6,57 \pm 0,61 mmol/l). A két görbe dinamikájának eltérése ellenére nem mutatkoztak szignifikáns különbségek a citokin-kezelt és kontroll állatok vércukorszintjei között (független mintás t-próba; a t értékek a megfelelő összehasonlításoknál t(24)= 0,357-től 1,187-ig változtak, p>0,05 minden esetben).



13. ábra A vércukorszint változásai a GTT során. \blacklozenge IL-1 β (n = 14) \blacksquare kontroll (n = 12) Hibasávok: átlag \pm SEM

4. Plazma metabolitok

A plazma metabolitok mérése során csökkenést tapasztaltunk a citokin-kezelt állatok HDL és összkoleszterin szintjében (14. ábra). Az eltérések szignifikánsnak bizonyultak (HDL: IL-1: $0,33 \pm 0,02$ mmol/l, CO: $0,54 \pm 0,03$ mmol/l, $t(11) = 5,687$, $p < 0,001$; összkoleszterin: IL-1: $1,31 \pm 0,02$ mmol/l, CO: $1,60 \pm 0,11$ mmol/l, $t(11) = 3,979$, $p < 0,005$, független mintás t-próba). A többi vizsgált metabolit esetén nem volt szignifikáns különbség a kontroll és az IL-1 β -kezelt állatok között (LDH: IL-1: $1300,44 \pm 397,06$ IU/l, CO: $849 \pm 313,16$ IU/l; trigliceridek: IL-1: $0,59 \pm 0,07$ mmol/l, CO: $0,47 \pm 0,04$ mmol/l; húgysav: IL-1: $91,44 \pm 21,46$ μ mol/l, CO: $75,75 \pm 8,46$ μ mol/l; a t értékek $t(11) = -1,087$ -től $1,785$ -ig változtak, $p > 0,05$ minden esetben; kétmintás t-próba).



14. ábra. Metabolitok plazmaszintjeinek változása IL-1 β kezelés hatására IL-1 (n=9), CO (n=4)
Hibasávok: átlag \pm SEM; *: $p < 0,001$ (HDL), $p < 0,005$ (összkoleszterin)

5. Ízreaktivitás teszt

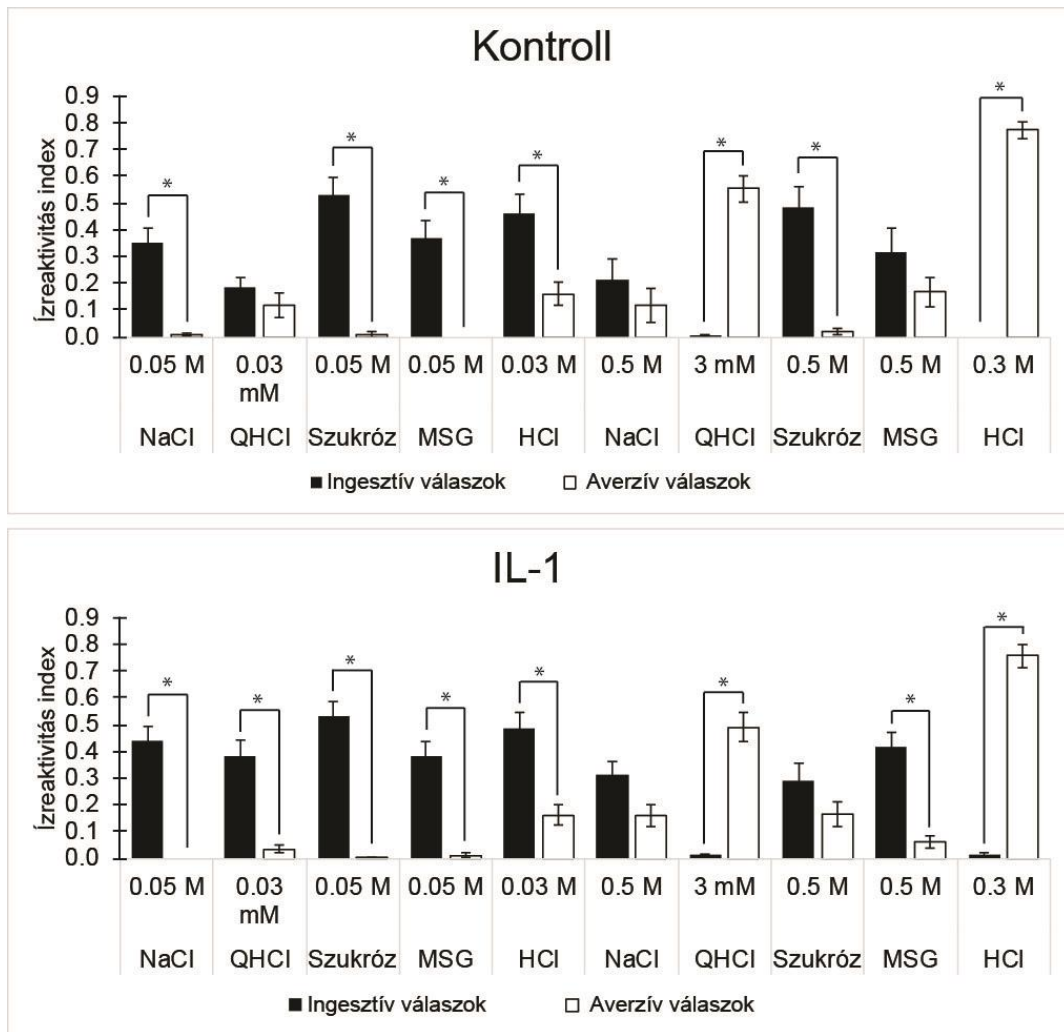
Az ízreaktivitás tesztben az ingerstív és averzív válaszok aránya három íz esetében megváltozott: 0,03 mM-os QHCl, 0,5 M-os szukróz és 0,5 M-os MSG (15. ábra).

A kontroll csoportban nem volt jelentős különbség az alacsonyabb koncentrációjú QHCl-re adott ingerstív és averzív válaszok között [F(3, 76)=9,288; p=0,827; egyszempontos ANOVA], a citokin-kezelt állatok azonban határozottan kellemes ingernek tartották ezt az ízt (p<0,001; post hoc Tukey-teszt; 16. ábra).

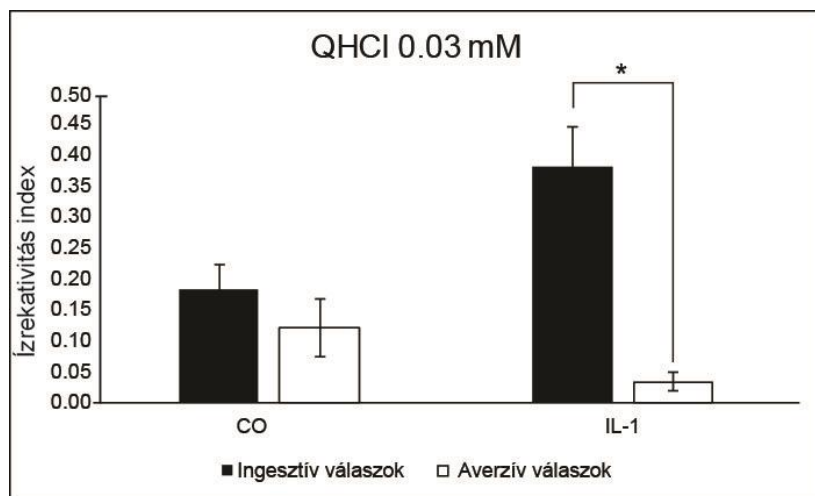
A magasabb koncentrációjú szukróz oldat a kontroll állatok számára egyértelműen ízletesnek bizonyult, az ingerstív válaszok aránya szignifikánsan magasabb volt ezen ízoldat esetében, mint az averzív válaszoké [F(3, 60)=11,987; p<0,001; egyszempontos ANOVA]. Ez a szignifikáns különbség azonban nem volt megfigyelhető az IL-1 β -kezelt patkányok esetén (p=0,350; post hoc Tukey-teszt; 17. ábra).

Hasonlóan az alacsonyabb koncentrációjú QHCl oldathoz, a kontroll csoportban a magasabb koncentrációjú MSG oldatra adott ingerstív és averzív válaszok aránya nem különbözött számottevően [F(3, 76)=6,450, p>0,853; egyszempontos ANOVA], a citokin kezelésben részesültek azonban szignifikánsan több elfogadó, mint elutasító (p<0,001; post hoc Tukey-teszt; 18. ábra) reakciót produkáltak ezen íz esetében, tehát egyértelműen kellemesnek értékelték azt.

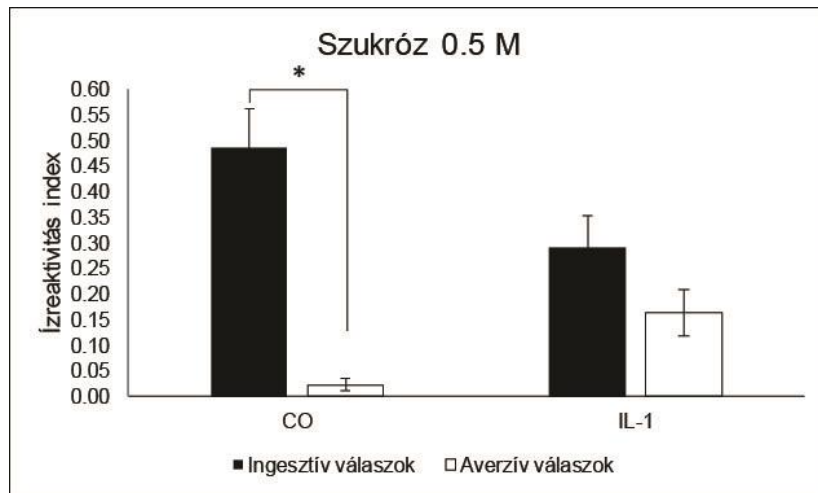
A többi ízoldatra vonatkozóan nem volt számottevő különbség a kontroll és a kezelt csoport eredményei között. A 0,05 M-os NaCl, a 0,05 M-os szukróz, a 0,05 M-os MSG és a 0,03 M-os HCl, egyértelműen ízletesnek bizonyultak mind a kontroll, mind a citokin-kezelt állatok számára: mindkét csoport egyedei szignifikánsan több ingerstív, mint averzív választ mutattak ezeknél az ízeknél [kontroll: az F értékek F(3,76)=10,509-től 37,742-ig változtak, p<0,005 minden esetben; IL-1 β -kezelt: p<0,001 minden esetben). A 3 mM-os QHCl és a 0,3 M-os HCl egyértelműen kellemetlen volt mindkét csoport állatai számára: szignifikánsan több averzív, mint ingerstív reakciót mutattak ezen ízek esetén (kontroll: F(3,76)=36,419 és 224,787; p<0,001 mindkét esetben; IL-1 β -kezelt: p<0,001 mindkét esetben). Az ingerstív válaszok domináltak a 0,5 M NaCl oldatnál mindkét csoportban, de a különbségek nem voltak szignifikánsak [F(3, 76)= 3,250; p=0,853 ill. 0,164).



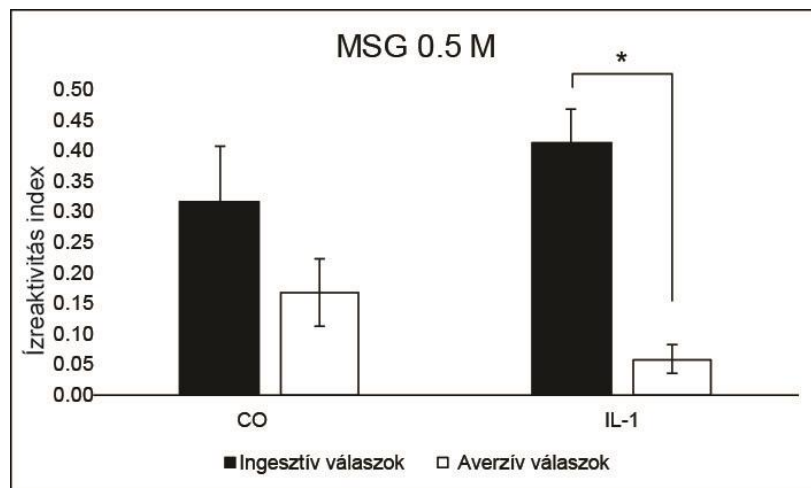
15. ábra Ingesztív és averzív izreaktivitás indexek az összes ízre nézve. IL-1 (n=23) CO (n=17)
 Hibásávok: átlag ± SEM; *: p<0,005 (kontroll), p<0,001 (IL-1)



16. ábra Izreaktivitás indexek az alacsonyabb koncentrációjú keserű (QHCl) izoldat esetén IL-1
 (n=23) CO (n=17) Hibásávok: átlag ± SEM; *: p<0,001



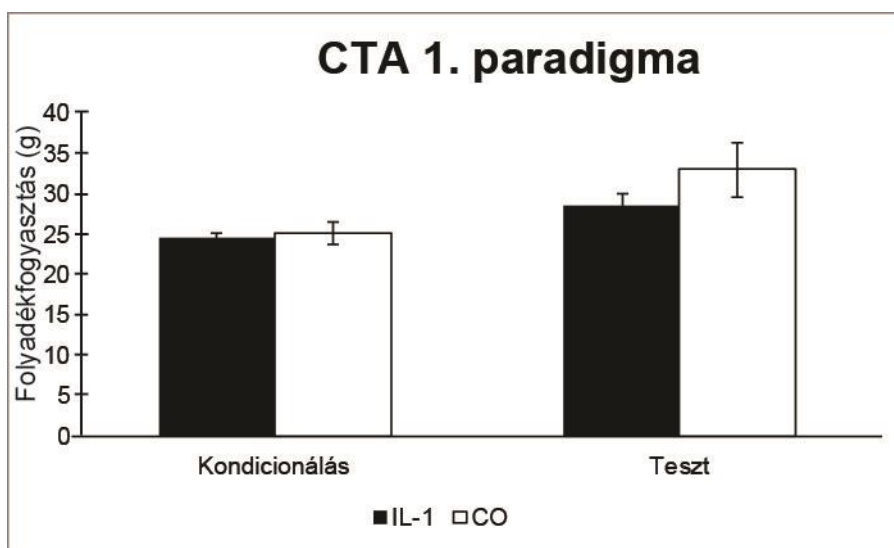
17. ábra Ízreaktivitás indexek a magasabb koncentrációjú édes (szukróz) ízoldat esetén IL-1 (n=23) CO (n=17) Hibasávok: átlag ± SEM; *: p<0,001



18. ábra Ízreaktivitás indexek a magasabb koncentrációjú umami (MSG) ízoldat esetén IL-1 (n=23) CO (n=17) Hibasávok: átlag ± SEM; *: p<0,001

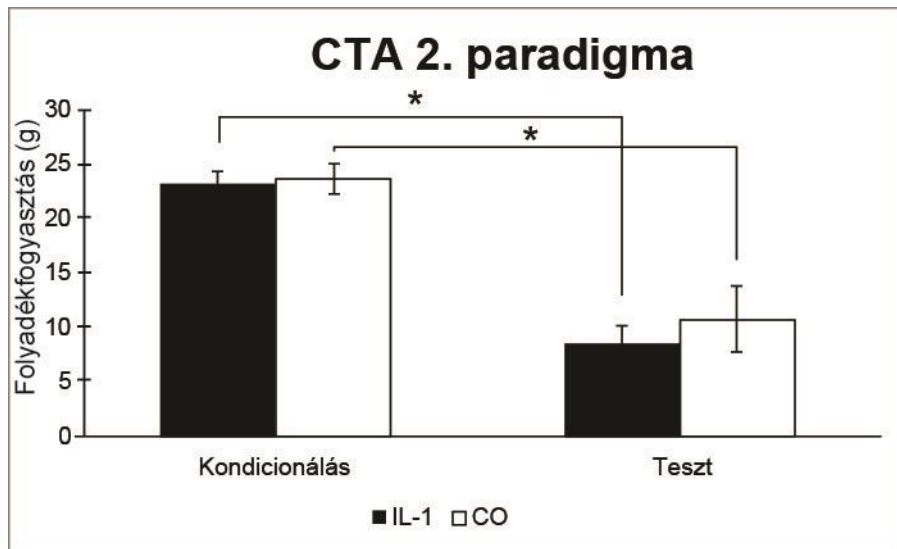
6. Kondicionált ízaverzió

A CTA teszt első kísérleti elrendezésében az IL-1 β nem váltott ki ízaverziót [F(3, 24)=3,724, p=0,025; egyszempontos ANOVA; 19. ábra]. Nem volt szignifikáns különbség a citokin-kezelt állatok kondicionálás napján és a tesztenapon mért folyadékfogyasztása között (p=0,653; post hoc Tukey-teszt), illetve a teszt napon a kontroll és a kezelt állatok folyadékfogyasztása között sem (p=0,403).



19. ábra Folyadékfogyasztás (g) a CTA első kísérleti elrendezésének kondicionálási és tesztenapján IL-1 (n=7) CO (n=7) Hibasávok: átlag \pm SEM

A második kísérleti elrendezésben az IL-1 β -nak nem volt módosító hatása a LiCl-dal kiváltott ízaverzió kialakulására [F(3, 20)=20,168; p<0,001; egyszempontos ANOVA; 20. ábra]. Az ízaverzió mindkét csoportban kialakult az ip. adott LiCl hatására, a tesztenapon mért folyadékfogyasztási értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a kondicionálás napján mért értékekhez képest mind a citokin-kezelt (p<0,001; post hoc Tukey-teszt), mind a kontroll patkányok esetében (p=0,001). A két csoport eredményeiben szignifikáns eltérés nem volt kimutatható (p=0,835) a teszt napon.

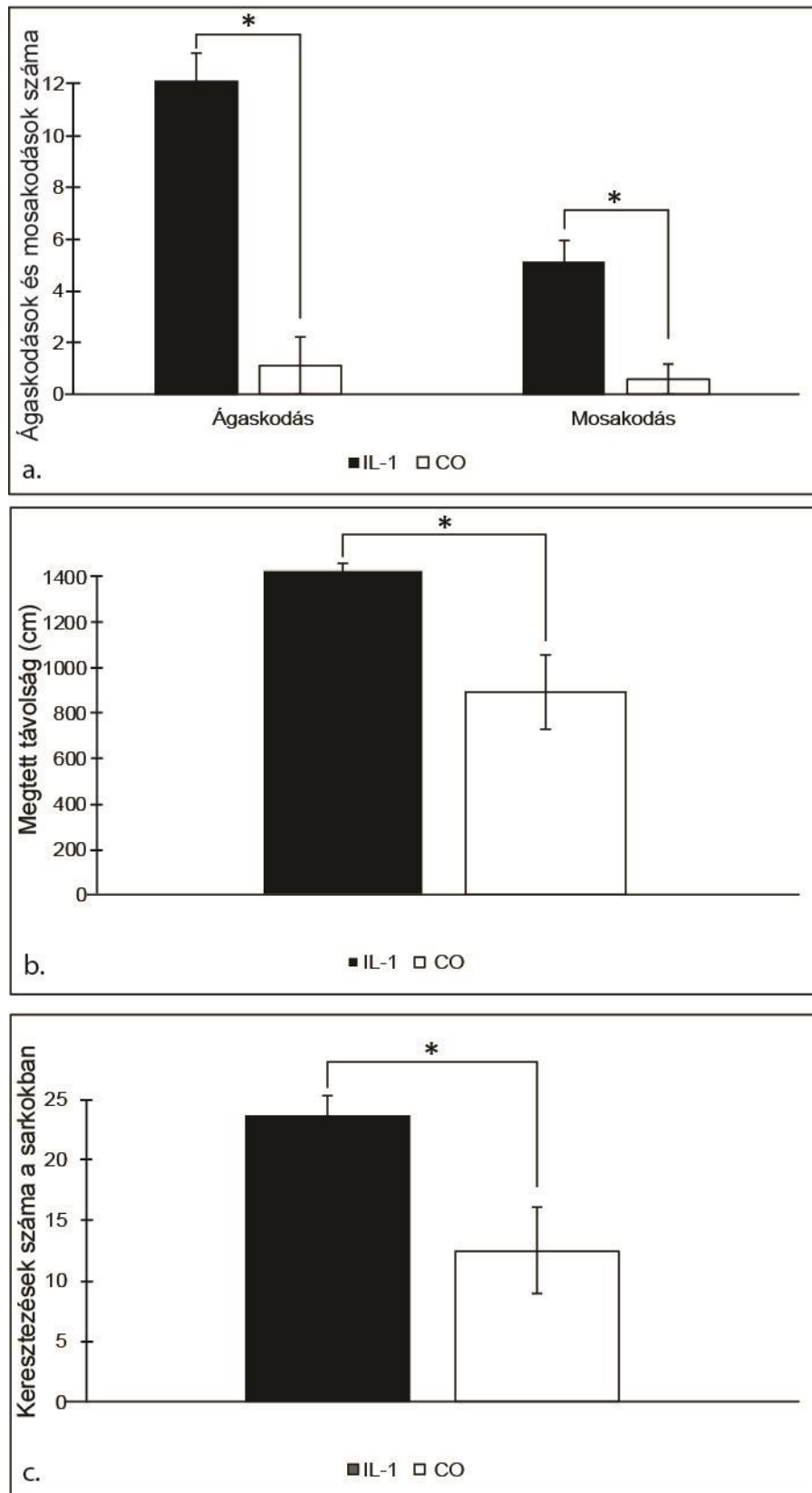


20. ábra Folyadékfogyasztás (g) a CTA második kísérleti elrendezésének kondicionálási és tesztnapján IL-1 (n=7) CO (n=5) Hibasávok: átlag \pm SEM; *: $p < 0,001$ (IL-1), $p = 0,001$ (kontroll)

7. Open field teszt

Az OPF teszt során szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk a citokin-kezelt és a kontroll csoport között (független mintás t-próba, 21. ábra). Az IL-1 β kezelést kapott állatok esetén szignifikánsan magasabb volt az ágaskodások (IL-1: $12,14 \pm 1,06$; CO: $4,67 \pm 1,12$; $t(11) = 4,86$, $p = 0,001$) és a mosakodások száma (IL: $5,14 \pm 0,83$, CO: $2,17 \pm 0,6$; $t(11) = 2,82$, $p = 0,017$), valamint nagyobb a megtett távolság (IL: $1428,09 \pm 34,81$, CO: $894,43 \pm 162,55$; $t(5,46) = 3,21$, $p = 0,021$), és a keresztezések száma a sarkokban (IL: $23,67 \pm 1,67$, CO: $12,50 \pm 3,61$; $t(10) = 2,81$, $p = 0,019$). A habituáció és az alapaktivitás mérésének napján nem volt számottevő különbség az állatok lokomotoros aktivitásában.

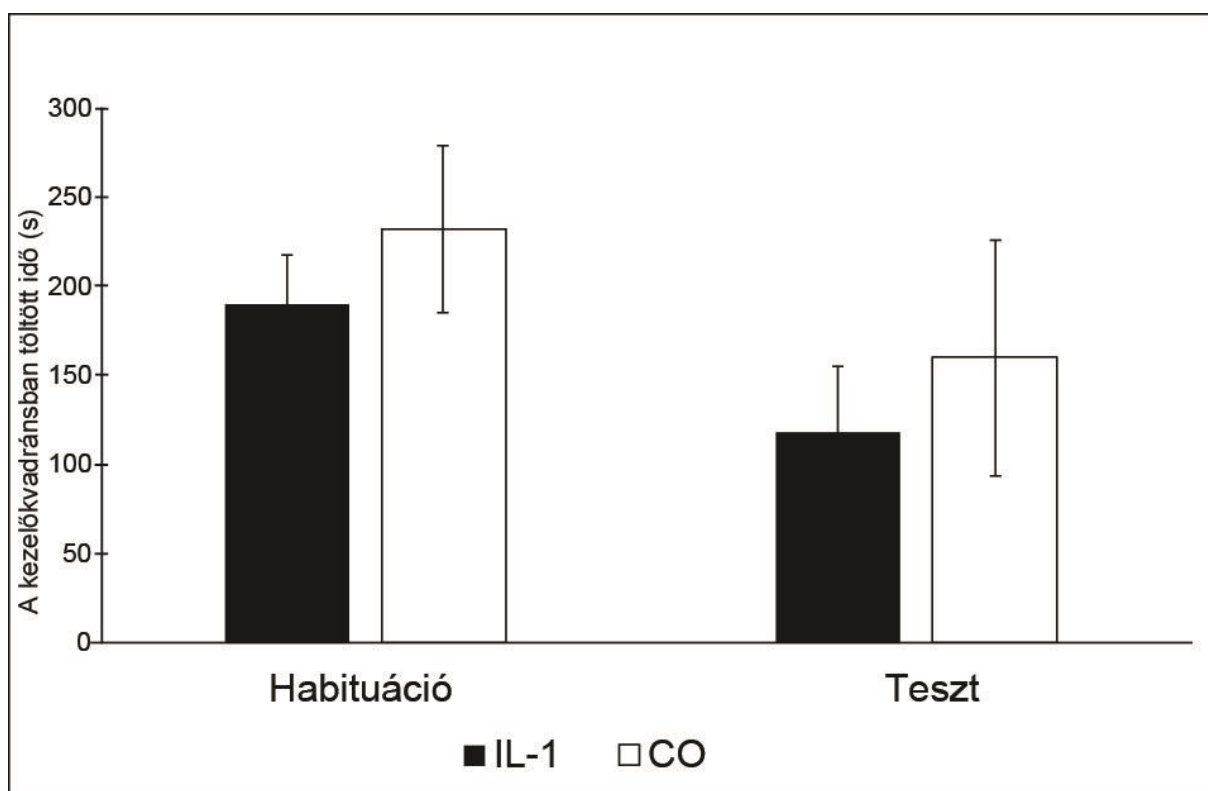
A szaglászást, az apparátus középső és szélső részén történő keresztezések számát és az egyes részekben eltöltött időt tekintve nem találtunk szignifikáns eltérést a csoportok között.



21. ábra Szignifikáns eltérések az OPF teszt során: a. ágaskodások és mosakodások száma; b. megtett távolság cm-ben; c. keresztezések száma a sarkokban IL-1 (n=7) CO (n=6) Hibasávok: átlag ± SEM; *: p=0,001 (ágaskodás), p<0,05 (mosakodás), p<0,05 (megtett távolság), p<0,05 (keresztezők száma a sarkokban)

8. Helypreferencia teszt

A CPP teszt során nem találtunk szignifikáns eltérést az IL-1 β -kezelt és a kontroll csoport állatai között a teszt napon (IL:116,8 \pm 38,0; CO:159,6 \pm 66,5; $t(10) = -0,776$, $p = 0,456$; független mintás t-próba; 22. ábra). Az IL-1 β -kezelt állatok habituációs és teszt napon mért értékei szintén nem mutattak számottevő különbséget (H:189,4 \pm 28,1; T:116,8 \pm 38,0; $t(5) = 1,827$; $p = 0,127$; független mintás t-próba; ábra) Eredményeink tehát azt mutatják, hogy sem kondicionált helypreferencia, sem kondicionált helyaverzió nem alakult ki a citokinkezelés hatására.



22. ábra A CPP teszt eredményei: a kezelőkvaránsban töltött idő a habituáció ill. a teszt napján. IL-1 (n=6) CO (n=6) Hibasávok: átlag \pm SEM

VI. Eredmények megbeszélése

1. Táplálék- és vízfelvételre gyakorolt hatás

Az IL-1 β mind perifériásan, mind centrálisan icv. és intracerebrálisan történő beadását követő anorexigén hatását számos tanulmány igazolta az utóbbi évtizedekben [1-3]. Az IL-1 β táplálékfelvételre gyakorolt hatása kutatócsoportunknak is vizsgálati tárgyát képezi. Az erre irányuló korábbi kísérletek a globus pallidusban, az OFC-ben, valamint a NAcc-ben is kimutatták a táplálékfelvétel redukcióját [4, 6, 8].

Az IL-1 β anorexigén hatását az I-es típusú IL-1 receptor mediálja, a folyadékfelvételre gyakorolt hatásának hátterében azonban más mechanizmus feltételezhető [198]. Ezt támasztják alá azok a tanulmányok, melyekben az IL-1 β centrális adását követő táplálékfelvétel-csökkenés nem járt együtt hypo- ill. adiposziával [6, 198], sőt egyes esetekben hyperdipszia volt megfigyelhető a citokin kezelést követően [4].

Jelen kísérletsorozatunkban az IL-1 β -t bilaterálisan az ACC-be mikroinjektálva nem tapasztaltunk anorexigén hatást és az állatok vízfelvételében sem mértünk szignifikáns változást. Eredményeink azt mutatják, hogy a cinguláris kérgi IL-1 β -mediálta folyamatok nem vesznek részt közvetlen módon a táplálék- és folyadékfelvétel szabályozásában.

Köztudott ugyanakkor, hogy a táplálék szenzoros tulajdonságai (látvány, íz, illat, textúra) alapvető meghatározói a táplálékfelvételi magatartásnak [25]. Szintén ismert, hogy az ACC-nek fontos szerepe van a táplálkozási motivációhoz köthető idegi mechanizmusokban; non-invazív képalkotó eljárások a motivációs és a hedonikus meghatározók általi eltérő aktivációjáról tanúskodnak: fMRI vizsgálat során hasonlítottak össze elhízott és normál testtömegű személyeket étkezés előtti és utáni állapotban, miközben ételekről és nem ételekről készült képeket mutattak nekik. Az étkezés előtt az elhízott csoport tagjainál az ACC megnövekedett aktivációja volt megfigyelhető a kontroll csoport tagjaihoz képest [22]. Szintén fMRI tanulmányban mutatták ki, hogy az ACC aktivációja korrelál az ízek, valamint a zsírtartalmú étel textúrájának szubjektív kellemességével [24]. Az ACC aktivációját több ízingerrel, valamint kellemes és kellemetlen szaganyagokkal is kiváltották, s az ACC elülső részének aktivációja korrelált a szagok szubjektíven értékelt kellemességével [25].

A fentiek alapján feltételezhető, hogy a táplálék- és vízfelvételi kísérletek „negatív” eredményének ellenére az ACC legalább a táplálék hedonikus értékének, kellemes ill.

kellemetlen voltának értékelése által fontos szerepet játszik a táplálkozási magatartás szervezésében. A kérdés bővebb kifejtésével az ízreaktivitás teszt eredményeit tárgyaló fejezet foglalkozik.

Kutatócsoportunk korábbi kísérleteiben a globus pallidusban, az OFC-ben, valamint a NAcc-ben a pirogén és anorexigén hatás együttes megjelenése volt megfigyelhető [4, 6, 8]. Jelen kutatásainkban, az ACC-be mikroinjektált IL-1 β pirogén hatását az anorexigén és adiposzogén hatások kialakulása nélkül igazoltuk. Az egymástól független változások magyarázatát adhatja az a megfigyelés, hogy a citokin által okozott lázkeltő és magatartási hatások különböző receptor mechanizmusokon keresztül valósulnak meg [199]. Ezt támasztja alá az a tanulmány is, mely szerint az anorexigén hatás hátterében a központi melanokortin 3 és 4 receptorok moduláló hatása áll, ugyanakkor az egyidőben tapasztalt láz kialakulásában kizárja e mechanizmus szerepét [200].

2. Lázkeltő hatás

A cinguláris kéregbe adott bilaterális IL-1 β mikroinjekció szignifikáns testhőmérséklet-emelkedést okozott. A citokin lázkeltő hatása régóta ismert a szakirodalomban, perifériás és centrális adását követően is leírták már: icv. injekciója patkányban jelentős és hosszú ideig fenntartott lázat váltott ki, s ez jóval hatékonyabbnak bizonyult az intravénásan, farokvénába történő beadással szemben [5]. Hasonlóképpen szignifikáns testhőmérséklet-emelkedéshez vezetett a közvetlenül a globus pallidusba, az OFC-be, valamint a NAcc-be adott IL-1 β mikroinjekció is [4, 6, 8]. A cinguláris kéregben történő alkalmazását követően azonban még nem írtak le lázkeltő hatást, így eredményeink elsőként igazolják, hogy a citokin ezen régióba adva jelentős testhőmérséklet-emelkedést okoz.

A testhőmérséklet szabályozása a központi idegrendszer egyik legfontosabb homeosztatisz funkciója. A láz a testhőmérséklet leggyakrabban – elsősorban bakteriális – fertőzések által kiváltott, szabályozott emelkedése, melyet a prosztaglandin E₂-nek (PGE₂) az organum vasculosum laminae terminalis-ra, valamint az anterior POA-ra kifejtett hatásának tulajdonítanak [201-205]. A PGE₂ feltehetően gátolja a POA azon neuronjait, melyek a testhőmérséklet csökkentéséért felelnek, ezáltal egy szabályozott testhőmérséklet-emelkedést hozva létre, a fertőzés túlélési esélyeinek növelése érdekében [206]. Az IL-1 β a preoptikus és anterior hipotalamusz vizsgált melegérzékeny neuronjai 70%-ának aktivitását csökkentette in

vitro [207]. Irodalmi adatok tanúsága szerint az IL-1 β stimulálja az arachidonsav biotranszformációját, s ezáltal növeli a különféle sejtek PGE2 termelését [208, 209]. Ennek a mechanizmusnak az IL-1 β hatásmechanizmusában betöltött szerepére vonatkozóan további vizsgálatokat végeztünk, melyek eredményét a dolgozat következő alfejezete tárgyalja.

A cinguláris kéreg érintettsége a testhőmérséklet szabályozásában eddig kevésbé volt ismert. Tudjuk ugyanakkor, hogy a termoregulációban kulcsszerepet játszó preoptikus area beidegzést kap a kéreg egyes területeiről, beleértve a cinguláris kérget is, s neuronjainak számottevő része válaszkészséget mutat ezen régió stimulálására [210]. E megfigyelés a cinguláris kéreg testhőmérsékletre gyakorolt hatását lehetővé tevő neuronális szabályozó mechanizmust feltételez.

Paracetamol hatása az IL-1 β okozta testhőmérséklet-emelkedésre

Az IL-1 β homeosztatis hatásaiban az irodalmi adatok alapján bizonyosan szerepet játszanak a prosztaglandin-mediálta folyamatok, COX-gátlók használatával – legalábbis részben – ugyanis kivédhető a citokin hatása [4, 5, 8, 168, 211, 212]. Az erre vonatkozó eredmények azonban nem egységesek, még a testhőmérséklet-emelkedést okozó hatást illetően sem [6], ezért paracetamol előkezelést alkalmazva további vizsgálatokat végeztünk a kérdés tisztázására.

A paracetamol egyike a legszélesebb körben használt fájdalomcsillapító és gyulladásgátló szereknek. Hatása az NSAID-okhoz, különösen a szelektív COX-2 gátlókhoz hasonló. Hatásmechanizmusa sokáig kevésbé volt ismert az előbbiekhöz képest, de mára általánosan elfogadott, hogy a COX-1 és COX-2 izoenzimek peroxidáz aktivitásának gátlásával, s ezáltal a prosztaglandinok arachidonsavból történő bioszintézisének megakadályozásával fejt ki a hatását [213].

Az IL-1 β prosztaglandinok által történő lázkeltő hatását a COX-2 mediálja: kimutatták, hogy a COX-2 génkiütött egereken a citokin nem okoz lázat, míg COX-1 génkiütöttek esetében igen [214], a COX-3 szerepét pedig szintén kizárták [215].

Kutatócsoportunk több alkalommal vizsgálta a centrálisan adott paracetamol hatását IL-1 β mikroinjekció előkezeléseként, s a különböző agyterületeken végzett kísérletek eredményeit nehéz egységes platformra hozni. A paracetamol előkezelés csökkentette a globus pallidusba adott IL-1 β okozta testhőmérséklet-emelkedés mértékét, de nem akadályozta meg azt teljesen [4]. Az orbitofrontális kéregbe injektált IL-1 β testhőmérséklet-emelő hatása nem volt

megelőzhető paracetamol előkezeléssel [6]. A NAcc-be adott IL-1 β mikroinjekció okozta láz esetében a paracetamol kisebb dózisban nem volt képes kivédeni a hatást, nagyobb dózisban azonban hatékonynak bizonyult [8].

Jelen kísérletsorozatunkban a centrálisan, az ACC-be adott paracetamol előkezelés megakadályozta ugyan az ugyanezen régióba adott IL-1 β szignifikáns testhőmérséklet-emelő hatását, de nem védte ki azt teljes mértékben. Ez azt jelenti, hogy a COX mediálta folyamatok kétségtelenül fontos szerepet játszanak az IL-1 β által kiváltott láz létrejöttében, ám eredményeink egyéb mechanizmusok érintettségét is valószínűsítik.

Ismert például, hogy a központi adrenerg rendszer részt vesz az IL-1-ozta lázas válasz létrejöttében: az oldalkamrába adott 6-hydroxidopamin előkezelés megakadályozta az IL-1 által kiváltott lázat [7]. Szintén leírták, hogy egyes citokinek, köztük az IL-1 β is, CRH felszabadítása által váltanak ki testhőmérséklet-emelkedést, melyet nem befolyásolnak a COX-gátlók [111, 216]. Megjegyzendő azonban, hogy a CRH hatását nagyban befolyásolják a környezeti tényezők, alacsony környezeti hőmérséklet esetén például hypothermiát okoz [217-219].

Szintén megemlítendő, hogy eltérnek a vélemények a prosztaglandin mechanizmusok időbeni jelentőségét illetően: míg egyes szerzők a bifázisos pirogén válasz első fázisában betöltött szerepüket hangsúlyozzák [220], más forrás szerint az első szakasz a ceramid bioszintézisétől függ, és csak a második fázisban dominálnak a prosztaglandin mechanizmusok [221]. A COX-gátlók időbeni hatékonysága szempontjából a kérdés nem elhanyagolható.

Az IL-1 β okozta láz kialakulása tehát komplex folyamatok eredménye, melyek részleteinek és további folyamatainak feltárása és magyarázata további vizsgálatokat igényel.

3. Metabolikus szerep

Az IL-1 β glukózanyagcserére gyakorolt hatásával kapcsolatos közlemények nem egységesek az irodalomban. Intraperitoneálisan adott humán rekombináns IL-1 egerekben és patkányokban hypoglikémiát okozott [10]. Ennek a hatásnak a hátterében (feltételezhetően más mechanizmusokkal együttesen) a vér inzulinszintjének a növelése állhat. Ezt támasztja alá az a tanulmány, melyben az iv., icv., valamint intracerebrálisan, a preoptikus anterior hipotalamuszba adott IL-1 β is hiperinzulinémiához vezetett [222]. Azt is igazolták, hogy a prosztaglandinoknak kulcsszerepe van ezen hatás kialakulásában is, hiszen COX-gátlókkal (indometacin, ibuprofen, meclofenamate) történt előkezelést követő iv. vagy icv. injektált IL-1

esetén sem volt megfigyelhető hiperinzulinémia [223]. Az IL-1 antidiabetikus hatását figyelték meg diabéteszes állatmodellen több kísérletben is, ahol a citokin normalizálta a vércukorszintet [11, 162]. Az előzőekben említettekkel ellentétben azonban ezt a hatást nem az IL-1 vér inzulinszint-emelő hatásának tulajdonítják [162]. Jól ismert, hogy az IL-1-nek fertőzések esetén fontos szerepe van az akut fázis válaszban, s ez magában foglalja a szervek inzulindependens mechanizmussal történő megnövekedett glukózfelhasználását [224]. Ugyanakkor rekombináns IL-1 gátolja a Langerhans-szigetek glukóz-indukálta inzulinszekréciónak, feltételezhetően a szigetek Ca^{2+} felvételének megakadályozása révén [225]. Az IL-1 β -nak ezt gátló hatását a nitrogén-monoxid mediálja [226]. In vitro megfigyelések izolált patkány Langerhans-szigeteken ugyanakkor kimutatták az IL-1 citotoxikus hatását [9]. Magas glukózkoncentráció hatására humán pancreas β sejtekben IL-1 β termelődik, ami az inzulinszekréciónak károsodásához, csökkent sejtproliferációhoz és apoptózishoz vezet [164, 227, 228]. Mindezek alapján feltételezik az IL-1 hozzájárulását mind az 1-es, mind a 2-es típusú diabetes mellitus kialakulásához [163, 165-167, 229].

Laboratóriumunk korábbi vizsgálatai során a VMH-ba és az OFC-be mikroinjektált IL-1 β GTT-ben kóros lefutású vércukorszint-görbét eredményezett [6, 230], s a NAcc-be történő beadás után is hiperglikémia és glukóz-intolerancia mutatkozott [8]. Jelen kísérletsorozatunkban, az IL-1 β -t az ACC-be injektálva, nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést a kontroll állatok vércukorszintjéhez képest GTT során. Valószínűsíthető, hogy az IL-1 glukózanyagcserére gyakorolt hatásának fiziológias vagy patológias irányát nagyban meghatározza a mennyiség, a termelődés pontos helye és időbeni lefutása [231].

Bakteriális fertőzések esetén a lipoproteinek plazmaszintje a lázas válasz alatt lecsökken [232, 233], a trigliceridek szintje ugyanakkor általában emelkedett fertőzések és gyulladások esetén [234, 235] és ezen változásokat létrehozó folyamatokban a citokineknek fontos mediáló hatást tölthetnek be. Az irodalomban rendelkezésre álló adatok azonban néhol ellentmondásosak. Az IL-1 β ozmotikus minipumpa segítségével patkányok hasüregébe injektálva a koleszterin plazmaszintjének csökkenését okozta, s ugyanezen tanulmány szerint a trigliceridek szintjében is csökkenést figyeltek meg az IL-1 hatására [12]. Farokvénába injektálva az IL-1-et, a trigliceridek plazmaszintjének gyors növekedéséről számoltak be, a koleszterin koncentrációjában azonban nem tapasztaltak változást [236]. Diabéteszes patkány modell esetén – mely állatoknál hiperlipidémia jellemző – a zsírok mobilizációját figyelték meg az IL-1 kezelés hatására [11].

Jelen kísérletsorozatunkban, az IL-1 β -t az ACC-be bilaterálisan mikroinjektálva, a HDL és az összkoleszterin plazmakoncentrációjában mértünk szignifikáns csökkenést. A trigliceridek szintje megnövekedett a kontroll állatokhoz képest, de ez a változás nem érte el a szignifikáns szintet. Eredményeink részben ellentétben állnak laboratóriumunknak a korábban a NAcc esetében kapott megfigyeléseivel, ahol az IL-1 β nemcsak a trigliceridek, hanem a koleszterin plazmaszintjében is szignifikáns emelkedést váltott ki [8].

Kísérleti eredményeink és az irodalomban elérhető adatok alapján [8, 11, 12, 236] tehát egy IL-1 β -mediálta, zsíryanagcserét érintő centrális szabályozó folyamat feltételezhető. A zsíryanagcseréhez kapcsolódó metabolitok szintjének aktuálisan létrejövő változása azonban számos, egymással összefüggő szabályozó tényező integratív működésének eredménye.

4. Ízreaktivitás

Az ACC pregenuális területe beidegzést kap az orbitofrontális kéreg felől [109], ahol főmódszerekben a másodlagos ízkerget azonosították [99]. Egyes források egy harmadlagos ízkerget meglétét is feltételezik az ACC-ben [110], mivel korábban ízingerekre reagáló neuronokat írtak le ezen a területen [25]. Az insularis-opercularis elsődleges ízkerreggel szemben, ahol az ízinger azonossága és intenzitása reprezentálódik, az orbitofrontális és a cinguláris kéreg esetén (tehát a másodlagos és harmadlagos ízkerregben) az íz jutalomértéke („kellemessége”) a meghatározó minőség [237].

Jelen kísérletünk az első az irodalomban, amely az IL-1 β -nak az ízek hedonikus értékelésére való hatását vizsgálja a cinguláris kéregben. Az ízreaktivitás tesztben kapott eredményeink azt mutatják, hogy az ACC-be bilaterálisan mikroinjektált IL-1 β ízreaktivitás változásokat okoz: az alacsony koncentrációjú keserű (0,03 mM QHCl) és a magasabb koncentrációjú umami (0,5 M MSG) ízoldatot – amelyek esetén a kontroll állatoknál nem volt szignifikáns különbség az ingerstíves és averzív válaszok között – az IL-1 β -kezelt patkányok egyértelműen ízletesnek értékelték, a magasabb koncentrációjú édes (0,5 M szukróz) oldat esetén pedig – ahol a kontroll állatok válaszai döntően ingerstívesek voltak – eltűnt a szignifikáns különbség az ingerstíves és averzív válaszok között a kezelt állatoknál.

Az *umami* ízt tekintve eredményeink összevethetőek számos humán, az IL-1 β szintjének emelkedésével járó megbetegedés során tapasztalt tünettől: nem-alkoholos zsírmáj betegségben szenvedők esetén például az umami íz felismerési küszöbének a magasabb értékek felé történő, szignifikáns mértékű eltolódását írták le, aminek következtében a páciensek az ízt kevésbé

intenzívnek érezték, s ezáltal megnőtt a pozitív hedonikus válaszok száma [16]. Hasonló eredmény született krónikus hepatitis C betegek körében is, ahol az umami felismerési küszöb szintén feljebb tolódott, s a betegek a vizsgált ételek közül sokat ízletesebbnek írtak le, mint a kontroll csoport tagjai [17]. Jelen kísérleti eredményeink azt mutatják, hogy az umami kisebb koncentrációjú oldata egyértelműen kellemes a patkányok számára (erre az ízoldatra kizárólag ingerstív válaszokat regisztráltunk a kontroll állatok részéről). A fentiekben leírt felismerési küszöb eltolódás tehát jelen kísérleteinkben is magyarázatot adhat arra, hogy a magasabb koncentrációjú umami oldat miért ízletesebb az IL-1 β -kezelt állatok számára. A fenti tanulmányok [16, 17], valamint jelenlegi eredményeink arra engednek következtetni, hogy ezen krónikus májbetegségben szenvedő páciensek esetén az umami íz felismerési küszöbének eltolódását az IL-1 β megnövekedett koncentrációja okozhatja, ami az ACC működését is érinti.

Az íz felismerési küszöbének eltolódásával a magasabb koncentrációjú *édes* oldat esetében tapasztalt izreaktivitás-változást (az IL-1 β -kezelt állatoknál nem mutatkozott a kontrollokra jellemző szignifikáns különbség a pozitív hedonikus válaszok javára) nem magyarázhatjuk, hiszen a szukróz oldat a kisebb koncentrációban is kifejezetten ízletesnek bizonyult, sőt az izreaktivitás indexek alapján kellemesebbnek értékelték az állatok. A gyulladások ill. fertőzések esetén megjelenő anhedónia, az örömet okozó tevékenységek iránti érdeklődés elvesztése jól ismert jelenség, melyet a táplálkozással kapcsolatban is kimutattak (csökkent szacharinfogyasztás és -preferencia) [238]. Az IL-1 β csökkentette a szukrózfelvételt patkányokban [15]. Ez összhangban áll a kapott eredményünkkel, ugyanakkor felmerül a kérdés, hogy az alacsonyabb koncentrációjú édes oldat esetén miért nem volt megfigyelhető hasonló eltérés. Az alacsonyabb koncentrációjú szukróz oldatot harmadik, míg a magasabb koncentrációjút nyolcadik ízoldatként kapták az állatok, s tudjuk, hogy az édes íz hedonikus értéke csökken az „energiatelítettség” fokozódásával mind emberben [239, 240], mind rágcsálókban [241, 242], így ez a tényező szerepet játszhat az általunk megfigyelt hatás kialakulásában. A kontroll csoport patkányaira ugyanakkor nem volt jellemző az édes ízre adott válaszok megváltozása a magasabb koncentráció esetén. Tudjuk, hogy a citokinek a melanokortin rendszer fenntartott aktivációjával, s a neuropeptid Y útvonal gátlásával nagyban befolyásolják az energiaegyensúlyt. Az anorexigén és orexigén peptidek egyensúlyának megbomlása az étvágy csökkenéséhez és a telítettségérzés növekedéséhez vezet [243, 244]. Mindebből arra következtethetünk, hogy az IL-1 β szerepet játszik abban, hogy a kezelt állatoknál korábban (kisebb energiabevitelnél) kialakult az a fajta telítettség, ami az édes íz hedonikus értékét csökkentette.

Megváltozott érzékelési küszöböt írtak le a *keserű* íz esetében, végstádiumú rákos betegeknél, s ez a hatás azon személyek esetében volt a legnyilvánvalóbb, akikben többek között az IL-1 β koncentrációja is magas volt [245]. Ez alapján feltételezhetjük, hogy jelen kísérletünkben, az umamihoz hasonlóan, a keserű íz esetében megfigyelt ízreaktivitás-változás háttérében is az íz érzékelési küszöbének eltolódása állhat.

Ismert, hogy az ízek közül az édes, a keserű és az umami azok, melyek az ízletesség és ezáltal az étel elfogadásának legfőbb meghatározói [17]. Ezen ízek megváltozott érzékelése vagy hedonikus értékük megváltozása tehát nagyban befolyásolja a betegek ételválasztását és étvágyát, s ezáltal hozzájárulhat a testtömeg fenntartásának nehézségeihez és anyagcserezavarok kialakulásához.

Az édes ízhez való velünk született vonzódás, valamint a keserű íz okozta averzió, s ezáltal ezen ízek ételválasztáshoz történő hozzájárulása ma már jól ismert evidencia [246-248], az umami íz érzékelésének fontosságára azonban csak az utóbbi évek kutatásai hívták fel a figyelmet: az umami íz percepciójának megtartottsága különösen fontos a táplálékfelvételi magatartás szerveződésében, valamint a jó fizikai kondíció fenntartásában [249]. Az umami ízt adó MSG, mely természetesen is jelen van számos ételféleségben, ízfokozóként is használatos az ételek ízletességének növelésére [250]. Umami specifikus ízlelési rendellenességgel küzdő páciensek (egyedül az umami íz érzékelésének elvesztése, a többi íz érzékelése rendben megtartott) az ételek íztelensége miatti étvágytalanságról, valamint az emiatt bekövetkező fogyásról és rossz általános egészségi állapotról számoltak be. Speciális, az umami ízérzékelésük helyreállítását célzó kezelés hatására ezen páciensek étvágya és testtömege is jelentős mértékben javult [251, 252]. Az umami íz érzékelésének a tápanyagok felismerésében és az emésztésben betöltött fontos szerepét hangsúlyozza az a tény is, hogy az umami ízt mediáló T1R receptorok nemcsak a szájüreg, hanem a gyomor és a duodenum nyálkahártya szöveteiben is megtalálhatók [253-255].

Laboratóriumunk egy másik, még nem publikált kísérletsorozatában, mikroelektrofiziológiai vizsgálatok során olyan neuronok jelenlétét mutattuk ki a cinguláris kéregben, melyek MSG oldat intraorális és intragasztrikus beadására megváltoztatják tüzelési frekvenciájukat, s ezen idegsejtek aktivitásváltozása kellemetlen ízoldatok beadására jóval nagyobb mértékű volt, mint az umamira nem válaszoló sejteké [256]. Ez a megfigyelés szintén alátámasztja az umami íznek a táplálékfelvételi magatartás szerveződésében betöltött szerepét, és megerősíti, hogy a cinguláris kéreg részt vesz a központi szabályozás ízérzékeléshez kapcsolódó folyamataiban.

Az intracerebrálisan mikroinjektált IL-1 β hatását már korábban is vizsgálta laboratóriumunk, más agyterületen. A citokint a jelenlegi kísérletünkben használttal azonos dózisban (7,5 ng) a VMH-ba juttatva szintén ízreaktivitás-változásokat írtak le [257], jelenlegi eredményeink az ACC-ben azonban csak részben egyeznek az ott tapasztaltakkal. A VMH-ba IL-1 β -t kapott állatok a kellemes ízekre kevesebb ingerstív és több averzív választ adtak, mint kontroll társaik, és az averzív válaszaik összességében is erősebbek voltak, mint az ingerstív reakciók ezekre a hedonikusan pozitív ízekre [257]. A cinguláris kéregben a magasabb koncentrációjú szukróz ízoldat esetén hasonló eredményt kaptunk – a kontrolloknál egyértelműen ízletesnek értékelt édes oldat az IL- β -kezelt állatok számára kevésbé volt pozitív –, az averzív válaszok aránya azonban nem volt nagyobb az ingerstívekhez képest, mint ahogy azt a VMH esetén leírták. Az alacsony koncentrációjú keserű és a magasabb koncentrációjú umami ízoldat esetén a citokin-kezelt állatok – szemben a kellemes stimulus negatívként történő értékelésével, ahogy az a VMH-ban megfigyelhető volt – az ízeket kellemesebbnek, ízletesebbnek találták. A különbség egyrészt a két struktúra eltérő funkcionális szerepével magyarázható: a VMH a klasszikusan „jóllakottság központ”-ként számontartott area, mely a táplálkozási magatartás számos alapvető élettani jelentőségű idegi és humorális tényezőjét szabályozza [258], míg az ACC a limbikus rendszer jutalmazó hálózatának részeként [259] a táplálkozási magatartás adaptív mechanizmusaihoz, a gördülékeny szabályozáshoz indirektebben, a táplálkozási folyamatokban érintett stimulusok érzelmi és hedonikus vonatkozásainak értékelése által járul hozzá [189]. Szintén megfontolandó a két régióban a GM sejtek eltérő aránya. Ezek az agy számos szintjén jelenlévő kemoszenzoros neuronok egy hierarchikus rendszert alkotva szorosan involváltak a táplálkozási magatartás szerveződésében, s azt is kimutatták, hogy nagy arányban IL-1 β -szenzitívek [83]. Több agyi régióban (LHA, GP, OFC) leírták az IL-1 β -ra reagáló GM sejtek ízválaszkésztségét [260]. Ezen GM sejtek aránya a VMH-ban egyharmad [261], míg a cinguláris kéregben minden tizedik idegsejt bizonyult a GM sejthálózat tagjának laboratóriumunk egysejtvezetési elektrofiziológiai kísérletei során [81]. A citokin által okozott homeosztatiszikus hatások is eltérnek a két régióban: a VMH-ban az IL-1 β – többek között – táplálkozási zavarokat és vércukorszint-emelkedést okozott [1, 230], míg az ACC-be adva sem a patkányok táplálékfelvételére, sem a vércukorszintjükre nem volt jelentős hatással. Figyelembe véve, hogy az ízingerek a szervezet aktuális élettani állapotától függően eltérő hedonikus válaszokat válthatnak ki [239], az IL-1 β által eredményezett eltérő ízreaktivitás-változások a két régióban az említett, szintén az IL-1 β által okozott homeosztatiszikus állapotbeli különbségekből is eredhetnek.

Feltételezhetjük tehát, hogy a cinguláris kérgi IL-1 β -mediálta folyamatok fontos szerepet játszanak az ízekre adott válaszreakciók létrejöttében, s ezáltal a táplálékfelvételi magatartás módosításában.

5. Kondicionált ízaverzió

Kondicionált ízaverzió tesztben vizsgáltuk az IL-1 β ízérzékeléshez köthető tanulási folyamatokra gyakorolt esetleges hatását. Eredményeink azt mutatják, hogy az ACC-be bilaterálisan mikroinjektált IL-1 β nem vezet CTA kialakulásához, valamint a LiCl-dal kiváltott ízaverziót sem befolyásolta. Eredményeink összhangban vannak kutatócsoportunk korábbi, a VMH-ban végzett vizsgálatainak eredményeivel, ahol az IL-1 β szintén nem okozott ízaverziót [257]. Intraperitoneálisan injektálva leírták enyhe ízaverziót kiváltó hatását, de a citokin hipofágiát okozó hatását csak kis százalékban tulajdonítják ennek a tanult averziónak [262]. Vannak ugyanakkor tanulmányok, melyek az IL-1 β CTA-t kiváltó hatását bizonyítják mind perifériás [263], mind icv. beadását követően [264]. Előbbi esetén azt is leírták, hogy az ip. adott IL-1 β , a beadást megelőzően elfogyasztott, az állat számára korábban ismeretlen ízű folyadék iránti preferenciát dózisfüggő módon csökkentette [263]. Az ip. injektált IL-1 β CTA-t indukáló képességét nagy valószínűséggel a vagus közvetíti, mivel szubdiafragmatikus vagusátmetszéssel meggátolható ez a hatás [265]. A centrálisan beadott IL-1 β -t illetően nincs bizonyíték a CTA-t kiváltó hatás dózisfüggő voltára. Janz és mtsai tanulmányában [264] az icv. injektált IL-1 a jelen kísérletünkben az ACC-be adott IL-1 β dóziséval összevethető (5 ng vs. 7,5 ng), s CTA kialakulásához vezetett. A fentiek alapján azt mondhatjuk, hogy az IL-1 β bizonyos körülmények között kondicionált ízaverziót válthat ki, de – legalábbis az általunk alkalmazott dózisban – a cinguláris kéregben nincs ilyen, az ízleléshez kapcsolódó tanulási folyamatban betöltött szerepe.

6. Magatartási kísérletek: open field és helypreferencia teszt

Az ízleléshez kapcsolódó folyamatok vizsgálata mellett az ACC-be mikroinjektált IL-1 β általános magatartási hatásaira is kíváncsiak voltunk. Open field tesztet végeztünk a citokinnek az állatok lokomotoros aktivitására kifejtett hatásának vizsgálatára. Eredményeink azt mutatják, hogy az IL-1 β az alkalmazott dózisban nem csökkentette az állatok aktivitását (a

szaglászást, az apparátus középső és szélső részén történő keresztezések számát és az egyes részekben eltöltött időt tekintve nem találtunk szignifikáns eltérést a csoportok között), sőt, növelte az explorációs tevékenységet (lokomóció, ágaskodás). Feltételezhető hogy a citokinnek a lokomotoros aktivitásra kifejtett hatása dózisfüggő: míg az IL-1 β ip. injektált magasabb dózisa (100 ng vagy magasabb) egérben csökkentették a keresztezések számát open field teszt során, a legalacsonyabb alkalmazott dózisban (30 ng) a lokomotoros aktivitás emelkedése volt megfigyelhető [266]. Szintén dózisfüggőként jellemezték az icv. adott IL-1 β patkányok emelt keresztpalló tesztben megfigyelt viselkedésére való hatását: míg 100 ng IL-1 β anxiogén hatásának bizonyult, a 0,01 és 10 ng közötti dózisok csökkentették a szorongás mértékét [267]. Ezen eredmények összevethetők a jelen kísérleteinkben, az ACC-be történő IL-1 β beadást követően tapasztaltakkal, ahol a citokin 7,5 ng-os dózisa növelte az állatok lokomotoros aktivitását. Ez azt jelenti, hogy a jelen kísérletsorozatunkban, az ízreaktivitás tesztben kapott eredményeink nem csupán a citokin bevezetőben említett, jól ismert hatásainak (*sickness behavior*, szorongás, csökkent lokomóció) következményei.

Az ACC-be adott IL-1 β potenciális negatív vagy pozitív megerősítő hatását kondicionált helypreferencia tesztben vizsgáltuk. Sem helypreferencia, sem helyaverzió nem volt megfigyelhető az alkalmazott dózisban, ami azt jelenti, hogy az IL-1 β sem olyan negatív, sem olyan pozitív megerősítő hatást nem fejtett ki, amely befolyásolhatta volna az állatok ízválaszkészségéhez köthető viselkedését. Ez az eredmény a CTA kísérletünk eredményével is összhangban van, ahol az IL-1 β nem váltott ki kondicionált ízaverziót. Az irodalomban is találunk arra vonatkozó adatot, hogy az IL-1 β nem befolyásolja a szukrózzal kiváltott helypreferenciát, annak ellenére, hogy a szukrózfogyasztást csökkenti [15]. Ez azt jelenti, hogy elkülöníthető a citokin elsődleges és kondicionált megerősítő stimulusként megnyilvánuló hatása.

VII. Eredmények összefoglalása

Az IL-1 β ACC-be történő bilaterális mikroinjekcióját követő eredményeinket az alábbiakban foglalhatjuk össze:

1. Az IL-1 β nem befolyásolta szignifikánsan sem az állatok táplálék-, sem vízfelvételét.
2. Az IL-1 β szignifikáns emelkedést okozott az állatok testhőmérsékletében.
3. Paracetamol előkezeléssel a testhőmérséklet-emelkedés kivédhető volt, azaz, az IL-1 β hatásmechanizmusában a prosztaglandin-mediálta folyamatok szerepét igazolni tudtuk.
4. GTT során nem mutatkozott szignifikáns eltérés az állatok vércukorszintjében az IL-1 β kezelés hatására.
5. Az IL-1 β hatására szignifikáns csökkenés történt a HDL és összkoleszterin plazmaszintjében.
6. Ízreaktivitás tesztben az IL-1 β kezelés hatására eltéréseket mutattunk ki az állatok ízválaszkészségében az alacsony koncentrációjú kinin, a magasabb koncentrációjú MSG és a magasabb koncentrációjú szukróz izoldatok esetében.
7. Az IL-1 β hatására nem alakult ki kondicionált ízaverzió.
8. A LiCl-dal kiváltott CTA-t nem befolyásolta a citokin mikroinjekciója.
9. Open field tesztben az IL-1 β fokozta a patkányok explorációs tevékenységét (lokomóció, ágaskodás).
10. Helypreferencia tesztben sem az IL-1 β vonatkozásában sem pozitív (helypreferencia), sem pedig negatív megerősítő hatás (helyaverzió) nem igazolódott.

VIII. Konklúzió

Az ACC-be bilaterálisan mikroinjektált IL-1 β hatására jelentős homeosztatis és magatartásbeli eltéréseket figyeltünk meg a vizsgált állatokban. A citokin befolyásolta az állatok testhőmérsékletét, zsíryanycseréjét, változásokat okozott azon ízek hedonikus értékelésében, melyek az ízletesség, s ezáltal az étel elfogadásának legfőbb meghatározói, s fokozta az állatok explorációs tevékenységét.

Eredményeink felhívják a figyelmet az IL-1 β -mediálta folyamatok homeosztázis fenntartásában és a táplálkozási magatartás központi szabályozásában való érintettségére ebben az elsősorban emocionális és kognitív funkciókban betöltött szerepéről ismert, a táplálkozás és anyagcsere területén kevésbé kutatott kérgi régióban. Az ACC az e funkciókban alapvető szerepet betöltő agyterületekkel való szoros kölcsönkapcsolatai révén is egy hierarchikusan felépülő szabályozó rendszer részét képezi, s a működésében fellépő zavarok a homeosztázis egyensúlyának felborulásához, a táplálkozási magatartás megváltozásához és anyagcserezavarok kialakulásához vezethetnek.

Kutatásaink eredményei megerősíteni látszanak azt a bevezetőben felvetett hipotézist, miszerint a táplálkozási és anyagcsere megbetegedések (diabetes mellitus, anorexia és bulimia nervosa, metabolikus szindróma, kóros elhízás stb.) hátterében a perifériás eltérések mellett a központi idegrendszeri szabályozás zavarai legalább olyan fontos tényezőként szerepelnek. Kulcsfontosságúnak tartjuk tehát ezen, mára már népbetegséggé vált megbetegedések tüneteinek gyógyszeres kezelésére irányuló törekvések mellett az érintett agyterületek funkcionális eltéréseinek megismerésére vonatkozó kutatásokat. Eredményeink a táplálkozás és anyagcsere szabályozásában „klasszikusan” alapvetőnek tartott struktúrák széleskörű vizsgálatán túl a kapcsolódó régiók ilyen irányú kutatásának fontosságára is felhívják a figyelmet.

Reményeink szerint vizsgálataink hozzájárulhatnak ezen komplex, szerteágazó szabályozási rendszer részletesebb megismeréséhez, s a jövőben új, a fent említett betegségek megelőzését és gyógyítását célzó eljárások kidolgozásához.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni mindenekelőtt témavezetőmnek, Prof. Dr. Karádi Zoltánnak, az Élettani Intézet korábbi igazgatójának belém vetett megtisztelő bizalmáért, szakmai iránymutatásáért, alapos, lelkiismeretes munkájáért és mindenkori támogatásáért.

Köszönet illeti Prof. Dr. Lénárd Lászlót, aki lehetővé tette a Doktori Iskolához való csatlakozásomat, s akinek támogató segítségére szintén bármikor számíthattam az évek során.

Hálával tartozom Hormay Edina és Dr. Szabó István egyetemi tanársegédek, Dr. Nagy Bernadett egyetemi adjunktus és Fuchs Ildikó szakasszisztensnő áldozatos munkájáért, az időnként éjszakába nyúló kísérletek során nyújtott rengeteg segítségért. Köszönöm továbbá Mintál Kitti PhD hallgató, s az évek során a kutatócsoportunkhoz csatlakozó diákkörös hallgatók számos kísérlet elvégzésében és elemzésében nyújtott segítségét.

Köszönöm szépen Dr. Ollmann Tamás és Dr. Péczely László egyetemi adjunktusoknak a magatartási tesztek elvégzéséhez és elemzéséhez nyújtott segítségét. Köszönettel tartozom Kovácsné Korona Erzsébet laboratóriumi asszisztensnőnek a szövettani feldolgozás során végzett nélkülözhetetlen munkájáért.

Végül, de nem utolsósorban köszönet illeti férjemet s kollégámat, Dr. László Kristóf egyetemi docenset, aki hasznos szakmai tanácsokkal látott el, ösztönzött, s akire mindenkor támaszkodhattam.

Publikációs jegyzék

összesített impakt faktor: 26,987

I. Folyóiratcikkek

A. A disszertáció alapjául szolgáló folyóiratcikkek

Food and Water Intake, Body Temperature and Metabolic Consequences of interleukin-1 β Microinjection Into the Cingulate Cortex of the Rat

B Csetényi, E Hormay, I Szabó, G Takács, B Nagy, K László, Z Karádi

Behav Brain Res. 2017 Jul 28;331:115-122.doi: 10.1016/j.bbr.2017.05.041. Epub 2017 May 17.

IF: 3,173

Homeostatic significance of interleukin-1 β in the cingulate cortex

Bettina Csetényi and Zoltán Karádi

Temperature (Austin). 2018; 5(2): 106–108. doi: 10.1080/23328940.2017.1420999. Published online 2018 Feb 15.

Disturbance of taste reactivity and other behavioral alterations after bilateral interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat

László BR, Hormay E, Szabó I, Mintál K, Nagy B, László K, Péczely L, Ollmann T, Lénárd L, Karádi Z.

Behav Brain Res. 2020 Apr 6;383:112537. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112537. Epub 2020 Feb 4. PMID: 32032742

IF: 2,977

B. Egyéb folyóiratcikkek

Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex

Bernadett Nagy, István Szabó, Bettina Csetényi, Edina Hormay, Szilárd Papp, Dóra Keresztes, Zoltán Karádi

Brain Res. 2014 Jan 16;1543:159-64. doi: 10.1016/j.brainres.2013.11.014. Epub 2013 Nov 16.

IF: 2,843

Impaired glucose tolerance after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex of the rat.

Nagy B, Szabó I, Takács G, Csetényi B, Hormay E, Karádi Z.

Physiol Int. 2016 Dec;103(4):403-412. doi: 10.1556/2060.103.2016.4.5.

IF: 0,571

A medialis ventrolateralis praefrontalis (orbitofrontalis) kéreg glükózmonitorozó idegsejtjei szerepet játszanak a homeosztázis fenntartásában

Szabó I, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z

Orv Hetil. 2017 May;158(18):692-700. doi: 10.1556/650.2017.30767.

IF: 0,322

Multiple functional attributes of glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex.

Szabo I, Hormay E, Csetenyi B, Nagy B, Lenard L, Karadi Z

NEUROSCIENCE AND BIOBEHAVIORAL REVIEWS 85: pp. 44-53. (2018)

IF: 8,002

The role of intraamygdaloid neurotensin and dopamine interaction in conditioned place preference.

Laszlo K, Peczely L, Kovacs A, Zagoracz O, Ollmann T, Kertes E, Kallai V, Csetenyi B, Karadi Z, Lenard L

BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 344: pp. 85-90. (2018)

IF: 2,77

The effect of loss of the glucose-monitoring neurons in the anterior cingulate cortex: physiologic challenges induce complex feeding-metabolic alterations after local streptozotocin microinjection in rats.

Hormay, Edina; László, Bettina; Szabó, István; Ollmann, Tamás; Nagy, Bernadett; Péczely, László; Mintál, Kitti; Karádi, Zoltán

NEUROSCIENCE RESEARCH (2019)

IF: 2,645

The role of D2 dopamine receptors in oxytocin induced place preference and anxiolytic effect.

Laszlo, K., Peczely, L., Geczi, F., Kovacs, A., Zagoracz, O., Ollmann, T., Kertes, E., Kallai, V., Laszlo, B., Berta, B., Karadi, Z., Lenard, L.

Horm Behav, 2020. 124: p. 104777.

IF: 3,684

II. Egyéb publikációk

Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai az orbitofrontalis kéregben

Dr. Szabó István, Dr. Nagy Bernadett, Csetényi Bettina, Hormay Edina, Bajnok Góré Márk, Prof. Dr. Karádi Zoltán

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

II. INTERDISZCIPLINÁRIS DOKTORANDUSZ KONFERENCIA 2013, Konferenciakötet, 435. oldal, ISBN 978-963-642-598-2

Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció hatása a táplálkozásra és anyagcserére laboratóriumi patkányban

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Bajnok Góré Márk, Hideg Barnabás és Karádi Zoltán

III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2014. Konferenciakötet ISBN 978-963-642-741-2 Pécs, 2015.

A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának hatása a glukóz toleranciára laboratóriumi patkányban

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Nagy Bernadett, Hideg Barnabás, Bajnok Góré Márk és Karádi Zoltán

III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2014. Konferenciakötet ISBN 978-963-642-741-2 Pécs, 2015.

A cinguláris kérgi glukóz monitorozó neuronok szerepe a táplálkozás és anyagcsere szabályozásban

Hormay E, Csetényi B, Szabó I, Nagy B, Torda V, Tóth M, Karádi Z

OBESITOLOGIA HUNGARICA 16:(Suppl) p. 14. (2017)

Íz-érzékelés a gasztrointesztinális rendszerben

Szabó I, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z.

Tavaszi Szél 2018 – Tanulmánykötet (2018)

Endogenous and exogenous chemical responsiveness in nucleus accumbens

Szabó I, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z.

VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia – Tanulmánykötet (2018)

III. Konferencia-részvétel

A. Előadások

Interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex induces homeostatic changes in the rat

Bettina Csetényi, Edina Hormay, Bernadett Nagy, István Szabó, Márk Bajnok Góré, Barnabás Hideg, and Zoltán Karádi

2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013 Pécs

Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai az orbitofrontalis kéregben

Szabó, I., Nagy, B., Csetényi, B., Hormay, E., Bajnok Góré, M., Karádi, Z.

IDK 2013 Pécs

Complex functional attributes of neurons in the cingulate cortex of the rat

Hormay, E., Csetényi, B., Szabó, I., Nagy, B., Bajnok Góré, M., Karádi Z.

2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013 Pécs

Metabolic alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex

Nagy, B., Szabó, I., Csetényi, B., Hormay, E., Bajnok Góré, M., Karádi Z.

Hungary

2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013 Pécs

IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásai patkány cinguláris kérgében

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Bajnok Góré Márk, Hideg Barnabás, Karádi Zoltán

A Pécsi Tudományegyetem Idegtudományi Centrum (PTE IC) Tudományos Diákköri és Doktorandusz Konferenciája, 2014 Pécs

Patkány cinguláris kérgébe adott IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásainak vizsgálata

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Karádi Zoltán

Tavaszi Szél Konferencia 2015, Eger

Absztraktkötet: ISBN: 978-963-397-702-6

Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásainak vizsgálata patkányban
Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Tóth Mátyás, Torda Viktor,
Karádi Zoltán

Doctoral Workshop 2015, Pécs

Glukóz tolerancia változások laboratóriumi patkányban cinguláris kérgi streptozotocin mikroinjekciót követően

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Nagy Bernadett, Karádi Zoltán

Tavaszi Szél Konferencia 2015, Eger

Absztraktkötet: ISBN: 978-963-397-702-6

A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Nagy Bernadett, Karádi Zoltán

Tavaszi Szél Konferencia 2015, Eger

Absztraktkötet: ISBN: 978-963-397-702-6

Effect of stress associated neurotransmitters on the mediodorsal prefrontal cortex

B Nagy, I Szabó, B Csetényi, E Hormay, Z Karádi

5th International Regional (North America) ISBS Neuroscience and Biological Psychiatry „Stress and Behavior” Conference, Miami, FL, USA, 2015

Complex functional attributes of orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons

István Szabó, Edina Hormay, Bettina Csetényi, Viktor Torda, Mátyás Tóth, Zoltán Karádi
CECON 2015, Budapest

OBESITOLOGIA HUNGARICA 14:(Suppl2) p. 58. (2015)

A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek metabolikus és magatartási funkcióinak vizsgálata patkányban

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Torda Viktor, Tóth Mátyás, Karádi Zoltán

Doctoral Workshop 2015, Pécs

Patkány cinguláris kérgi glukóz-monitorozó neuronok táplálkozási és metabolikus szerepe

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Nagy Bernadett, Szabó István, Torda Viktor, Tóth Mátyás és
Karádi Zoltán

Doctoral Workshop 2015, Pécs

Glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal cortex of rat

Istvan Szabo, Edina Hormay, Bettina Csetenyi, Zoltan Karadi
IBNS 2016 Annual Meeting, Budapest, 2016

A mediális orbitofrontális kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek metabolikus szerepe a homeosztázis szabályozásában

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
Tavaszi Szél Konferencia, Miskolc, 2017

A cinguláris kérgi glukóz monitorozó neuronok szerepe a táplálkozás és anyagcsere szabályozásban

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Karádi Zoltán
A Magyar Elhízástudományi Társaság 25. éves Jubileumi Kongresszusa, Budapest, 2017
OBESITOLOGIA HUNGARICA 16:(Suppl1) p. 14. ISSN 1586-7935 (2017)

Az interleukin-1 β ízpercepciót módosító hatása patkány cinguláris kérgében

CSETÉNYI Bettina Réka, Hormay Edina, Szabó István, Mintál Kitti, Karádi Zoltán
Tavaszi Szél Konferencia, 2018, Győr

Ízérvékelés a gasztrointesztinális rendszerben?

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
Tavaszi Szél Konferencia 2018, Győr, 2018

Taste responsiveness of neurons in nucleus accumbens

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2018

A nucleus accumbens ízérvékelésben betöltött szerepének vizsgálata elektrofiziológiai módszerekkel szabadon mozgó patkányokban

Szabó István, Hormay Edina, László Bettina, Karádi Zoltán
XXII. Tavaszi Szél Konferencia, Debrecen, 2019

Limbikus előagyi neuronok szerepe a táplálkozás és az anyagcsere szabályozásában

Szabó István, Hormay Edina, László Bettina, Lénárd László, Karádi Zoltán
Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Anatómus Társaság, Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság, Magyar Élettani Társaság közös Vándorgyűlése (FAMÉ 2019), Budapest, 2019

B. Poszter-prezentációk

Endogén és exogén kémiai ingerek hatása az umami-érzékeny idegsejtekre patkány cinguláris kérgében

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Szabó István, Nagy Bernadett, Hideg Barnabás, Faragó Bence, Bajnok Góré Márk, Karádi Zoltán
MÉT 2012 Debrecen

Patkány cinguláris kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek exogén és endogén kémiai érzékenysége

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Nagy Bernadett, Faragó Bence, Hideg Barnabás, Bajnok Góré Márk és Karádi Zoltán
MÉT 2012 Debrecen

Homeostatic alterations after IL-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat

Bettina Csetényi, Edina Hormay, Bernadett Nagy, István Szabó, Márk Bajnok Góré, Barnabás Hideg, and Zoltán Karádi
MITT 2013 Budapest

A cinguláris kéregbe adott IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásai patkányban

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Bajnok Góré Márk, Hideg Barnabás, Karádi Zoltán
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Pécs
MÉT 2013 Budapest

Catecholamine responsiveness of glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat

Edina Hormay, Bettina Csetényi, István Szabó, Bernadett Nagy, Barnabás Hideg, Márk Bajnok Góré and Zoltán Karádi
MITT 2013 Budapest

Endogenous and exogenous chemical responsiveness in the medial orbitofrontal cortex

Szabó, I., Nagy, B., Csetényi, B., Hormay, E., Bajnok Góré, M., Karádi, Z.
MITT 2013 Budapest

A glukóz-monitorozó idegsejtek katekolamin érzékenysége és intraorális íz-ingerlésre adott válaszai patkány cinguláris kérgében

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Nagy Bernadett, Hideg Barnabás, Bajnok Góré Márk, Karádi Zoltán
MÉT 2013 Budapest

Kóros glukóz tolerancia a mediodorzális prefrontális kéreg streptozotocin mikroinjekcióját követően patkányban

Nagy Bernadett, Szabó István, Csetényi Bettina, Hormay Edina, Bajnok Góré Márk, Karádi Zoltán
MÉT 2013 Budapest

Medialis és lateralis orbitofrontalis kérgi idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai

Szabó, I., Nagy, B., Csetényi, B., Hormay, E., Bajnok Góré, M., Karádi, Z.
MÉT 2013 Budapest

Neurochemical responsiveness and taste sensitivity of neurons in the medial and lateral orbitofrontal cortex of the rat

Szabó, I., Nagy, B., Csetényi, B., Hormay, E., Bajnok Góré, M., Karádi Z.
2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013 Pécs

Feeding and metabolic consequences of IL-1 β microinjection into the cingulate cortex in the rat

Bettina Csetényi, Edina Hormay, Bernadett Nagy, István Szabó, Márk Bajnok Góré, Barnabás Hideg, and Zoltán Karádi
IBRO 2014 Debrecen

Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció hatásai a táplálkozásra és anyagcserére laboratóriumi patkányban

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Nagy Bernadett, Szabó István, Bajnok Góré Márk, Hideg Barnabás, Karádi Zoltán
IDK 2014 Pécs

IL-1 β modifies the taste reactivity in the cingulate cortex of the rat

Bettina Csetényi, Edina Hormay, Bernadett Nagy, István Szabó, Márk Bajnok Góré, and Zoltán Karádi
FEPS-MÉT 2014 Budapest
ACTA PHYSIOLOGICA 211:(697) pp. 143-144. (2014)

Streptozotocin microinjection into the cingulate cortex alters glucose tolerance in the rat
Edina Hormay, Bettina Csetényi, István Szabó, Bernadett Nagy, Barnabás Hideg, Márk Bajnok Góré and Zoltán Karádi
IBRO 2014 Debrecen

Metabolic Effects of Local Microinjection of Streptozotocin into the Mediodorsal Prefrontal Cortex
Bernadett Nagy, István Szabó, Bettina Csetényi, Edina Hormay, Márk Bajnok Góré and Zoltán Karádi
IBRO 2014 Debrecen

Nucleus Accumbens and Orbitofrontal Cortex: Endogenous and Exogenous Chemical Responsiveness of Neurons in the Rat
István Szabó, Bernadett Nagy, Edina Hormay, Bettina Csetényi, Márk Bajnok Góré, Zoltán Karádi
IBRO 2014 Debrecen

A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának hatása a glukóz toleranciára laboratóriumi patkányban
Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Nagy Bernadett, Hideg Barnabás, Bajnok Góré Márk és Karádi Zoltán
IDK 2014 Pécs

Complex functional attributes of glucose-monitoring neurons in medial orbitofrontal cortex and their homeostatic significance
István Szabó, E. Hormay, B. Csetényi, B. Nagy, M. Bajnok Góré, Z. Karádi
FEPS-MÉT 2014, Budapest
ACTA PHYSIOLOGICA 211:(697) p. 150. (2014)

Complex functional attributes of cingulate cortex glucose-monitoring neurons and their metabolic significance
Edina Hormay, B. Csetényi, I. Szabó, B. Nagy, B. Hideg, M.B. Góré, Z. Karádi
FEPS-MÉT 2014, Budapest
ACTA PHYSIOLOGICA 211:(697) p. 144. (2014)

Cingulate cortex IL-1 β mediated mechanisms in the regulation of feeding and metabolism in the rat
Bettina Csetényi, Edina Hormay, Bernadett Nagy, István Szabó, Mátyás Tóth, Viktor Torda, Zoltán Karádi
CECON 2015, Budapest
OBESITOLOGIA HUNGARICA 14:(Suppl2) pp. 57-58. (2015)

A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának metabolikus hatása laboratóriumi patkányban

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Nagy Bernadett, Szabó István, Karádi Zoltán
A MÉT 79. Vándorgyűlése és a MMVBT 2015. évi Konferenciája, Szeged

A medialis orbitofrontalis kéregbe adott streptozotocin mikroinjekció metabolikus és magatartási hatásai patkányban

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Nagy Bernadett, Karádi Zoltán
A MÉT 79. Vándorgyűlése és a MMVBT 2015. évi Konferenciája, Szeged

Medial Orbitofrontal Cortex: Complex Functional Attributes of Glucose-Monitoring Neurons and Their Metabolic Significance

István Szabó, Edina Hormay, Bettina Csetényi, Bernadett Nagy, Márk Bajnok Góré, Zoltán Karádi
MITT; Budapest, 2015

Glucose-monitoring neurons of the rat cingulate cortex: feeding and metabolic significance

Edina Hormay, Bettina Csetényi, István Szabó, Bernadett Nagy, Viktor Torda, Mátyás Tóth, Zoltán Karádi
CECON 2015, Budapest
OBESITOLOGIA HUNGARICA 14:(Suppl2) pp. 57. (2015)

Cinguláris kérgi interleukin-1 β mikroinjekció íz-percepciót módosító hatásának vizsgálata patkányban

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Szabó István, Nagy Bernadett, Karádi Zoltán
FAMÉ 2016, Pécs

Patkány cinguláris kérgi glukóz-monitorozó neuronok elektrofiziológiai sajátosságai és metabolikus jelentősége

Hormay Edina, Csetényi Bettina, Szabó István, Karádi Zoltán
FAMÉ 2016 Pécs

A glukóz-monitorozó neuronok komplex funkcionális sajátosságai a medialis orbitofrontalis kéregben

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Nagy Bernadett, Karádi Zoltán
Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ 2016), Pécs, 2016

Cinguláris kérgi interleukin-1 β mikroinjekció metabolikus hatásai patkányban

Csetényi Bettina, Hormay Edina, Szabó István, Karádi Zoltán
ÉFM (MÉT) 2017, Debrecen

Metabolic effects of interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat

Csetényi B., Hormay E, Szabó I, Karádi Z
FENS; Pécs, 2017

Metabolic alterations after interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat

Bettina Csetényi, Edina Hormay, István Szabó, Zoltán Karádi
CECON; Pozsony, 2017

A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó neuronok szerepe a homeosztázis fenntartásában

Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
ÉFM (MÉT); Debrecen, 2017

Multiple functional significance of the glucose-monitoring neuronal network in the medial orbitofrontal cortex

Istvan Szabo, Edina Hormay, Bettina Csetenyi, Zoltan Karadi
IBNS; Hiroshima, 2017

Feeding and metabolic attributes of the glucose monitoring-neurons in the cingulate cortex

Edina Hormay, Bettina Csetényi, István Szabó, Zoltán Karádi
FENS; Pécs, 2017

The role of medial orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis

István Szabó, Edina Hormay, Bettina Csetényi, Zoltán Karádi
FENS, Pécs, 2017

Feeding and metabolism altering attributes of the glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat

Edina Hormay, Bettina Csetényi, István Szabó, Zoltán Karádi
CECON; Pozsony, 2017

Íz-reaktivitás változások patkány cinguláris kérgébe adott interleukin-1 β hatására
Csetényi Bettina, Hormay Edina, Szabó István, Mintál Kitti, Karádi Zoltán
MÉT, Szeged, 2018

The role of intraamygdaloid oxytocin in novel object recognition memory
László K., Ollmann T., Kovács A., Zagoracz O., Péczely L., Kertes E., Csetényi B., Karádi Z.,
Lénárd L.
Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Szeged, 2018

Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai a nucleus accumbens-ben
Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Szeged, 2018

Endogenous and exogenous chemical responsiveness in nucleus accumbens
Szabó István, Hormay Edina, Csetényi Bettina, Karádi Zoltán
VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia (IDK), Pécs, 2018

New methodological approach for the examination of taste and texture detection of neurons
Szabó István, Hormay Edina, László Bettina, Karádi Zoltán
Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2018 (MEDPécs), Pécs,
2018

Taste reactivity alterations after interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat
Bettina Réka László, Edina Hormay, István Szabó, Kitti Mintál, Zoltán Karádi
MITT, Debrecen, 2019

Glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. – Microelectrophysiological study
Edina Hormay, Bettina László, István Szabó, Kitti Mintál, Zoltán Karádi
16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT), Debrecen, 2019

Inhibition of dopamine D2 receptors can alter the positive reinforcing and anxiolytic effects of oxytocin
Kristóf László, Tamás Ollmann, Olga Zagoracz, László Péczely, Erika Kertes, Anita Kovács,
Veronika Kállai, Bettina Réka László, Beáta Berta, Zoltán Karádi, László Lénárd
16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT), Debrecen, 2019

Electrophysiological examination of underlying neuronal mechanisms of taste reactivity in the nucleus accumbens of behaving rats

Istvan Szabo, Edina Hormay, Bettina Laszlo, Zoltan Karadi

16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT), Debrecen, 2019

Electrophysiological examination of neurons during taste reactivity test in the nucleus accumbens and medial orbitofrontal cortex of the rat

Istvan Szabo, Edina Hormay, Bettina Laszlo, Zoltan Karadi

13th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Németország, 2019

Examination of the role of neurons in taste reactivity

István Szabó, Edina Hormay, Bettina László, Zoltán Karádi

Interdisciplinary Doctoral Conference (IDK) 2019, Pécs

Behavioral alterations after bilateral microinjection of interleukin-1 β into the cingulate cortex of the rat

Bettina Réka László, Edina Hormay, István Szabó, Kitti Mintál, Kristóf László, László Péczely, Tamás Ollmann, László Lénárd and Zoltán Karádi

IBRO, Szeged, 2020

Intraamygdaloid oxytocin reduces anxiety in valproate-induced autism model

László Kristóf, Géczi Fanni, Ollmann Tamás, Kovács Anita, Péczely László, László Bettina, Kállai Veronika, Kertes Erika, Berta Beáta, Karádi Zoltán, Lénárd László

IBRO, Szeged, 2020

Irodalomjegyzék

1. Kent, S., et al., *Reduction in food and water intake induced by microinjection of interleukin-1 beta in the ventromedial hypothalamus of the rat*. *Physiol Behav*, 1994. **56**(5): p. 1031-1036.
2. Langhans, W., D. Savoldelli, and S. Weingarten, *Comparison of the feeding responses to bacterial lipopolysaccharide and interleukin-1 beta*. *Physiol Behav*, 1993. **53**(4): p. 643-9.
3. Plata-Salaman, C.R., Y. Oomura, and Y. Kai, *Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system*. *Brain Res*, 1988. **448**(1): p. 106-14.
4. Karadi, Z., et al., *Homeostatic alterations after intrapallidal microinjection of interleukin-1beta in the rat*. *Appetite*, 2005. **44**(2): p. 171-80.
5. Dascombe, M.J., et al., *Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1 beta in the rat*. *Am J Physiol*, 1989. **256**(1 Pt 1): p. E7-11.
6. Lukats, B., et al., *Homeostatic alterations induced by interleukin-1beta microinjection into the orbitofrontal cortex in the rat*. *Appetite*, 2005. **45**(2): p. 137-47.
7. Ovadia, H., O. Abramsky, and J. Weidenfeld, *Evidence for the involvement of the central adrenergic system in the febrile response induced by interleukin-1 in rats*. *J Neuroimmunol*, 1989. **25**(2-3): p. 109-16.
8. Takacs, G., et al., *Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat*. *Appetite*, 2010. **54**(2): p. 354-362.
9. Bendtzen, K., et al., *Cytotoxicity of human pI 7 interleukin-1 for pancreatic islets of Langerhans*. *Science*, 1986. **232**(4757): p. 1545-7.
10. del Rey, A. and H. Besedovsky, *Interleukin 1 affects glucose homeostasis*. *Am J Physiol*, 1987. **253**(5 Pt 2): p. R794-8.
11. del Rey, A., et al., *Metabolic and endocrine effects of interleukin-1 in obese, diabetic Zucker fa/fa rats*. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1996. **104**(4): p. 317-26.
12. Hermus, A.R., et al., *Continuous infusion of interleukin-1 beta in rats induces a profound fall in plasma levels of cholesterol and triglycerides*. *Arterioscler Thromb*, 1992. **12**(9): p. 1036-43.
13. Aubert, A. and R. Dantzer, *The taste of sickness: lipopolysaccharide-induced finickiness in rats*. *Physiol Behav*, 2005. **84**(3): p. 437-44.
14. Cohn, Z.J., et al., *Lipopolysaccharide-induced inflammation attenuates taste progenitor cell proliferation and shortens the life span of taste bud cells*. *BMC Neurosci*, 2010. **11**: p. 72.
15. Larson, S.J., *Lipopolysaccharide and interleukin-1beta decrease sucrose intake but do not affect expression of place preference in rats*. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006. **84**(3): p. 429-35.
16. Musialik, J., et al., *Taste and appetite disorders in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. *Journal of Hepatology*, 2017. **66**(1): p. S417-S417.

17. Musialik, J., et al., *Taste and appetite disorders of chronic hepatitis C patients*. European Journal of Gastroenterology & Hepatology, 2012. **24**(12): p. 1400-1405.
18. Schalk, P., et al., *Influence of cancer and acute inflammatory disease on taste perception: a clinical pilot study*. Support Care Cancer, 2018. **26**(3): p. 843-851.
19. Tataranni, P.A., et al., *Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(8): p. 4569-74.
20. Farrell, M.J., et al., *Effect of aging on regional cerebral blood flow responses associated with osmotic thirst and its satiation by water drinking: a PET study*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(1): p. 382-7.
21. Bie-Olsen, L.G., et al., *Changes of Cognition and Regional Cerebral Activity During Acute Hypoglycemia in Normal Subjects: A H-2 O-15 Positron Emission Tomographic Study*. Journal of Neuroscience Research, 2009. **87**(8): p. 1922-1928.
22. Martin, L.E., et al., *Neural mechanisms associated with food motivation in obese and healthy weight adults*. Obesity (Silver Spring), 2010. **18**(2): p. 254-60.
23. Stoeckel, L.E., et al., *Widespread reward-system activation in obese women in response to pictures of high-calorie foods*. Neuroimage, 2008. **41**(2): p. 636-47.
24. Grabenhorst, F., et al., *How the brain represents the reward value of fat in the mouth*. Cereb Cortex, 2010. **20**(5): p. 1082-91.
25. Rolls, E.T., *Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion*. Acta Physiol Hung, 2008. **95**(2): p. 131-64.
26. Rolls, E.T., *Taste, olfactory and food texture reward processing in the brain and the control of appetite*. Proc Nutr Soc, 2012. **71**(4): p. 488-501.
27. László, L., *Élettani szükségletek*, in *Affektív pszichológia*, V.K. Bányai Éva, Editor. 2013, Medicina: Budapest.
28. Oomura, Y., et al., *Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus*. Nature, 1969. **222**(5190): p. 282-4.
29. Hall, J.E., *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 13th ed. 2016.
30. Valenstein, E.S., V.C. Cox, and J.W. Kakolewski, *Modification of motivated behavior elicited by electrical stimulation of the hypothalamus*. Science, 1968. **159**(3819): p. 1119-21.
31. Wayner, M.J., *Motor control functions of the lateral hypothalamus and adjunctive behavior*. Physiol Behav, 1970. **5**(11): p. 1319-25.
32. Teitelbaum, P. and A.N. Epstein, *The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions*. Psychol Rev, 1962. **69**: p. 74-90.
33. Anand, B.K. and J.R. Brobeck, *Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat*. Proc Soc Exp Biol Med, 1951. **77**(2): p. 323-4.
34. Karadi, Z., et al., *Complex attributes of lateral hypothalamic neurons in the regulation of feeding of alert rhesus monkeys*. Brain Res Bull, 1990. **25**(6): p. 933-9.
35. Norgren, R., *Gustatory responses in the hypothalamus*. Brain Res, 1970. **21**(1): p. 63-77.

36. Rolls, E.T., M.K. Sanghera, and A. Roper-Hall, *The latency of activation of neurones in the lateral hypothalamus and substantia innominata during feeding in the monkey*. Brain Res, 1979. **164**: p. 121-35.
37. Hoebel, B.G. and P. Teitelbaum, *Weight regulation in normal and hypothalamic hyperphagic rats*. J Comp Physiol Psychol, 1966. **61**(2): p. 189-93.
38. Hetherington, A.W. and S.W. Ranson, *Hypothalamic-Lesions and Adiposity in the Rat*. Nutrition Reviews, 1983. **41**(4): p. 124-127.
39. Morgane, P.J., *Electrophysiological studies of feeding and satiety centers in the rat*. Am J Physiol, 1961. **201**: p. 838-44.
40. Fonberg, E., *Amygdala functions within the alimentary system*. Acta Neurobiol Exp (Wars), 1974. **34**(3): p. 435-66.
41. Morgane, P.J. and A.J. Kosman, *Alterations in feline behaviour following bilateral amygdectomy*. Nature, 1957. **180**(4586): p. 598-600.
42. Fonberg, E. and J.M. Del Gado, *Avoidance and alimentary reactions during amygdala stimulation*. J Neurophysiol, 1961. **24**: p. 651-64.
43. Fonberg, E., *The Inhibitory Role of Amygdala Stimulation*. Acta Biol Exp (Warsz), 1963. **23**: p. 171-80.
44. Levine, M.S., et al., *Sensorimotor dysfunctions and aphagia and adipsia following pallidal lesions in rats*. J Comp Physiol Psychol, 1971. **77**(2): p. 282-93.
45. Lénárd, L., et al., *Pallidal mechanisms in the organizations of feeding and sensorimotor integration*, in *Recent Developments in Neurobiology in Hungary*, L. K., Editor. 1982, Academic Press: Budapest. p. 79-113.
46. Lenard, L., et al., *Feeding and Body-Weight Regulation after 6-Ohda Application into the Preoptic Area*. Brain Research Bulletin, 1991. **27**(3-4): p. 359-365.
47. Gálosi, R., A. Hajnal, and L. Lénárd, *Nucleus accumbens and body weight regulation: neurochemical lesions*. Neurobiology (Bp), 1997. **5**(1): p. 67-70.
48. Maldonado-Irizarry, C.S. and A.E. Kelley, *Excitotoxic lesions of the core and shell subregions of the nucleus accumbens differentially disrupt body weight regulation and motor activity in rat*. Brain Res Bull, 1995. **38**(6): p. 551-9.
49. Kolb, B., I.Q. Whishaw, and T. Schallert, *Aphagia, behavior sequencing and body weight set point following orbital frontal lesions in rats*. Physiol Behav, 1977. **19**(1): p. 93-103.
50. Zaborszky, L., et al., *Brain-Stem Projection to the Hypothalamic Ventromedial Nucleus in the Rat - a Cck-Containing Long Ascending Pathway*. Brain Research, 1984. **303**(2): p. 225-231.
51. Inagaki, S., et al., *Distribution, origin, and fine structures of cholecystokinin-8-like immunoreactive terminals in the nucleus ventromedialis hypothalami of the rat*. J Neurosci, 1984. **4**(5): p. 1289-99.
52. Ungerstedt, U., *Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system*. Acta Physiol Scand Suppl, 1971. **367**: p. 95-122.
53. Ahlskog, J.E., *Food intake and amphetamine anorexia after selective forebrain norepinephrine loss*. Brain Res, 1974. **82**(2): p. 211-40.

54. Ahlskog, J.E. and B.G. Hoebel, *Overeating and obesity from damage to a noradrenergic system in the brain*. Science, 1973. **182**(4108): p. 166-9.
55. Lenard, L. and Z. Hahn, *Amygdalar noradrenergic and dopaminergic mechanisms in the regulation of hunger and thirst-motivated behavior*. Brain Res, 1982. **233**(1): p. 115-32.
56. Sanchez-Lasheras, C., A.C. Konner, and J.C. Bruning, *Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators*. Front Neuroendocrinol, 2010. **31**(1): p. 4-15.
57. Barsh, G.S. and M.W. Schwartz, *Genetic approaches to studying energy balance: perception and integration*. Nat Rev Genet, 2002. **3**(8): p. 589-600.
58. Fonyó Attila, G.M., *Az orvosi élettan tankönyve*. 8. ed. 2019.
59. Biebermann, H., et al., *A role for beta-melanocyte-stimulating hormone in human body-weight regulation*. Cell Metab, 2006. **3**(2): p. 141-6.
60. Fan, W., et al., *Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome*. Nature, 1997. **385**(6612): p. 165-8.
61. Ollmann, M.M., et al., *Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein*. Science, 1997. **278**(5335): p. 135-8.
62. Benoit, S.C., et al., *The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins*. J Neurosci, 2002. **22**(20): p. 9048-52.
63. Kitamura, T., et al., *Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake*. Nat Med, 2006. **12**(5): p. 534-40.
64. Schwartz, M.W., et al., *Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin*. Endocrinology, 1992. **130**(6): p. 3608-16.
65. Nijijima, A., *Glucose-sensitive afferent nerve fibres in the hepatic branch of the vagus nerve in the guinea-pig*. J Physiol, 1982. **332**: p. 315-23.
66. Oomura, Y., *Glucose as a regulator of neuronal activity*. Adv Metab Disord, 1983. **10**: p. 31-65.
67. Karadi, Z., et al., *Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys*. J Neurophysiol, 1992. **67**(2): p. 389-400.
68. Lenard, L., et al., *Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: I. Behavioral properties and neurotransmitter sensitivities*. Neurobiology (Bp), 1995. **3**(3-4): p. 223-39.
69. Karadi, Z., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes*. Brain Res Bull, 1995. **37**(2): p. 157-62.
70. Karadi, Z., et al., *Olfactory coding in the monkey lateral hypothalamus: behavioral and neurochemical properties of odor-responding neurons*. Physiol Behav, 1989. **45**(6): p. 1249-57.
71. Aou, S., et al., *Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons*. Brain Res, 1984. **302**(1): p. 69-74.
72. Karadi, Z., et al., *Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey*. Ann N Y Acad Sci, 1998. **855**: p. 488-92.

73. Nakano, Y., et al., *Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala*. Brain Res, 1986. **399**(1): p. 167-72.
74. Lenard, L., et al., *Responses of Pallidal Neurons to Microelectrophoretically Applied Glucose and Neurochemicals*. Basal Ganglia Iv, 1994. **42**: p. 239-244.
75. Lenard, L., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics*. Brain Res Bull, 1995. **37**(2): p. 149-55.
76. Papp, S., et al., *Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens*. Neuroreport, 2007. **18**(15): p. 1561-5.
77. Szabo, I., et al., *[Glucose-monitoring neurons of the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex are involved in the maintenance of homeostasis]*. Orv Hetil, 2017. **158**(18): p. 692-700.
78. Adachi, A., et al., *Convergence of Hepato-Portal Glucose-Sensitive Afferent Signals to Glucose-Sensitive Units within the Nucleus of the Solitary Tract*. Neuroscience Letters, 1984. **46**(2): p. 215-218.
79. Adachi, A., et al., *Chemosensitive neurons in the area postrema of the rat and their possible functions*. Brain Res Bull, 1991. **26**(1): p. 137-40.
80. Nagy, B., et al., *Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex*. Brain Res, 2012. **1444**: p. 38-44.
81. Hormay, E., et al., *The effect of loss of the glucose-monitoring neurons in the anterior cingulate cortex: Physiologic challenges induce complex feeding-metabolic alterations after local streptozotocin microinjection in rats*. Neurosci Res, 2019.
82. Karadi, Z., et al., *The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism*. Brain-Inspired It I, 2004. **1269**: p. 30-33.
83. Kuriyama, K., et al., *Actions of interferon alpha and interleukin- 1 beta on the glucose-responsive neurons in the ventromedial hypothalamus*. Brain Res Bull, 1990. **24**(6): p. 803-10.
84. Lukats, B., R. Egyed, and Z. Karadi, *Single neuron activity changes to interleukin-1beta in the orbitofrontal cortex of the rat*. Brain Res, 2005. **1038**(2): p. 243-6.
85. Powley, T.L., *The ventromedial hypothalamic syndrome, satiety, and a cephalic phase hypothesis*. Psychol Rev, 1977. **84**(1): p. 89-126.
86. Ventura, A.K. and J. Worobey, *Early influences on the development of food preferences*. Curr Biol, 2013. **23**(9): p. R401-8.
87. Wang;, W., X. Zhou;, and Y. Liu, *Characterization and evaluation of umami taste: A review*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020. **127**.
88. Steiner, J.E., *Discussion paper: innate, discriminative human facial expressions to taste and smell stimulation*. Ann N Y Acad Sci, 1974. **237**(0): p. 229-33.
89. Grill, H.J. and R. Norgren, *Taste Reactivity Test .I. Mimetic Responses to Gustatory Stimuli in Neurologically Normal Rats*. Brain Research, 1978. **143**(2): p. 263-279.
90. Costa, A., C. Silva, and A. Oliveira, *Food neophobia and its association with food preferences and dietary intake of adults*. Nutr Diet, 2019.

91. Hobden, K. and P. Pliner, *Effects of a model on food neophobia in humans*. *Appetite*, 1995. **25**(2): p. 101-13.
92. Chambers, K.C., *A neural model for conditioned taste aversions*. *Annu Rev Neurosci*, 1990. **13**: p. 373-85.
93. Chambers, K.C., *Conditioned taste aversions*. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2018. **4**(1): p. 92-100.
94. San Gabriel, A.M., et al., *mGluR1 in the fundic glands of rat stomach*. *Febs Letters*, 2007. **581**(6): p. 1119-1123.
95. Sclafani, A., *Sweet taste signaling in the gut*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007. **104**(38): p. 14887-14888.
96. Norgren, R. and C.M. Leonard, *Taste pathways in rat brainstem*. *Science*, 1971. **173**(4002): p. 1136-9.
97. Hamilton, R.B. and R. Norgren, *Central projections of gustatory nerves in the rat*. *J Comp Neurol*, 1984. **222**(4): p. 560-77.
98. Rolls, E.T., *Information processing in the taste system of primates*. *J Exp Biol*, 1989. **146**: p. 141-64.
99. Rolls, E.T., S. Yaxley, and Z.J. Sienkiewicz, *Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey*. *J Neurophysiol*, 1990. **64**(4): p. 1055-66.
100. Rolls, E.T., et al., *The Responsiveness of Neurons in the Frontal Opercular Gustatory Cortex of the Macaque Monkey Is Independent of Hunger*. *Journal of Physiology-London*, 1988. **397**: p. 1-12.
101. Yaxley, S., E.T. Rolls, and Z.J. Sienkiewicz, *The Responsiveness of Neurons in the Insular Gustatory Cortex of the Macaque Monkey Is Independent of Hunger*. *Physiology & Behavior*, 1988. **42**(3): p. 223-229.
102. Yaxley, S., E.T. Rolls, and Z.J. Sienkiewicz, *Gustatory Responses of Single Neurons in the Insula of the Macaque Monkey*. *Journal of Neurophysiology*, 1990. **63**(4): p. 689-700.
103. Karadi, Z., et al., *Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey*. *Olfaction and Taste Xii*, 1998. **855**: p. 488-492.
104. Scott, T.R., et al., *Gustatory Neural Coding in the Amygdala of the Alert Macaque Monkey*. *Journal of Neurophysiology*, 1993. **69**(6): p. 1810-1820.
105. Platasalaman, C.R., T.R. Scott, and V.L. Smithwintosky, *Gustatory Neural Coding in the Monkey Cortex - the Quality of Sweetness*. *Journal of Neurophysiology*, 1993. **69**(2): p. 482-493.
106. Norgren, R. and C. Pfaffmann, *The pontine taste area in the rat*. *Brain Res*, 1975. **91**(1): p. 99-117.
107. Norgren, R. and G. Wolf, *Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the rat*. *Brain Res*, 1975. **92**(1): p. 123-9.
108. Norgren, R., *Taste pathways to hypothalamus and amygdala*. *J Comp Neurol*, 1976. **166**(1): p. 17-30.

109. Carmichael, S.T. and J.L. Price, *Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys*. J Comp Neurol, 1996. **371**(2): p. 179-207.
110. Rolls, E.T., *Taste, olfactory, and food reward value processing in the brain*. Prog Neurobiol, 2015. **127-128**: p. 64-90.
111. Rothwell, N.J. and S.J. Hopkins, *Cytokines and the Nervous-System .2. Actions and Mechanisms of Action*. Trends in Neurosciences, 1995. **18**(3): p. 130-136.
112. Kelley, K.W., et al., *Cytokine-induced sickness behavior*. Brain Behav Immun, 2003. **17 Suppl 1**: p. S112-8.
113. Berkenbosch, F., et al., *Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1*. Science, 1987. **238**(4826): p. 524-6.
114. Dinarello, C.A., *Biology of Interleukin-1*. Faseb Journal, 1988. **2**(2): p. 108-115.
115. Dinarello, C.A., *An update on human interleukin-1: from molecular biology to clinical relevance*. J Clin Immunol, 1985. **5**(5): p. 287-97.
116. Dinarello, C.A., *Interleukin-1*. Dig Dis Sci, 1988. **33**(3 Suppl): p. 25S-35S.
117. Suckling, A.J., et al., *Lymphocytic activation in peripheral blood and cerebrospinal fluid during the course of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis*. J Neuroimmunol, 1987. **15**(1): p. 85-95.
118. Jordan, F.L. and W.E. Thomas, *Brain Macrophages - Questions of Origin and Interrelationship*. Brain Research Reviews, 1988. **13**(2): p. 165-178.
119. Billingham, M.E., *Cytokines as inflammatory mediators*. Br Med Bull, 1987. **43**(2): p. 350-70.
120. Giulian, D., et al., *Interleukin 1 of the central nervous system is produced by ameboid microglia*. J Exp Med, 1986. **164**(2): p. 594-604.
121. Fontana, A., E. Weber, and J.M. Dayer, *Synthesis of interleukin 1/endogenous pyrogen in the brain of endotoxin-treated mice: a step in fever induction?* J Immunol, 1984. **133**(4): p. 1696-8.
122. Breder, C.D., C.A. Dinarello, and C.B. Saper, *Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus*. Science, 1988. **240**(4850): p. 321-4.
123. Dinarello, C.A., *Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity*. Immunol Rev, 2018. **281**(1): p. 8-27.
124. Garlanda, C., C.A. Dinarello, and A. Mantovani, *The interleukin-1 family: back to the future*. Immunity, 2013. **39**(6): p. 1003-18.
125. Dinarello, C.A., *Biologic basis for interleukin-1 in disease*. Blood, 1996. **87**(6): p. 2095-147.
126. Farrar, W.L., et al., *Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain*. J Immunol, 1987. **139**(2): p. 459-63.
127. Sims, J.E., et al., *Interleukin-1 Signaling Occurs Exclusively Via the Type-I Receptor*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1993. **90**(13): p. 6155-6159.
128. Sims, J.E., J.G. Giri, and S.K. Dower, *2 Interleukin-1 Receptors Play Different Roles in IL-1 Actions*. Clinical Immunology and Immunopathology, 1994. **72**(1): p. 9-14.

129. Rothwell, N.J., G. Luheshi, and S. Toulmond, *Cytokines and their receptors in the central nervous system: physiology, pharmacology, and pathology*. Pharmacol Ther, 1996. **69**(2): p. 85-95.
130. Rosenwasser, L.J., *Biologic activities of IL-1 and its role in human disease*. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1998. **102**(3): p. 344-350.
131. Luheshi, N.M., N.J. Rothwell, and D. Brough, *Dual functionality of interleukin-1 family cytokines: implications for anti-interleukin-1 therapy*. British Journal of Pharmacology, 2009. **157**(8): p. 1318-1329.
132. Dinarello, C.A., *A clinical perspective of IL-1beta as the gatekeeper of inflammation*. Eur J Immunol, 2011. **41**(5): p. 1203-17.
133. Murakami, N., Y. Sakata, and T. Watanabe, *Central Action Sites of Interleukin-1-Beta for Inducing Fever in Rabbits*. Journal of Physiology-London, 1990. **428**: p. 299-312.
134. Pettipher, E.R., G.A. Higgs, and B. Henderson, *Interleukin-1 Induces Leukocyte Infiltration and Cartilage Proteoglycan Degradation in the Synovial Joint*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986. **83**(22): p. 8749-8753.
135. Ulich, T.R., et al., *Kinetics and Mechanisms of Recombinant Human Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Changes in Circulating Numbers of Neutrophils and Lymphocytes*. Journal of Immunology, 1987. **139**(10): p. 3406-3415.
136. Gery, I., R.K. Gershon, and B.H. Waksman, *Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. I. The responding cell*. J Exp Med, 1972. **136**(1): p. 128-42.
137. Miller, L.S., et al., *Inflammasome-mediated production of IL-1 beta is required for neutrophil recruitment against Staphylococcus aureus in vivo (vol 179, pg, 6933, 2007)*. Journal of Immunology, 2008. **180**(1): p. 665-665.
138. Cohen, J., *The immunopathogenesis of sepsis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 885-891.
139. Church, L.D., G.P. Cook, and M.F. McDermott, *Primer: inflammasomes and interleukin 1beta in inflammatory disorders*. Nat Clin Pract Rheumatol, 2008. **4**(1): p. 34-42.
140. Elaraj, D.M., et al., *The role of interleukin 1 in growth and metastasis of human cancer xenografts*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(4): p. 1088-96.
141. Krelin, Y., et al., *Interleukin-1beta-driven inflammation promotes the development and invasiveness of chemical carcinogen-induced tumors*. Cancer Res, 2007. **67**(3): p. 1062-71.
142. Voronov, E., et al., *IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003. **100**(5): p. 2645-2650.
143. Kay, J. and L. Calabrese, *The role of interleukin-1 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis*. Rheumatology, 2004. **43**: p. 2-9.
144. Chung, K.F., *Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease*. Eur Respir J Suppl, 2001. **34**: p. 50s-59s.
145. Vitkovic, L., J. Bockaert, and C. Jacque, *"Inflammatory" cytokines: neuromodulators in normal brain?* J Neurochem, 2000. **74**(2): p. 457-71.

146. Obal, F., Jr., et al., *Interleukin 1 alpha and an interleukin 1 beta fragment are somnogenic*. Am J Physiol, 1990. **259**(3 Pt 2): p. R439-46.
147. Schneider, H., et al., *A neuromodulatory role of interleukin-1beta in the hippocampus*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(13): p. 7778-83.
148. Fang, J., Y. Wang, and J.M. Krueger, *Effects of interleukin-1 beta on sleep are mediated by the type I receptor*. Am J Physiol, 1998. **274**(3): p. R655-60.
149. Avital, A., et al., *Impaired interleukin-1 signaling is associated with deficits in hippocampal memory processes and neural plasticity*. Hippocampus, 2003. **13**(7): p. 826-34.
150. De Simoni, M.G., et al., *Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus*. Eur J Neurosci, 2000. **12**(7): p. 2623-33.
151. Mabuchi, T., et al., *Contribution of microglia/macrophages to expansion of infarction and response of oligodendrocytes after focal cerebral ischemia in rats*. Stroke, 2000. **31**(7): p. 1735-43.
152. Pearson, V.L., N.J. Rothwell, and S. Toulmond, *Excitotoxic brain damage in the rat induces interleukin-1beta protein in microglia and astrocytes: correlation with the progression of cell death*. Glia, 1999. **25**(4): p. 311-23.
153. Vezzani, A., et al., *Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures*. J Neurosci, 1999. **19**(12): p. 5054-65.
154. Allan, S.M., P.J. Tyrrell, and N.J. Rothwell, *Interleukin-1 and neuronal injury*. Nat Rev Immunol, 2005. **5**(8): p. 629-40.
155. Loddick, S.A. and N.J. Rothwell, *Neuroprotective effects of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in focal cerebral ischaemia in the rat*. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 1996. **16**(5): p. 932-940.
156. Yamasaki, Y., et al., *Interleukin-1 as a Pathogenetic Mediator of Ischemic Brain-Damage in Rats*. Stroke, 1995. **26**(4): p. 676-680.
157. Relton, J.K. and N.J. Rothwell, *Interleukin-1 receptor antagonist inhibits ischaemic and excitotoxic neuronal damage in the rat*. Brain Res Bull, 1992. **29**(2): p. 243-6.
158. Niederreiter, L.T., H., *Cytokines and fatty liver diseases*. Liver Research, 2018. **2**(1): p. 14-20.
159. Shrivastava, S., et al., *Hepatitis C Virus Induces Interleukin-1 beta (IL-1 beta)/IL-18 in Circulatory and Resident Liver Macrophages*. Journal of Virology, 2013. **87**(22): p. 12284-12290.
160. Bergasa, N.V., *Hypothesis: Taste disorders in patients with liver disease may be mediated in the brain: Potential mechanisms for a central phenomenon*. American Journal of Gastroenterology, 1998. **93**(8): p. 1209-1210.
161. Nijijima, A., *The afferent discharges from sensors for interleukin 1 beta in the hepatoportal system in the anesthetized rat*. Journal of the Autonomic Nervous System, 1996. **61**(3): p. 287-291.
162. del Rey, A. and H. Besedovsky, *Antidiabetic effects of interleukin 1*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. **86**(15): p. 5943-7.

163. Banerjee, M. and M. Saxena, *Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes*. Clin Chim Acta, 2012. **413**(15-16): p. 1163-70.
164. Eizirik, D.L. and T. Mandrup-Poulsen, *A choice of death--the signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis*. Diabetologia, 2001. **44**(12): p. 2115-33.
165. Guest, C.B., et al., *The implication of proinflammatory cytokines in type 2 diabetes*. Front Biosci, 2008. **13**: p. 5187-94.
166. Maedler, K., et al., *Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets*. J Clin Invest, 2002. **110**(6): p. 851-60.
167. Feve, B. and J.P. Bastard, *The role of interleukins in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus*. Nat Rev Endocrinol, 2009. **5**(6): p. 305-11.
168. Hellerstein, M.K., et al., *Interleukin-1-induced anorexia in the rat. Influence of prostaglandins*. J Clin Invest, 1989. **84**(1): p. 228-35.
169. Uehara, A., et al., *Indomethacin blocks the anorexic action of interleukin-1*. Eur J Pharmacol, 1989. **170**(3): p. 257-60.
170. Meade, E.A., W.L. Smith, and D.L. DeWitt, *Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs*. J Biol Chem, 1993. **268**(9): p. 6610-4.
171. Hart, B.L., *Biological basis of the behavior of sick animals*. Neurosci Biobehav Rev, 1988. **12**(2): p. 123-37.
172. Plata-Salaman, C.R., *Immunomodulators and feeding regulation: a humoral link between the immune and nervous systems*. Brain Behav Immun, 1989. **3**(3): p. 193-213.
173. Harden, L.M., et al., *Interleukin (IL)-6 and IL-1 beta act synergistically within the brain to induce sickness behavior and fever in rats*. Brain Behav Immun, 2008. **22**(6): p. 838-49.
174. Dantzer, R., *Cytokine, sickness behavior, and depression*. Immunol Allergy Clin North Am, 2009. **29**(2): p. 247-64.
175. Munshi, S., V. Parrilli, and J.A. Rosenkranz, *Peripheral anti-inflammatory cytokine Interleukin-10 treatment mitigates interleukin-1beta - induced anxiety and sickness behaviors in adult male rats*. Behav Brain Res, 2019. **372**: p. 112024.
176. Jones, B.F., H.J. Groenewegen, and M.P. Witter, *Intrinsic connections of the cingulate cortex in the rat suggest the existence of multiple functionally segregated networks*. Neuroscience, 2005. **133**(1): p. 193-207.
177. Palomero-Gallagher, N., et al., *Receptor architecture of human cingulate cortex: evaluation of the four-region neurobiological model*. Hum Brain Mapp, 2009. **30**(8): p. 2336-55.
178. *Encyclopedia of Neuroscience*. 1st ed. 2009: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
179. Vogt, B.A., D.M. Finch, and C.R. Olson, *Functional-Heterogeneity in Cingulate Cortex - the Anterior Executive and Posterior Evaluative Regions*. Cerebral Cortex, 1992. **2**(6): p. 435-443.
180. Vogt, B.A., *Structural organization of cingulate cortex: Areas, neurons, and somatodendritic transmitter receptors.*, in *Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus*, B.A.V.M. Gabriel, Editor. 1993. p. 19-70.

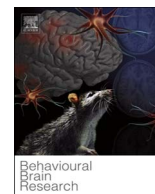
181. Vogt, B.A.V.L., *Cingulate Cortex and Disease Models*, in *The Rat Nervous System*, G. Paxinos, Editor. 2004, Gulf Professional Publishing, 2004.
182. Paxinos, G. and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 1997: Academic Press.
183. *Cingulate Neurobiology and Disease*. 1st ed. 2009: Oxford University Press.
184. Augustine, J.R., *Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans*. Brain Res Brain Res Rev, 1996. **22**(3): p. 229-44.
185. Bush, G., P. Luu, and M.I. Posner, *Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex*. Trends in Cognitive Sciences, 2000. **4**(6): p. 215-222.
186. Ghashghaei, H., C.C. Hilgetag, and H. Barbas, *Sequence of information processing for emotions based on the anatomic dialogue between prefrontal cortex and amygdala*. Neuroimage, 2007. **34**(3): p. 905-923.
187. Haber, S.N. and B. Knutson, *The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging*. Neuropsychopharmacology, 2010. **35**(1): p. 4-26.
188. Vogt, B.A., *Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus*. Nat Rev Neurosci, 2005. **6**(7): p. 533-44.
189. Gasquoine, P.G., *Localization of function in anterior cingulate cortex: from psychosurgery to functional neuroimaging*. Neurosci Biobehav Rev, 2013. **37**(3): p. 340-8.
190. Weissman, D.H., et al., *Dorsal anterior cingulate cortex resolves conflict from distracting stimuli by boosting attention toward relevant events*. Cereb Cortex, 2005. **15**(2): p. 229-37.
191. Dosenbach, N.U., et al., *Distinct brain networks for adaptive and stable task control in humans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(26): p. 11073-8.
192. Eisenberger, N.I. and M.D. Lieberman, *Why rejection hurts: a common neural alarm system for physical and social pain*. Trends Cogn Sci, 2004. **8**(7): p. 294-300.
193. Critchley, H.D., et al., *Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence*. Brain, 2003. **126**(Pt 10): p. 2139-52.
194. Freedman, R.R., et al., *Cortical activation during menopausal hot flashes*. Fertil Steril, 2006. **85**(3): p. 674-8.
195. Rolls, E.T., M.L. Kringelbach, and I.E. de Araujo, *Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain*. Eur J Neurosci, 2003. **18**(3): p. 695-703.
196. Hasenohrl, R.U., M.S. Oitzl, and J.P. Huston, *Conditioned Place Preference in the Corral - a Procedure for Measuring Reinforcing Properties of Drugs*. Journal of Neuroscience Methods, 1989. **30**(2): p. 141-146.
197. Tzschentke, T.M., *Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues*. Prog Neurobiol, 1998. **56**(6): p. 613-72.
198. Sonti, G., M.C. Flynn, and C.R. Plata-Salaman, *Interleukin-1 (IL-1) receptor type I mediates anorexia but not adiposia induced by centrally administered IL-1beta*. Physiol Behav, 1997. **62**(5): p. 1179-83.

199. Kent, S., et al., *Different receptor mechanisms mediate the pyrogenic and behavioral effects of interleukin 1*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(19): p. 9117-20.
200. Lawrence, C.B. and N.J. Rothwell, *Anorexic but not pyrogenic actions of interleukin-1 are modulated by central melanocortin-3/4 receptors in the rat*. J Neuroendocrinol, 2001. **13**(6): p. 490-5.
201. Boulant, J.A., *Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever*. Clin Infect Dis, 2000. **31 Suppl 5**: p. S157-61.
202. Matsuda, T., T. Hori, and T. Nakashima, *Thermal and PGE2 sensitivity of the organum vasculosum lamina terminalis region and preoptic area in rat brain slices*. J Physiol, 1992. **454**: p. 197-212.
203. Stitt, J.T., *Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response*. Yale J Biol Med, 1986. **59**(2): p. 137-49.
204. Stitt, J.T., *Evidence for the involvement of the organum vasculosum laminae terminalis in the febrile response of rabbits and rats*. J Physiol, 1985. **368**: p. 501-11.
205. Evans, S.S., E.A. Repasky, and D.T. Fisher, *Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat*. Nat Rev Immunol, 2015. **15**(6): p. 335-49.
206. Tan, C.L. and Z.A. Knight, *Regulation of Body Temperature by the Nervous System*. Neuron, 2018. **98**(1): p. 31-48.
207. Nakashima, T., et al., *Recombinant human interleukin-1 beta alters the activity of preoptic thermosensitive neurons in vitro*. Brain Res Bull, 1989. **23**(3): p. 209-13.
208. Kunkel, S.L., S.W. Chensue, and S.H. Phan, *Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production*. J Immunol, 1986. **136**(1): p. 186-92.
209. Newton, R.C. and M. Covington, *The activation of human fibroblast prostaglandin E production by interleukin 1*. Cell Immunol, 1987. **110**(2): p. 338-49.
210. Kazakov, V.N., et al., *Influences from different areas of the cerebral cortex on preoptic neurons: morphological and electrophysiological data*. Neuroscience, 1992. **51**(4): p. 961-72.
211. Ruud, L.E., et al., *Acetaminophen reduces lipopolysaccharide-induced fever by inhibiting cyclooxygenase-2*. Neuropharmacology, 2013. **71**: p. 124-129.
212. Uehara, A., et al., *Anorexia induced by interleukin 1: involvement of corticotropin-releasing factor*. Am J Physiol, 1989. **257**(3 Pt 2): p. R613-7.
213. Graham, G.G., et al., *The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings*. Inflammopharmacology, 2013. **21**(3): p. 201-32.
214. Li, S., et al., *Cyclooxygenase-2 mediates the febrile response of mice to interleukin-1beta*. Brain Res, 2001. **910**(1-2): p. 163-73.
215. Li, S., et al., *Acetaminophen: antipyretic or hypothermic in mice? In either case, PGHS-1b (COX-3) is irrelevant*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2008. **85**(3-4): p. 89-99.
216. Rothwell, N.J., *CRF is involved in the pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1 beta in the rat*. Am J Physiol, 1989. **256**(1 Pt 1): p. E111-5.

217. Luheshi, G. and N. Rothwell, *Cytokines and fever*. Int Arch Allergy Immunol, 1996. **109**(4): p. 301-7.
218. Bernardini, G.L., D.B. Richards, and J.M. Lipton, *Antipyretic effect of centrally administered CRF*. Peptides, 1984. **5**(1): p. 57-9.
219. Opp, M., F. Obal, Jr., and J.M. Krueger, *Corticotropin-releasing factor attenuates interleukin 1-induced sleep and fever in rabbits*. Am J Physiol, 1989. **257**(3 Pt 2): p. R528-35.
220. Skarnes, R.C., et al., *Role of prostaglandin E in the biphasic fever response to endotoxin*. J Exp Med, 1981. **154**(4): p. 1212-24.
221. Sanchez-Alavez, M., et al., *Ceramide mediates the rapid phase of febrile response to IL-1beta*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(8): p. 2904-8.
222. Cornell, R.P. and D.B. Schwartz, *Central administration of interleukin 1 elicits hyperinsulinemia in rats*. Am J Physiol, 1989. **256**(3 Pt 2): p. R772-7.
223. Cornell, R.P., *Central interleukin 1-elicited hyperinsulinemia is mediated by prostaglandins but not autonomics*. Am J Physiol, 1989. **257**(4 Pt 2): p. R839-46.
224. Lang, C.H. and C. Dobrescu, *Interleukin-1 induced increases in glucose utilization are insulin mediated*. Life Sci, 1989. **45**(22): p. 2127-34.
225. Wolf, B.A., et al., *Interleukin-1 inhibits glucose-induced Ca²⁺ uptake by islets of Langerhans*. FEBS Lett, 1989. **248**(1-2): p. 35-8.
226. Corbett, J.A., et al., *Nitric oxide mediates IL-1 beta-induced islet dysfunction and destruction: prevention by dexamethasone*. Autoimmunity, 1993. **15**(2): p. 145-53.
227. Donath, M.Y. and T. Mandrup-Poulsen, *The use of interleukin-1-receptor antagonists in the treatment of diabetes mellitus*. Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2008. **4**(5): p. 240-1.
228. Dinarello, C.A., M.Y. Donath, and T. Mandrup-Poulsen, *Role of IL-1beta in type 2 diabetes*. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2010. **17**(4): p. 314-21.
229. Rabinovitch, A., *An update on cytokines in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus*. Diabetes Metab Rev, 1998. **14**(2): p. 129-51.
230. Lukáts, B.P., S.; Juharosi, G.; Ságodi, L.; Takács, G.; Szalay, Cs.; Karádi, Z. *IL-1b microinjection into the ventromedial hypothalamus evokes homeostatic disturbances*. in *Sixth IBRO World Congress*. 2003.
231. Besedovsky, H.O. and A. Del Rey, *Physiologic versus diabetogenic effects of interleukin-1: a question of weight*. Curr Pharm Des, 2014. **20**(29): p. 4733-4740.
232. Alvarez, C. and A. Ramos, *Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection*. Clin Chem, 1986. **32**(1 Pt 1): p. 142-5.
233. Sammalkorpi, K., et al., *Changes in serum lipoprotein pattern induced by acute infections*. Metabolism, 1988. **37**(9): p. 859-65.
234. Kaufmann, R.L., et al., *Defective lipid disposal mechanisms during bacterial infection in rhesus monkeys*. Metabolism, 1976. **25**(6): p. 615-24.
235. Rouzer, C.A. and A. Cerami, *Hypertriglyceridemia associated with Trypanosoma brucei brucei infection in rabbits: role of defective triglyceride removal*. Mol Biochem Parasitol, 1980. **2**(1): p. 31-8.

236. Feingold, K.R., et al., *Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat. Similarities to and differences from tumor necrosis factor*. *Arterioscler Thromb*, 1991. **11**(3): p. 495-500.
237. Grabenhorst, F., E.T. Rolls, and A. Bilderbeck, *How cognition modulates affective responses to taste and flavor: top-down influences on the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices*. *Cereb Cortex*, 2008. **18**(7): p. 1549-59.
238. Yirmiya, R., *Endotoxin produces a depressive-like episode in rats*. *Brain Res*, 1996. **711**(1-2): p. 163-74.
239. Cabanac, M., *Physiological role of pleasure*. *Science*, 1971. **173**(4002): p. 1103-7.
240. Cabanac, M., *Sensory pleasure*. *Q Rev Biol*, 1979. **54**(1): p. 1-29.
241. Berridge, K.C., *Modulation of taste affect by hunger, caloric satiety, and sensory-specific satiety in the rat*. *Appetite*, 1991. **16**(2): p. 103-20.
242. Cabanac, M. and L. Lafrance, *Postingestive alliesthesia: the rat tells the same story*. *Physiol Behav*, 1990. **47**(3): p. 539-43.
243. Inui, A., *Cancer anorexia-cachexia syndrome: are neuropeptides the key?* *Cancer Res*, 1999. **59**(18): p. 4493-501.
244. Perboni, S. and A. Inui, *Anorexia in cancer: role of feeding-regulatory peptides*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2006. **361**(1471): p. 1281-9.
245. Richardson, R.A. and H.I. Davidson, *Nutritional demands in acute and chronic illness*. *Proc Nutr Soc*, 2003. **62**(4): p. 777-81.
246. Beauchamp, G.K., *Why do we like sweet taste: A bitter tale?* *Physiol Behav*, 2016. **164**(Pt B): p. 432-437.
247. Mennella, J.A. and N.K. Bobowski, *The sweetness and bitterness of childhood: Insights from basic research on taste preferences*. *Physiol Behav*, 2015. **152**(Pt B): p. 502-7.
248. Mennella, J.A., M.Y. Pepino, and D.R. Reed, *Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences*. *Pediatrics*, 2005. **115**(2): p. e216-22.
249. Sasano, T., et al., *Important Role of Umami Taste Sensitivity in Oral and Overall Health*. *Current Pharmaceutical Design*, 2014. **20**(16): p. 2750-2754.
250. Bellisle, F., *Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years*. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 1999. **23**(3): p. 423-438.
251. Satoh-Kuriwada, S., et al., *Development of an Umami Taste Sensitivity Test and Its Clinical Use*. *Plos One*, 2014. **9**(4).
252. Shoji, N., S. Satoh-Kuriwada, and T. Sasano, *Clinical Significance of Umami Taste and Umami-Related Gene Expression Analysis for the Objective Assessment of Umami Taste Loss*. *Current Pharmaceutical Design*, 2016. **22**(15): p. 2238-2244.
253. Jang, H.J., et al., *Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007. **104**(38): p. 15069-15074.

254. Margolskee, R.F., et al., *TIR3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007. **104**(38): p. 15075-15080.
255. Tsurugizawa, T., et al., *Mechanisms of Neural Response to Gastrointestinal Nutritive Stimuli: The Gut-Brain Axis*. Gastroenterology, 2009. **137**(1): p. 262-273.
256. Csetényi, B., et al., *Endogén és exogén kémiai ingerek hatása az umami-érzékeny idegsejtekre patkány cinguláris kérgében (in Hungarian)*, in *Meeting of the Hungarian Physiological Society*. 2012: Debrecen.
257. Takacs, G., et al., *Taste reactivity alterations after IL-1beta microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat*. Neurosci Res, 2008. **62**(2): p. 118-22.
258. Feher, J., *Energy Balance and Regulation of Food Intake*, in *Quantitative Human Physiology*. 2012. p. 834-846.
259. Berridge, K.C. and M.L. Kringelbach, *Pleasure systems in the brain*. Neuron, 2015. **86**(3): p. 646-64.
260. Karadi, Z., et al., *Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies*. Chem Senses, 2005. **30 Suppl 1**: p. i168-9.
261. Oomura, Y., *Input-output organization in the hypothalamus relating to food intake behavior*, in *Handbook of the Hypothalamus*. 1980. p. 557-620.
262. Bauer, C., et al., *Limited importance of a learned aversion in the hypophagic effect of interleukin-1 beta*. Physiol Behav, 1995. **57**(6): p. 1145-53.
263. Tazi, A., et al., *Interleukin-1 induces conditioned taste aversion in rats: a possible explanation for its pituitary-adrenal stimulating activity*. Brain Res, 1988. **473**(2): p. 369-71.
264. Janz, L.J., et al., *Conditioned taste aversion but not adrenal activity develops to ICV administration of interleukin-1 in rats*. Physiol Behav, 1991. **49**(4): p. 691-4.
265. Goehler, L.E., et al., *Blockade of cytokine induced conditioned taste aversion by subdiaphragmatic vagotomy: further evidence for vagal mediation of immune-brain communication*. Neurosci Lett, 1995. **185**(3): p. 163-6.
266. Swiergiel, A.H. and A.J. Dunn, *Effects of interleukin-1beta and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests*. Pharmacol Biochem Behav, 2007. **86**(4): p. 651-9.
267. Montkowski, A., et al., *Central administration of IL-1 reduces anxiety and induces sickness behaviour in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 1997. **58**(2): p. 329-36.



Research report

Food and water intake, body temperature and metabolic consequences of interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat



B. Csetényi^{a,b,*}, E. Hormay^{a,b}, I. Szabó^{a,b}, G. Takács^{a,b}, B. Nagy^{a,b}, K. László^{a,b}, Z. Karádi^{a,b,c}

^a Institute of Physiology, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary

^b Centre for Neuroscience, University of Pécs, Pécs, Hungary

^c Molecular Neuroendocrinology and Neurophysiology Research Group, Szentágotthai Research Center, University of Pécs, Pécs, Hungary

ARTICLE INFO

Keywords:

Primary cytokine
Body temperature
Microinjection
Cingulate cortex
Blood glucose level
HDL
Total cholesterol

ABSTRACT

In order to elucidate whether cytokine mechanisms of the cingulate cortex (cctx) are important in the central regulation of homeostasis, in the present study, feeding-metabolic effects of direct bilateral microinjection of interleukin-1 β (IL-1 β) into the cctx of the rat have been investigated. Short- (2 h), medium (12 h) and long-term (24 h) food and water intakes and body temperature were measured after the intracerebral administration of this primary cytokine or vehicle solution, with or without paracetamol pretreatment. The effect of IL-1 β on the blood glucose level of animals was examined in glucose tolerance test (GTT), and concentrations of relevant plasma metabolites (total cholesterol, HDL, LDH, triglycerides, uric acid) were additionally also determined following the above microinjections. In contrast to causing no major alteration in the food and water intakes, the cytokine treatment evoked significant increase in the body temperature of the rats. Prostaglandin-mediated mechanisms were shown to have important role in the mode of this action of IL-1 β , since paracetamol pretreatment partially prevented the development of the above mentioned hyperthermia. In the GTT, no considerable difference was observed between the blood glucose levels of the cytokine treated and control animals. Following IL-1 β microinjection, however, significant decrease of HDL and total cholesterol was found. Our present findings indicate that elucidating the IL-1 β mediated homeostatic control mechanisms in the cingulate cortex may lead to the better understanding not only the regulatory entities of the healthy organism but also those found in obesity, diabetes mellitus and other worldwide rapidly spreading feeding-metabolic disorders.

1. Introduction

The maintenance of homeostasis, to keep the internal environment constant, is served by several adaptive and defense mechanisms in which immunomodulators play a pivotal role. In immune and inflammatory processes, for the communication among the cells, various cytokines are utilized; these special peptide molecules are produced by lymphocytes (lymphokines), monocytes (monokines) and other cell types as well [1].

Interleukin-1 (IL-1) is one of the particularly important representatives of the cytokines. It exists in two molecular isoforms: IL-1 α and IL-1 β [2], of which the β isomer [interleukin-1 β (IL-1 β)] proved to be biologically more important both in rodents and primates [3]. This primary cytokine is released during various defense reactions, acute and chronic pathological processes of the organism [4]. It is synthesized both peripherally and centrally. In the periphery, it is produced by monocytes/macrophages, lymphocytes, fibroblasts, endothelial and other cells [5]. The presence of IL-1 in the cerebrospinal fluid originates

from the peripheral blood on one hand [6,7], and from local synthesis (by astrocytes, microglia, endothelial cells, macrophages and even by the neurons themselves) on the other hand [8,9]. Receptors of IL-1 β can be detected heterogeneously throughout the whole central nervous system [10]. IL-1 β has several biological effects both in the immune and nervous systems, accordingly, its importance is already established in homeostatic processes as well [3,11]. With respect to our present project, the role of IL-1 β in the central regulation of feeding and metabolism must be highlighted. It decreases water [12] and food intake after peripheral [13,14] and also after central administration [11,15]. In the studies of our laboratory, bilateral intracerebral microinjection of this primary cytokine revealed its similar roles in several forebrain areas [globus pallidus (GP), orbitofrontal cortex (OFC), nucleus accumbens (NAcc)] [16–18].

It is well known that IL-1 β , in addition to the above, also causes hyperthermia, both after peripheral and central administrations [12,19,20]. This observation was additionally confirmed by the experiments of our research group, as IL-1 β microinjection administered into

* Corresponding author at: Institute of Physiology, Medical School, Pécs University, Szigeti Str. 12, 7624 Pécs, Hungary.
E-mail address: bettina.csetenyi@aok.pte.hu (B. Csetényi).

the above mentioned brain regions (GP, NAcc, OFC) led to the remarkable elevation of body temperature [16–18].

The importance of interleukin-1 in glucose homeostasis has also long been examined [21,22], and when it is administered peripherally, it has had an impact on the levels of other metabolites as well [23,24]. Some authors [13,25] suppose prostaglandin-mediated mechanisms in the background of the homeostatic alterations induced by IL-1 β . Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit the cyclooxygenase enzyme (COX) which plays an important role in the synthesis of prostaglandins [26]. In order to clarify the role of the COX-mediated mechanisms in the mode of action of IL-1 β , paracetamol pretreatment was used in our food and water intake and body temperature measuring investigations.

The cingulate cortex (cctx) is a structurally and functionally heterogeneous brain region around the corpus callosum on the medial surface of the brain [27]. It was originally divided into two main parts (anterior cingulate cortex (ACC) and posterior cingulate cortex (PCC)) by Brodmann, but more recently midcingulate cortex (MCC) has also been endorsed as a unique structure and it was confirmed to exist in primates and in rats as well [28]. The target area of our present series of experiments, the anterior cingulate cortex (ACC), is known to be essential in emotional and cognitive processes. It plays role in the organization of behavioral actions, primarily by the modulation of responses to various environmental stimuli [29]. Increased activation of the ACC was shown by imaging methods to be associated, among others, to the following conditions and processes: attention [30]; goal-directed behavior [31]; emotional aspects of pain [32]; autonomic regulation [33]; evaluation of hedonic, pleasant or aversive properties of the stimulus [34]. Regarding our present experiments, involvement of the ACC in conditions jeopardizing the maintenance of homeostasis must especially be taken into consideration [35]. It is also known that, as part of the limbic system, the cingulate cortex is intimately involved in the central regulation of feeding and metabolism [36,37]. It has strong interconnections with several structures of the forebrain limbic circuitry, among others, the orbitofrontal cortex and the nucleus accumbens, where the functional engagement of IL-1 β mediated mechanisms in homeostatic processes was already confirmed by our research group [17,18]. It is an additional important fact with respect to the present study, that in single neural cell recording microelectrophysiological experiments, the existence of neurons responding to microelectrophoretically administered IL-1 β was revealed in this cortical region.

Based on all the above, in the present series of experiments, we injected IL-1 β bilaterally into the cingulate cortex of adult male Wistar rats, and examined the effects of this primary cytokine on homeostatic functions. Food and water intake and body temperature of the animals were measured. In addition, the blood glucose levels in glucose tolerance test and the plasma concentrations of relevant metabolites (total cholesterol, HDL, LDH, triglycerides, uric acid) were determined. In order to clarify the role of COX mediated mechanisms in the mode of these actions of IL-1 β , similar measurements were also performed in animals with intracerebral paracetamol pretreatment.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Adult (8–10 week old) male Wistar rats weighing 260–350 g at the beginning of the study, were used in this series of experiments. The number of animals was altogether 124 in total 6 experiments (3 pilot experiments, 2 repetitions of food and water intake and body temperature measurements, 1 repetition of GTT). Separate groups of rats have been used in the respective investigations (Table 1.). The animals were kept on standard laboratory chow food (Charles River Kft, Budapest, Hungary) and tap water in individual cages in a room providing constant temperature (23 \pm 2 $^{\circ}$ C) and humidity (55–60%) and 12-h

dark/light cycle. Our experiments were performed in accordance with institutional (breeding license No.: BA 02/2000-8/2012), national (Law XXVIII, 1998, Government Decree, 40/2013. (II.14) Hungary) and international regulations (European Community Council Directive 86/609/EEC; 1986, 2006; European Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council; National Institutes of Health Guidelines, 1997).

2.2. Surgery

Guide cannulas for the IL-1 β or vehicle microinjections were compiled from stainless steel hypodermic needles (23 G). The completed microcannulas were implanted bilaterally above the cingulate cortex in a stereotaxic operation. Microinjection delivery cannulas were passed through these guide cannulas to administer substances directly into the cingulate cortex. The operation was performed under ketamine (Calypsol, 50 mg/ml; Richter Gedeon Rt., Hungary; 0,3 ml/100 g body weight) anesthesia. After the head of the animals was fixed, a longitudinal incision was made above the scalp and the bone was cleared. Hydrogen peroxide was used to reduce bleeding and for disinfection as well. Under microscopic control, a hole of approximately 4 mm in diameter was drilled through the skull by means of a dental drill. Guide cannulas were placed on the surface of the dura above the cingulate cortex through this hole by means of a micromanipulator (MN-33 Narishige, Japan). Coordinates (AP: B + 2,7 mm, ML: 0,9 mm) were determined by using the rat brain atlas of Paxinos and Watson [38]. Cannulas were fixed with dental acrylic, then, after applying antiseptic powder (Tetran, Richter Gedeon Rt., Hungary), the wound was closed. The operation was followed by one week of recovery period.

2.3. Cingulate cortex microinjections

IL-1 β (SIGMA; 5 ng/ μ l; dissolved in 0,1% phosphate-buffered saline/PBS/containing 0,1% bovine serum albumin/BSA/); paracetamol (substance, UP MS Pharmacy; 15 μ g/ μ l; dissolved in sterile PBS) or sterile PBS in the control animals, were administered into the cingulate cortex as bilateral microinjections by means of a microinfusion pump (Cole Parmer 789200C). Hamilton syringes of 25 μ l capacity containing the solutions were connected to the stainless steel delivery cannulas (30 G) via Hibiki 3 (Hibiki, Japan) polyethylene tubes. The delivery cannulas were then passed on to the required brain area, i.e., to the ACC (AP: B + 2,7 mm, ML: 0,9 mm, V: 1,6 mm) through the previously implanted guide cannulas. During the 1 min interval of the microinjection, 0,75 μ l solution was given each side of the brain. After the administrations were finished, the cannulas were left in the brain for an additional minute to allow free diffusion of chemicals and to prevent flow of the solution backwards. The correct cannula track position at the representative stereotaxic coordinates according to the rat brain atlas of Paxinos and Watson [38] is shown in Fig. 1. During the microinjections, the well-handled animals were awake, kept calm on the experimental table.

2.4. Measurement of food and water intake

Food and water intake measurements were performed after 24 h of food deprivation. Four groups of rats were formed in these experiments: both the cytokine-treated and the control animals were divided into two further groups and half of these animals received paracetamol pretreatment 25 min before the administration of IL-1 β or PBS. The cyclooxygenase inhibitor paracetamol was also applied in the form of bilateral microinjection. Laboratory chow food was given back to the animals after the microinjections at 6 p.m. (the beginning of the active period of the rats). The short- (2 h, at 8 p.m.), medium- (12 h, at 6 a.m.) and long-term (24 h, at 6 p.m.) food and water intakes were measured to the nearest grams. As control measurements, food and water consumptions were monitored for several days (at identical times of the day) before the treatment day.

Table 1
Summary of the experiments.

Surgery	Cingulate cortex microinjections	Investigation
Implantation of guide cannulas in a stereotaxic operation one week before the microinjections	Paracetamol pretreatment (25 min earlier) + IL-1 β (group 1)	Body temperature measurements 2 h after the microinjections Food and water intake measurements 2 h, 12 h and 24 h after the microinjections
	Paracetamol pretreatment (25 min earlier) + PBS (group 2)	
	IL-1 β (group 3)	GTT 20 min after the microinjections Metabolite measurements 20 min after the microinjections
	PBS (group 4)	
	IL-1 β (group 1)	
	PBS (group 2)	

2.5. Measurement of body temperature

Body temperature (BT) was determined rectally, by means of a digital thermometer with the accuracy of one tenth of centigrade ($^{\circ}\text{C}$). The measurement was performed just before the microinjections and 2 h later (8 p.m.) in the same four groups. Control measurements were performed for several days (at identical times of the day) before the treatment day.

2.6. Glucose tolerance test (GTT)

Blood glucose levels (BGL) of the animals were examined in a standardized glucose tolerance test after 12 h of food deprivation. At the beginning of the study, a control GTT was performed in order to exclude animals with metabolic abnormalities. Intraperitoneal injection of 20% D-glucose solution (0,2 g/100 g bw/ml) was administered i.p., 20 min after the IL-1 β or PBS microinjections. Blood glucose levels were measured right before the cerebral microinjections and 9, 18, 30, 60 and 120 min after the sugar load. Samples were obtained from the tail vein of the rats and BGLs were determined electrochemically by means of a semi-automatic glucometer (Dcont Ideál, 77 Elektronika Kft., Hungary).

2.7. Metabolite measurements

Relevant plasma metabolites (total cholesterol, HDL, LDH, trigly-

cerides, uric acid) were determined after 12 h of food deprivation. Blood samples were obtained after decapitation of the rats 20 min following the IL-1 β or PBS microinjections, and were examined with a cold chemistry photometer (Spotchem EZ SP4430, Arkray, Japan).

2.8. Histology

In order to determine the location of the bilaterally positioned cannulas in the brain, after all experiments ended, rats were over-anesthetised and transcardially perfused by physiological saline and 4% formaline. Brains were removed from the skull, and fixed in 4% formaline. Frozen, 40 μm thin sections were stained by cresyl violet (Nissl staining). Rats with inappropriate cannula positions were excluded from data analysis.

2.9. Data analysis

For the processing and statistical analysis of our experimental data, the “SPSS for Windows” program package was used. Results were presented as means \pm SEM. One-way analysis of variance (ANOVA) or Student’s *t*-test and Tukey’s test for post hoc comparisons were used for the evaluation of data. Differences were considered to be significant at the level of $p < 0.05$.

Bregma 2.70 mm

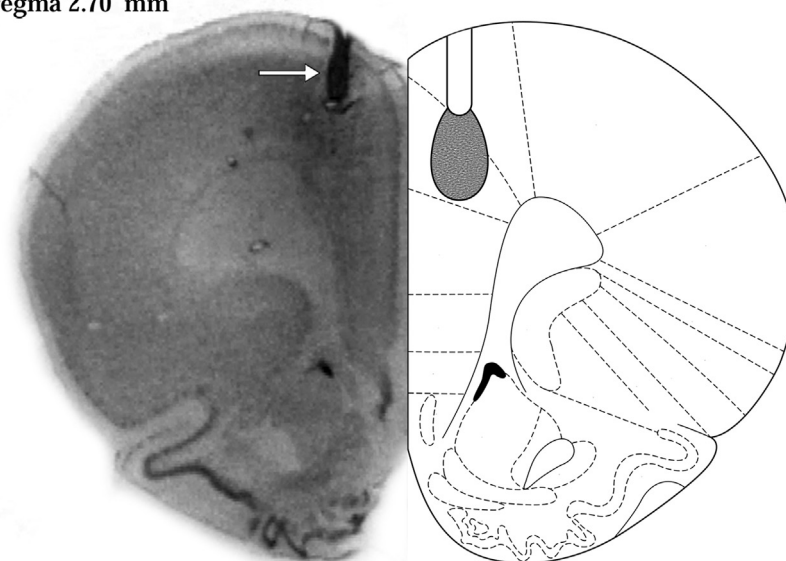


Fig. 1. Histological illustration of the delivery cannula track position (shown by the arrow) and the schematic drawing of the corresponding half-brain section from the rat brain atlas of Paxinos and Watson (Paxinos and Watson 1997).

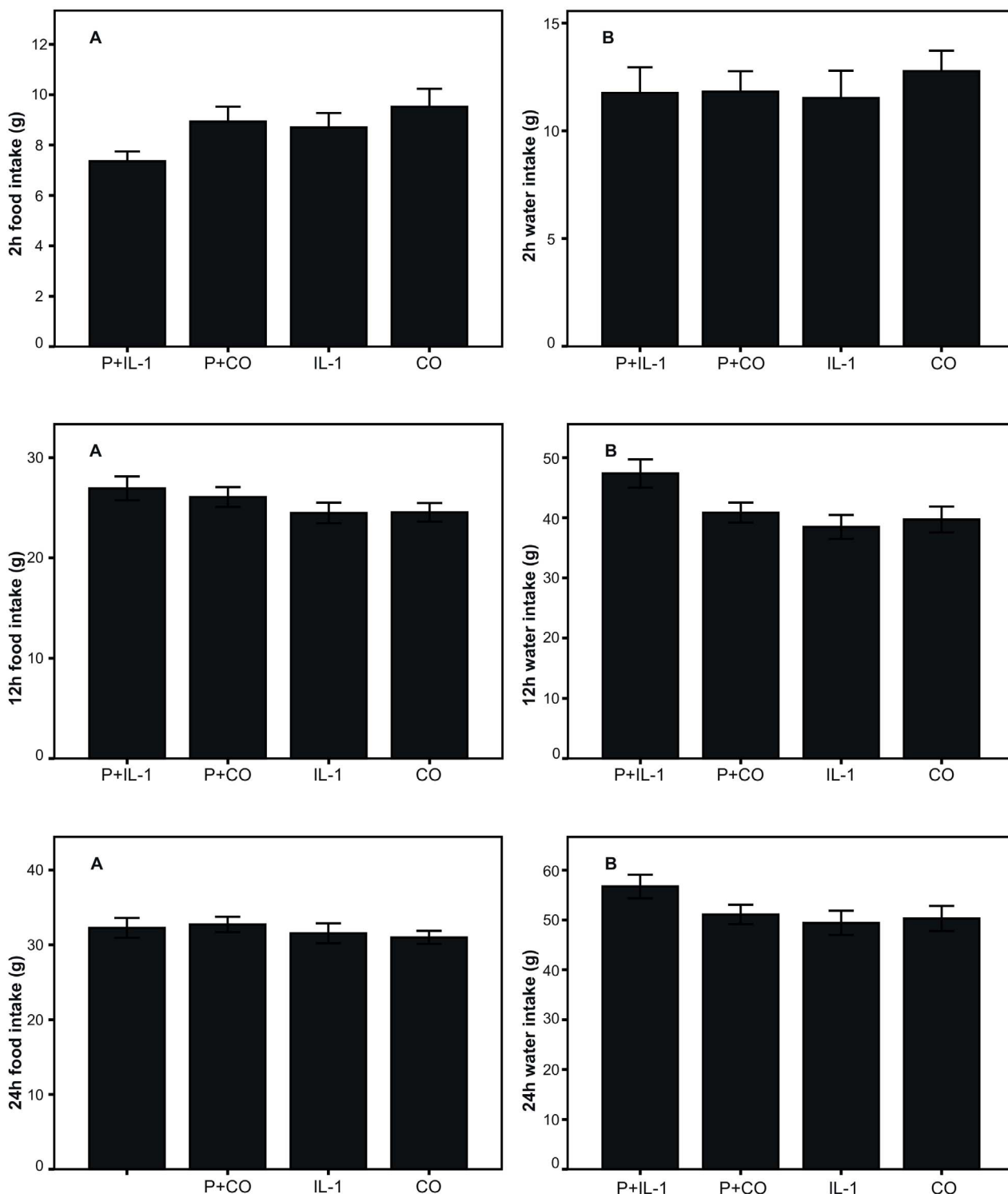


Fig. 2. Short- (2 h), medium (12 h) and long-term (24 h) food (A) and water intakes (B) after microinjection of IL-1 β into the cingulate cortex. P, paracetamol pretreatment + IL-1, interleukin-1 β (n = 21); P + CO, control (n = 22); IL-1 (n = 20); CO (n = 22). Bars represent means \pm SEM.

3. Results

3.1. Food intake (FI) and water intake (WI) measurements

At all measuring times (2 h, 12 h, 24 h), FI and WI values of the cytokine treated group, as it is shown for the 2 h, 12 h, and 24 h values,

respectively, in Fig. 2, did not differ significantly compared to those of the control animals (F values for the respective comparisons varied from $F(3, 81) = 0.260$ to 3.049 , all not significant). Thus, the cingulate cortical IL-1 β microinjection had no significant effect on the food and water intakes of the rats.

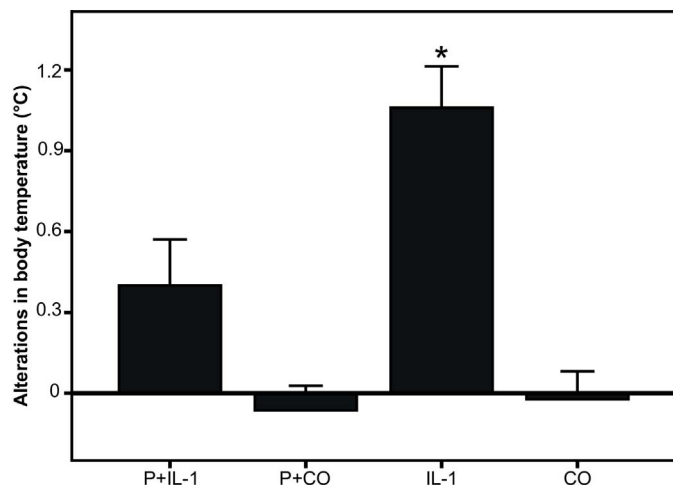


Fig. 3. Alterations in body temperature after microinjection of IL-1β into the cingulate cortex. P, paracetamol pretreatment + IL-1, interleukin-1β (n = 21); P + CO, control (n = 22); IL-1 (n = 20); CO (n = 22). Bars represent means ± SEM. * IL-1 vs. CO, p < 0.001; IL-1 vs. P + CO, p < 0.001. P + IL-1 vs. IL-1, p = 0.005; P + IL-1 vs. CO, p = 0.113; P + IL-1 vs. P + CO = 0.069.

3.2. Body temperature

In contrast to the fact of observing no major difference in the short-, medium- and long-term food and water intakes, a single, bilateral IL-1β microinjection administered into the cingulate cortex was shown to result in hyperthermia (Fig. 3., One-way ANOVA; F(3, 81) = 10.067; p < 0.001). Differences between the initial body temperatures and at the time of 2 h after the microinjections were as follows: P + IL-1: 0.40 ± 0.17 °C, P + CO: -0.06 ± 0.09 °C, IL-1: 1.06 ± 0.15 °C, CO: -0.02 ± 0.10, thus, evidence has been provided for that the primary cytokine was the one causing significant elevation of body temperature (IL-1 vs. CO, p < 0.001; IL-1 vs. P + CO, p < 0.001; Tukey's test). The paracetamol pretreatment partially prevented the development of the IL-1β induced hyperthermia (P + IL-1 vs. IL-1, p = 0.005; P + IL-1 vs. CO, p = 0.113; P + IL-1 vs. P + CO = 0.069; Tukey's test). Paracetamol itself (just as the PBS solution per se) did not cause alteration in the body temperature of the animals.

3.3. GTT and plasma metabolite measurements

The blood glucose levels (BGLs) of the interleukin-1β treated rats were higher throughout the whole GTT compared to the control

animals (Fig. 4., BGLs of the IL-1β treated and the control animals: 0': 4.33 ± 0.17 mmol/l vs. 4.08 ± 0.11 mmol/l, 9': 9.71 ± 0.85 mmol/l vs. 9.36 ± 0.42 mmol/l, 18': 14.00 ± 0.77 mmol/l vs. 12.58 ± 0.98 mmol/l, 30': 13.72 ± 0.69 mmol/l vs. 13.02 ± 0.99 mmol/l, 60': 9.67 ± 0.47 mmol/l vs. 9.27 ± 0.91 mmol/l, 120': 7.03 ± 0.38 mmol/l vs. 6.57 ± 0.61 mmol/l). Despite the distinct dynamics of the two curves, significant difference was not observed in the blood glucose concentrations of the cytokine treated and control rats (t values for the respective comparisons varied from t (24) = 0.357 to 1.187, all not significant).

In contrast to what was seen in case of the GTT, when measuring the plasma concentrations of relevant metabolites, significant decrease was found in the concentrations of HDL and total cholesterol after the cytokine microinjection (Fig. 5., HDL: IL-1: 0.33 ± 0.02 mmol/l, CO: 0.54 ± 0.03 mmol/l, t(11) = 5.687, p < 0.001; total cholesterol: IL-1: 1.31 ± 0.02 mmol/l, CO: 1.60 ± 0.11 mmol/l, t(11) = 3.979, p < 0.005, independent samples t-test). In the concentrations of the other measured metabolites (LDH: IL-1: 1300.44 ± 397.06 IU/l, CO: 849 ± 313.16 IU/l; triglycerides: IL-1: 0.59 ± 0.07 mmol/l, CO: 0.47 ± 0.04 mmol/l; uric acid: IL-1: 91.44 ± 21.46 μmol/l, CO: 75.75 ± 8.46 μmol/l), there was no significant alteration compared to values of the vehicle treated animals (t values for the respective comparisons varied from t(11) = -1.087 to 1.785, all not significant).

4. Discussion

In the present series of experiments, significant elevation of body temperature was observed after bilateral cingulate cortical microinjection of IL-1β. The role of cyclooxygenase in the mode of action of the cytokine was also verified, as the COX-inhibitor paracetamol was effective to reduce hyperthermia caused by the microinjection. In addition to the above, a significant decrease of the plasma concentrations of HDL and total cholesterol was also observed after the cytokine treatment. Our findings are the first results in the literature with respect to the role of IL-1β in the central regulation of feeding and metabolism in the cingulate cortex [39]. The lack of side effects that enabled us to evaluate the important aspects of the findings, was due to the sequential experimental design and the low dosage of the cytokine used in the experiments.

The widespread distribution of IL-1 receptors throughout the brain has long been known, and these types of receptors have also been detected in the anterior cingulate cortex [10]. Cytokine mechanisms appear to be functional in this cortical area, among others, a significant increase of proinflammatory cytokines (IL-1β and TNF-α) was observed in the ACC in a pain induced aversion paradigm [40].

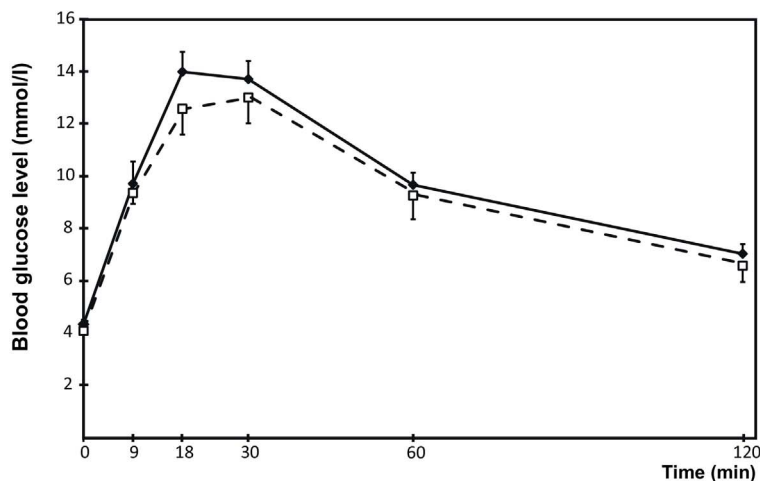


Fig. 4. Blood glucose levels measured during the glucose tolerance test. ♦ Interleukin-1β (n = 14) □ Control (n = 12).

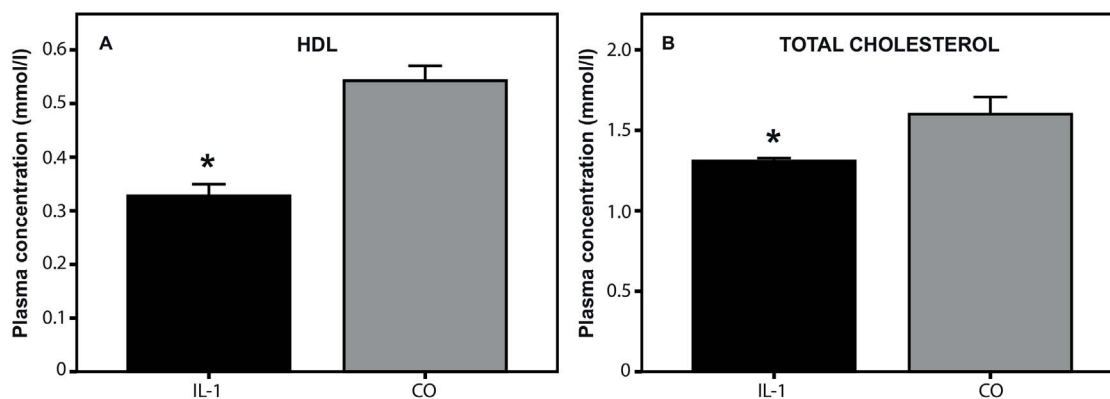


Fig. 5. Alterations in plasma HDL (A) and total cholesterol (B) concentrations 20 min after microinjection of IL-1 β into the cingulate cortex. IL-1, interleukin-1 β (n = 9), CO, control (n = 4). Bars represent means \pm SEM. HDL: IL-1 vs. CO, p < 0.001; total cholesterol: IL-1 vs. CO, p < 0.005.

The potential roles of local cytokine-mediated processes are also substantiated by the fact, that in extracellular single neuron recording experiments, in our laboratory, the existence of IL-1 β -responsive neurons has been shown in the cingulate cortex. Such neural cells are also present in the globus pallidus, orbitofrontal cortex and the nucleus accumbens [16,18,41], brain areas that have strong interconnections with the cingulate cortex and in which the role of IL-1 mediated mechanisms in homeostatic processes was already also revealed by our research group [16–18].

4.1. Food and water intake

The anorexigenic effect of IL-1 β has been demonstrated in numerous studies. The cytokine decreased food intake after peripheral [14], or central, i.c.v. [15], and intracerebral, intrahypothalamic administrations [12]. Reduction of food intake was also shown by our research group after direct bilateral microinjection of IL-1 β into the globus pallidus [16], orbitofrontal cortex [17] and nucleus accumbens [18]. The anorexigenic effect of the cytokine is considered to be mediated by IL-1 receptor type I, but its impact on the drinking behavior of the animals is supposed to be mediated by a distinct receptor mechanism [42]. This notion is supported by works where decrease in food intake after central administration of IL-1 β was not accompanied by hypo- or adipsia [17,42]. In some cases, even hyperdipsia could be observed along with the cytokine treatment [16]. In our present study, neither the food intakes nor the water intakes of the animals were influenced by the bilaterally administered microinjection of IL-1 β into the cingulate cortex. Our results let us to conclude that IL-1 β mediated mechanisms do not regulate food and water intake in a direct way in the cingulate cortex. However, it is known, that the sensory properties of the food (sight, taste, texture) are very important drivers of food intake [37]. The anterior cingulate cortex has an important role in the neural mechanisms associated with food motivation as it was demonstrated in an fMRI study comparing the hemodynamic response in obese and healthy weight adults viewing food and non-food images in pre- and postmeal conditions. In the premeal state, the obese group showed increased activation in the ACC compared to the healthy group, and the self-reported levels of disinhibition of these participants negatively correlated with the premeal activations of the ACC [36]. Activity in the anterior cingulate cortex showed correlation with the subjective pleasantness of fat texture and also with the pleasantness of flavor of the food in another fMRI study [34]. The anterior cingulate cortex was activated by pleasant and unpleasant odors (the anterior part of the ACC correlated with the subjective pleasantness evaluation of the odors), and various taste stimuli [37]. In taste reactivity tests, we examine the mimical and postural-locomotor organismic responses to various taste solutions. Our early results imply that there is a difference in the taste perception of the control animals and the ones that received

IL-1 β microinjection into their cingulate cortex [43]. Based on the above, despite the “negative” data in the FI and WI measurements in our present study, it is reasonable to suppose that the cingulate cortex, at least, through the evaluation of hedonic, pleasant or unpleasant properties of the food, has an important role in the organization of feeding behavior.

4.2. Thermoregulatory role

The enhanced activity of the anterior cingulate cortex was also shown to get induced by the perception of thermal pain [44]. Considering that the cingulate cortex is closely and reciprocally interrelated to the insular cortex which plays important role in thermosensory integration and releases autonomic and endocrine thermoregulatory signals [45], the role of the cingulate cortex in temperature changes associated regulatory processes appears to be reasonably supposed. Direct administration of IL-1 β into the cingulate cortex resulted in significant increase in body temperature. Although the pyrogenic effect of the cytokine has already been well known, based on reported hyperthermia both after its peripheral and central administration [16–20], it was the first time to demonstrate the thermoregulatory role of this primary cytokine in this cortical area. IL-1 β has been revealed to stimulate arachidonic acid metabolism, thus leading to the enhanced production of prostaglandin E2 (PGE2) from various cell types [46,47]. Based on these and other data of literature, fever is supposed to be caused by the actions of PGE2 on the vascular organ of lamina terminalis [48,49] and the preoptic anterior hypothalamic area [50].

4.3. Role of COX in the interleukin-1 β induced hyperthermia

The role of prostaglandin mediated mechanisms in the background of the action of IL-1 β has been confirmed by several studies using prostaglandin inhibitors to block homeostatic alterations induced by this primary cytokine [13,15,25]. In our present experiment, we examined if paracetamol inhibited the effect of IL-1 β . The pharmacology of paracetamol appears to be quite similar to that of the non-selective NSAIDs (such as ibuprofen, ketoprofen and naproxen) that inhibit the cyclooxygenase enzyme, thus preventing the biosynthesis of prostanoids from arachidonic acid, and especially to the selective COX-2 inhibitors [51]. The antipyretic effect of paracetamol is supposed to be due to COX-2 blockade, since COX-2 heterozygous mice displayed a strongly attenuated febrile response to lipopolysaccharide after a titrated dose of paracetamol that had no inhibiting effect on the lipopolysaccharide-induced fever in wild-type mice [52]. A further finding is that IL-1 β does not cause fever in COX-2 knockout mice as it does in COX-1 knockout mice [53]. As COX-3 is a splice variant of COX-1, the reason for antipyretic action of paracetamol also cannot be the

inhibition of COX-3 [54]. Data about the antipyretic effect of centrally administered paracetamol are, however, contradictory. Paracetamol pretreatment reduced (though did not completely abolish) the intrapallidal IL-1 β induced hyperthermia [16]. Only i.p. and not the centrally injected COX inhibitor was effective to prevent the elevation of body temperature elicited by IL-1 β given into the orbitofrontal cortex of rats [17]. It also seemed to be ineffective to prevent hyperthermia caused by the cytokine administered into the nucleus accumbens of rats, but our findings also showed that higher dose of paracetamol did block the raise in body temperature in the cytokine treated animals [18]. In our present experiment, paracetamol partially inhibited the hyperthermic effect of IL-1 β . This means that it is unquestionable, that cyclooxygenase mediated processes play important role in the IL-1 β induced hyperthermia, but this result also seems to substantiate that there are other mechanisms involved as well. There is evidence, for instance, that the central adrenergic system participates in the mediation of the IL-1 induced febrile response in rats [20]. The details and other potential processes of this presumably complex mechanism still remain to be fully explored and explained.

4.4. Metabolic role

The impact of either centrally or peripherally administered cytokines on the glucose metabolism has already long been discussed in the literature. Interpretations are, however, contradictory. Low doses of intraperitoneally delivered human recombinant IL-1 caused hypoglycemia in mice and rats, and this effect was supposed to be caused (probably in addition to other mechanisms) by increasing blood levels of insulin [22]. The latter was confirmed by a study where intravenous (iv), intracerebroventricular (icv) and even direct intracerebral administration of the cytokine into the preoptic anterior hypothalamic area led to hyperinsulinemia [55]. It was also revealed, that prostaglandins play a key role in this effect, since hyperinsulinemia was not observed after iv or icv injected IL-1 preceded by cyclooxygenase inhibitor (indomethacin, ibuprofen, or meclofenamate) pretreatment [56]. IL-1 showed antidiabetic properties as it normalized blood glucose levels in diabetic animal models [57]. This study concluded with the notion that the antidiabetic effect was not mediated by the insulin level increasing action of the cytokine. IL-1 also normalized the abnormal glucose tolerance of diabetic rats and stimulated fat mobilization in these animals [23]. It is well known that interleukin-1 has an important modulatory role in the acute-phase response in case of infections. This includes the increased glucose utilization of the organs by an insulin-dependent mechanism [58]. Nevertheless, glucose-induced insulin secretion of the islets of Langerhans is known to get inhibited by recombinant interleukin-1 (rIL-1); in this effect the inhibition of glucose-induced Ca²⁺ uptake by the islets has been postulated [59]. It was also shown that nitric oxide mediates the IL-1 β -induced inhibition of glucose-stimulated insulin secretion by islets of Langerhans [60]. In vitro observations at the same time, demonstrate the cytotoxic effect of interleukin-1 in isolated rodent islets [21]. Based on all the above, it is supposed that this primary cytokine should act as a mediator in the development of type 1 diabetes [61]. Presumably, the physiologic or pathologic direction of the effect of IL-1 is determined by its amount as well as by the spatial and temporal pattern of its production [62].

IL-1 β injected directly into the orbitofrontal cortex caused a prolonged hyperglycemia in the second half of the glucose tolerance test [17], and the administration of the cytokine into the NAcc also resulted in hyperglycemia and glucose intolerance [18]. In our present experiment, the blood glucose levels of the IL-1 β treated rats, compared to the control animals, did not change significantly during the GTT.

Numerous studies have shown that in case of bacterial infections, plasma levels of lipoproteins are lower during the febrile response [63,64]. Plasma levels of triglycerides are, however, in most cases elevated in infections and inflammation [65,66] and cytokines are

thought to mediate the mechanisms causing these alterations. Results are, however, not unequivocal. In a classic study where IL-1 β was administered via osmotic minipumps implanted into the peritoneal cavity of rats, a fall in plasma levels of cholesterol was observed [24] which seem to confirm the role of the cytokine in causing hypocholesterolemia. Furthermore, there was also reduction seen in the triglyceride levels in the same study elucidating the complex consequences of the continuous infusion of IL-1 β . IL-1 injected via the tail vein caused a fast increase in serum triglyceride levels, but it did not affect the serum cholesterol concentrations [67]. In our present experiments, a significant decrease in the plasma concentrations of HDL and total cholesterol was found after the cytokine microinjection directly into rostral region of the cingulate cortex. Plasma levels of triglycerides were higher in the IL-1 β treated group, but the difference was not significant. A previous study of our laboratory showed that IL-1 β injected directly into the NAcc caused significant elevation of not only the triglycerides, but the plasma cholesterol as well [18]. Our results and the data of literature obviously demonstrate that IL-1 β mediated central control mechanisms affecting lipid metabolism do necessarily exist, nevertheless, the actual changes of plasma concentrations of lipid metabolism associated metabolites greatly depend on the shifts of the balance of several interrelated regulatory factors.

After all, based on these and other data of literature, it is reasonable to suppose that the IL-1 β mediated processes in the cingulate cortex are intimately involved in the central regulation of homeostasis. In the maintenance of homeostasis and all related functions, the control of body temperature and the concentration of relevant plasma metabolites are of distinguished significance. The exact mechanisms and the numerous influencing factors of these complex regulatory processes are, however, yet to be defined.

Acknowledgements

The authors thank Ms. I. Fuchs for her devoted and essential technical help. This work was supported by Ajinomoto 51064/2009, SROP-4.2.1.B-10/2/KONV-2010-0002, SROP-4.2.2/B-10/1-2010-0029, EFOP-3.6.1-16-2016-00004, PTE ÁOK-KA 2013/34039/1, and by the Ministry of Human Capacities.

References

- [1] C.A. Dinarello, J.W. Mier, Lymphokines, *N. Engl. J. Med.* 317 (15) (1987) 940–945.
- [2] C.J. March, et al., Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs, *Nature* 315 (6021) (1985) 641–647 (p).
- [3] C.A. Dinarello, Biologic basis for interleukin-1 in disease, *Blood* 87 (6) (1996) 2095–2147.
- [4] C.R. Plata-Salaman, Immunoregulators in the nervous system, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 15 (2) (1991) 185–215.
- [5] C.A. Dinarello, Interleukin-1, *Dig. Dis. Sci.* 33 (Suppl. 3) (1988) 25S–35S.
- [6] A.J. Suckling, et al., Lymphocytic activation in peripheral blood and cerebrospinal fluid during the course of chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis, *J. Neuroimmunol.* 15 (1) (1987) 85–95.
- [7] H. Wekerle, et al., Immune reactivity in the nervous system: modulation of T-lymphocyte activation by glial cells, *J. Exp. Biol.* 132 (1987) 43–57.
- [8] M.E. Billingham, Cytokines as inflammatory mediators, *Br. Med. Bull.* 43 (2) (1987) 350–370.
- [9] C.D. Breder, C.A. Dinarello, C.B. Saper, Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus, *Science* 240 (4850) (1988) 321–324.
- [10] W.L. Farrar, et al., Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain, *J. Immunol.* 139 (2) (1987) 459–463.
- [11] C.R. Plata-Salaman, Dexamethasone inhibits food intake suppression induced by low doses of interleukin-1 beta administered intracerebroventricularly, *Brain Res. Bull.* 27 (5) (1991) 737–738.
- [12] S. Kent, et al., Reduction in food and water intake induced by microinjection of interleukin-1 beta in the ventromedial hypothalamus of the rat, *Physiol. Behav.* 56 (5) (1994) 1031–1036.
- [13] M.K. Hellerstein, et al., Interleukin-1-induced anorexia in the rat: *Influence of prostaglandins*, *J. Clin. Invest.* 84 (1) (1989) 228–235.
- [14] W. Langhans, D. Savoldelli, S. Weingarten, Comparison of the feeding responses to bacterial lipopolysaccharide and interleukin-1 beta, *Physiol. Behav.* 53 (4) (1993) 643–649.
- [15] C.R. Plata-Salaman, Y. Oomura, Y. Kai, Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system,

- Brain Res. 448 (1) (1988) 106–114.
- [16] Z. Karadi, et al., Homeostatic alterations after intrapallidal microinjection of interleukin-1beta in the rat, *Appetite* 44 (2) (2005) 171–180.
- [17] B. Lukats, et al., Homeostatic alterations induced by interleukin-1beta microinjection into the orbitofrontal cortex in the rat, *Appetite* 45 (2) (2005) 137–147.
- [18] G. Takacs, et al., Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat, *Appetite* 54 (2) (2010) 354–362.
- [19] M.J. Dascombe, et al., Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1 beta in the rat, *Am. J. Physiol.* 256 (1 Pt. 1) (1989) E7–11.
- [20] H. Ovidia, O. Abramsky, J. Weidenfeld, Evidence for the involvement of the central adrenergic system in the febrile response induced by interleukin-1 in rats, *J. Neuroimmunol.* 25 (2–3) (1989) 109–116.
- [21] K. Bendtzen, et al., Cytotoxicity of human p17 interleukin-1 for pancreatic islets of Langerhans, *Science* 232 (4757) (1986) 1545–1547.
- [22] A. del Rey, H. Besedovsky, Interleukin 1 affects glucose homeostasis, *Am. J. Physiol.* 253 (5 Pt. 2) (1987) R794–R798.
- [23] A. del Rey, et al., Metabolic and endocrine effects of interleukin-1 in obese, diabetic Zucker fa/fa rats, *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 104 (4) (1996) 317–326 (p).
- [24] A.R. Hermus, et al., Continuous infusion of interleukin-1 beta in rats induces a profound fall in plasma levels of cholesterol and triglycerides, *Arterioscler. Thromb.* 12 (9) (1992) 1036–1043.
- [25] A. Uehara, et al., Indomethacin blocks the anorexic action of interleukin-1, *Eur. J. Pharmacol.* 170 (3) (1989) 257–260.
- [26] E.A. Meade, W.L. Smith, D.L. DeWitt, Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs, *J. Biol. Chem.* 268 (9) (1993) 6610–6614.
- [27] B.F. Jones, H.J. Groenewegen, M.P. Witter, Intrinsic connections of the cingulate cortex in the rat suggest the existence of multiple functionally segregated networks, *Neuroscience* 133 (1) (2005) 193–207.
- [28] B.A. Vogt, G. Paxinos, Cytoarchitecture of mouse and rat cingulate cortex with human homologues, *Brain Struct. Funct.* 219 (1) (2014) 185–192.
- [29] P.G. Gasquoine, Localization of function in anterior cingulate cortex: from psychosurgery to functional neuroimaging, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 37 (3) (2013) 340–348.
- [30] D.H. Weissman, et al., Dorsal anterior cingulate cortex resolves conflict from distracting stimuli by boosting attention toward relevant events, *Cereb. Cortex* 15 (2) (2005) 229–237.
- [31] N.U. Dosenbach, et al., Distinct brain networks for adaptive and stable task control in humans, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104 (26) (2007) 11073–11078.
- [32] N.I. Eisenberger, M.D. Lieberman, Why rejection hurts: a common neural alarm system for physical and social pain, *Trends Cogn. Sci.* 8 (7) (2004) 294–300.
- [33] H.D. Critchley, et al., Human cingulate cortex and autonomic control: converging neuroimaging and clinical evidence, *Brain* 126 (Pt. 10) (2003) 2139–2152.
- [34] F. Grabenhorst, et al., How the brain represents the reward value of fat in the mouth, *Cereb. Cortex* 20 (5) (2010) 1082–1091.
- [35] L.G. Bie-Olsen, et al., Changes of cognition and regional cerebral activity during acute hypoglycemia in normal subjects: a H-2 O-15 positron emission tomographic study, *J. Neurosci. Res.* 87 (8) (2009) 1922–1928.
- [36] L.E. Martin, et al., Neural mechanisms associated with food motivation in obese and healthy weight adults, *Obesity (Silver Spring)* 18 (2) (2010) 254–260.
- [37] E.T. Rolls, Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste: olfaction, appetite and emotion, *Acta Physiol. Hung.* 95 (2) (2008) 131–164.
- [38] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, 1997.
- [39] B. Csetényi, et al., Feeding and Metabolic Consequences of IL-1 β Microinjection into the Cingulate Cortex in the Rat (abstract: P66), IBRO Workshop, Debrecen, Hungary, 2014.
- [40] Y. Lu, L. Zhu, Y.J. Gao, Pain-related aversion induces astrocytic reaction and proinflammatory cytokine expression in the anterior cingulate cortex in rats, *Brain Res. Bull.* 84 (2) (2011) 178–182.
- [41] B. Lukats, R. Eged, Z. Karadi, Single neuron activity changes to interleukin-1beta in the orbitofrontal cortex of the rat, *Brain Res.* 1038 (2) (2005) 243–246.
- [42] G. Sonti, M.C. Flynn, C.R. Plata-Salaman, Interleukin-1 (IL-1) receptor type 1 mediates anorexia but not adipsia induced by centrally administered IL-1beta, *Physiol. Behav.* 62 (5) (1997) 1179–1183.
- [43] B. Csetényi, et al., Cinguláris kérgi interleukin-1 β mikroinjekció fáz-percepciót módosító hatásának vizsgálata patkányban (in Hungarian, Abstracts: P.2.86.), Joint Conference of the Hungarian Pharmacology, Anatomy, Microcirculation and Physiological Societies (FAME) (2016).
- [44] A.D. Craig, et al., Functional imaging of an illusion of pain, *Nature* 384 (6606) (1996) 258–260.
- [45] J.R. Augustine, Circuitry and functional aspects of the insular lobe in primates including humans, *Brain Res. Brain Res. Rev.* 22 (3) (1996) 229–244.
- [46] S.L. Kunkel, S.W. Chensue, S.H. Phan, Prostaglandins as endogenous mediators of interleukin 1 production, *J. Immunol.* 136 (1) (1986) 186–192.
- [47] R.C. Newton, M. Covington, The activation of human fibroblast prostaglandin E production by interleukin 1, *Cell. Immunol.* 110 (2) (1987) 338–349.
- [48] T. Matsuda, T. Hori, T. Nakashima, Thermal and PGE2 sensitivity of the organum vasculosum lamina terminalis region and preoptic area in rat brain slices, *J. Physiol.* 454 (1992) 197–212.
- [49] J.T. Stitt, Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response, *Yale J. Biol. Med.* 59 (2) (1986) 137–149.
- [50] J.A. Boulant, Role of the preoptic-anterior hypothalamus in thermoregulation and fever, *Clin. Infect. Dis.* 31 (Suppl. 5) (2000) S157–S161 (p).
- [51] G.G. Graham, et al., The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings, *Inflammopharmacology* 21 (3) (2013) 201–232.
- [52] L.E. Ruud, et al., Acetaminophen reduces lipopolysaccharide-induced fever by inhibiting cyclooxygenase-2, *Neuropharmacology* 71 (2013) 124–129.
- [53] S. Li, et al., Cyclooxygenase-2 mediates the febrile response of mice to interleukin-1beta, *Brain Res.* 910 (1–2) (2001) 163–173.
- [54] S. Li, et al., Acetaminophen: antipyretic or hypothermic in mice? In either case, PGHS-1b (COX-3) is irrelevant, *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 85 (3–4) (2008) 89–99.
- [55] R.P. Cornell, D.B. Schwartz, Central administration of interleukin 1 elicits hyperinsulinemia in rats, *Am. J. Physiol.* 256 (3 Pt. 2) (1989) R772–R777.
- [56] R.P. Cornell, Central interleukin 1-elicited hyperinsulinemia is mediated by prostaglandins but not autonomic, *Am. J. Physiol.* 257 (4 Pt. 2) (1989) R839–R846.
- [57] A. del Rey, H. Besedovsky, Antidiabetic effects of interleukin 1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 86 (15) (1989) 5943–5947.
- [58] C.H. Lang, C. Dobrescu, Interleukin-1 induced increases in glucose utilization are insulin mediated, *Life Sci.* 45 (22) (1989) 2127–2134.
- [59] B.A. Wolf, et al., Interleukin-1 inhibits glucose-induced Ca²⁺ uptake by islets of Langerhans, *FEBS Lett.* 248 (1–2) (1989) 35–38.
- [60] J.A. Corbett, et al., Nitric oxide mediates IL-1 beta-induced islet dysfunction and destruction: prevention by dexamethasone, *Autoimmunity* 15 (2) (1993) 145–153.
- [61] A. Rabinovitch, An update on cytokines in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus, *Diabetes. Metab. Rev.* 14 (2) (1998) 129–151.
- [62] H.O. Besedovsky, A. Del Rey, Physiologic versus diabetogenic effects of interleukin-1: a question of weight, *Curr. Pharm. Des.* 20 (29) (2014) 4733–4740.
- [63] K. Sammalkorpi, et al., Changes in serum lipoprotein pattern induced by acute infections, *Metabolism* 37 (9) (1988) 859–865.
- [64] C. Alvarez, A. Ramos, Lipids, lipoproteins, and apoproteins in serum during infection, *Clin. Chem.* 32 (1 Pt. 1) (1986) 142–145.
- [65] C.A. Rouzer, A. Cerami, Hypertriglyceridemia associated with *Trypanosoma brucei* infection in rabbits: role of defective triglyceride removal, *Mol. Biochem. Parasitol.* 2 (1) (1980) 31–38.
- [66] R.L. Kaufmann, et al., Defective lipid disposal mechanisms during bacterial infection in rhesus monkeys, *Metabolism* 25 (6) (1976) 615–624.
- [67] K.R. Feingold, et al., Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat: Similarities to and differences from tumor necrosis factor, *Arterioscler. Thromb.* 11 (3) (1991) 495–500.



Homeostatic significance of interleukin-1 β in the cingulate cortex

Bettina Csetényi & Zoltán Karádi

To cite this article: Bettina Csetényi & Zoltán Karádi (2018): Homeostatic significance of interleukin-1 β in the cingulate cortex, *Temperature*, DOI: [10.1080/23328940.2017.1420999](https://doi.org/10.1080/23328940.2017.1420999)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/23328940.2017.1420999>



Accepted author version posted online: 16 Jan 2018.
Published online: 15 Feb 2018.



[Submit your article to this journal](#)



Article views: 11



[View related articles](#)



[View Crossmark data](#)

Homeostatic significance of interleukin-1 β in the cingulate cortex*

Comment on: Csetényi B, Hormay E, Szabó I, Takács G, Nagy B, László K, Karádi Z. Food and water intake, body temperature and metabolic consequences of interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. *Behav Brain Res.* 331:115-122. doi: 10.1016/j.bbr.2017.05.041.

Keeping the internal environment constant in a continuously changing external environment, i.e. the maintenance of homeostasis is crucial for the living organisms and it is served by several mechanisms. Interleukin-1 (IL-1) is one of the most important cytokines, peptide molecules that are responsible for the communication among the immune, neural and other cells of the organism in immune and inflammatory processes. Of the two isoforms of this primary cytokine, the 'beta' form appears to be biologically a lot more important. The IL-1 β is known to have numerous functional effects both in the immune and nervous systems, and its role has already been shown in homeostatic regulatory processes as well [1]. The target area of our present series of experiments was the anterior cingulate cortex which is known to be essential in motivational, emotional and cognitive control mechanisms. As part of the limbic system, it is supposed to be also involved in the organization of homeostatic processes. In microelectrophysiological experiments of our laboratory, the functional presence of IL-1 β responsive neural cells has been elucidated in this cortical area. Based on all the above, the goal of the highlighted study [2] was to reveal whether cytokine mechanisms of the cingulate cortex are important in the central regulation of homeostasis. To do so, changes in food and water intake, body temperature, and other metabolic functions, i.e. homeostatic effects of direct bilateral microinjection of IL-1 β into the cingulate cortex of adult male Wistar rats have been investigated. To clarify the role of cyclooxygenase (COX) – mediated mechanisms in the mode of the postulated action of IL-1 β , the effect of intracerebral pretreatment by the COX-inhibitor paracetamol was tested in our study.

Guide cannulas for the IL-1 β or vehicle microinjections were implanted on the surface of the dura above the cingulate cortex in a stereotaxic operation under ketamine anesthesia. One week later, IL-1 β ; paracetamol or sterile phosphate-buffered saline (PBS), in the sham control animals, were administered into the cingulate cortex as bilateral microinjections through the previously implanted guide cannulas (Figure 1).

Food and water consumption of the rats were monitored for one day after the microinjections: short- (2 h), medium- (12 h) and long-term (24 h) measurements were performed. Animals were divided into four groups in these experiments: half of both the cytokine-treated and the control animals received paracetamol pretreatment 25 minutes before the administration of IL-1 β or PBS. These experiments were carried out after 24 hours of food deprivation.

Body temperature of the same four groups of animals was measured rectally, just before and two hours after the intracerebral microinjections, by means of a digital thermometer.

In order to examine the blood glucose levels of cytokine treated and control rats, a standard glucose tolerance test was performed 12 hours following the food deprivation. Measurements were carried out right before and 20 minutes after the cerebral microinjections of IL-1 β or PBS, as well as 9, 18, 30, 60 and 120 minutes after the sugar load. Blood samples were taken from the tail vein of the rats and blood glucose levels were determined electrochemically by means of a semi-automatic glucometer.

Relevant plasma metabolites (total cholesterol, HDL, LDH, triglycerides, uric acid) of the animals were also determined following 12 hours of food deprivation. Blood samples were obtained after decapitation of the rats 20

*This article was commissioned by Andras Garami, Discovery Editor.

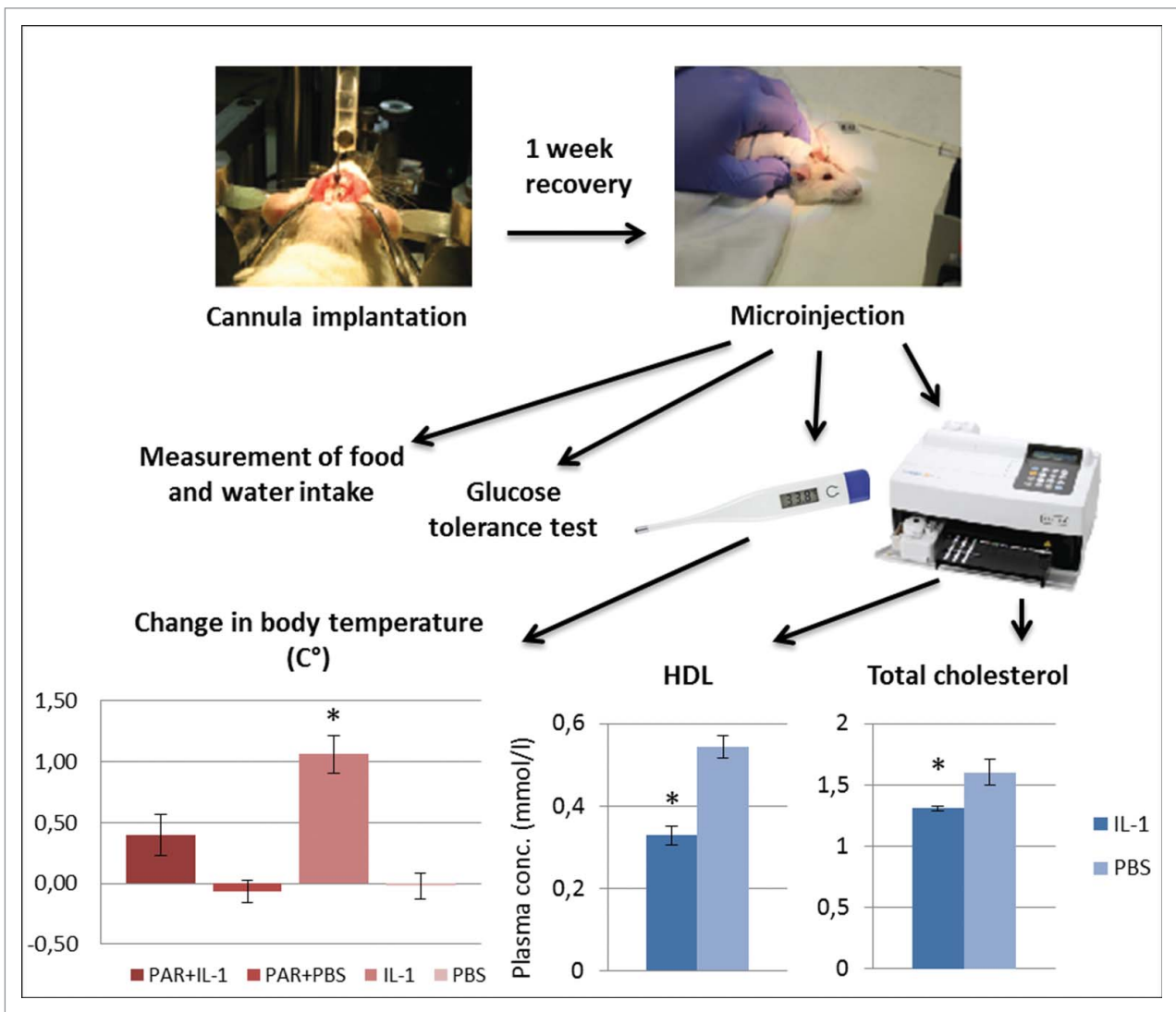


Figure 1. Guide cannulas for the IL-1 β or vehicle microinjections were implanted in a stereotaxic operation under ketamine anesthesia. After one week of recovery, IL-1 β , paracetamol or sterile PBS were administered into the cingulate cortex by means of a microinfusion pump through the previously implanted guide cannulas. Body temperature of the animals was measured by means of a digital thermometer just before and two hours after the microinjections. Measurement of relevant metabolites was performed 20 minutes after the microinjections by means of a cold chemistry photometer. Interleukin-1 β caused significant elevation of body temperature (* $p < 0.001$) and significant decrease in the plasma levels of HDL and total cholesterol (*HDL: $p < 0.001$; total cholesterol: $p < 0.005$). Food and water intakes and blood glucose levels of the animals did not change remarkably after the intracerebral microinjections.

minutes following the IL-1 β or PBS microinjections. A cold chemistry photometer was employed for these examinations.

All experiments were performed under protocols with approved ethical permissions.

Although the food and water intake decreasing effect of the cytokine is one of the most widely known consequences of the IL-1 β microinjection in other brain structures [3], the cingulate cortical administration of IL-1 β had no significant effect on these parameters. Instead, this primary cytokine applied into the cingulate cortex was shown to result in the elevation of body temperature. Despite the well known pyrogenic effect of intracerebrally administered IL-1 β [4], it was the first time to demonstrate its thermoregulatory role in this cortical area. The body temperature of the cytokine treated animals increased significantly compared to the control and the paracetamol pretreated groups. That is, the involvement of cyclooxygenase mediated processes in the IL-1 β induced fever was also substantiated. Nevertheless, the paracetamol prevented the body temperature rising effect only

partially, which necessarily means the involvement of other mechanisms as well. The details and other potential elements of this presumably complex mechanism are yet to be fully explored.

The blood glucose levels of the interleukin-1 β treated rats were higher throughout the whole glucose tolerance test compared to values of the vehicle treated animals, but the difference did not reach the level of significance. Interpretations about the effect of cytokines on glucose metabolism are contradictory in the literature, presumably it is determined by its local available amount and the spatial and temporal pattern of its production [5]. In contrast to causing no major alteration in the blood glucose levels, a significant decrease was observed in the plasma concentrations of HDL and total cholesterol after the cytokine microinjection into the cingulate cortex. Plasma levels of triglycerides were marginally higher in the IL-1 β treated group, but in the concentrations of the other measured metabolites there was no remarkable alteration compared to the control animals. Cytokines are thought to be involved in the mediation of the alterations of plasma levels of triglycerides and lipoproteins in infectious and inflammatory diseases, but these results are, again, contradictory. In a previous study of our laboratory, for instance, IL-1 β injected directly into the nucleus accumbens resulted in significant elevation of not only the triglycerides, but the plasma cholesterol as well [1]. Results make it clear that IL-1 β mediated central control mechanisms affecting lipid metabolism do necessarily exist. The actual changes of plasma concentrations of lipid metabolism associated metabolites, however, depend on several interrelated regulatory factors.

After all, based on the findings of the highlighted study, it is reasonable to suppose that the IL-1 β mediated processes in the cingulate cortex have important role in the central regulation of homeostasis. The close control of body temperature, and the actual concentration of relevant plasma metabolites are of great significance in the maintenance of the homeostatic balance of the organism. Elucidating the above mentioned processes lead to the better understanding of the complex interactions among the regulatory systems of the healthy organism, and also those found in such feeding-metabolic disorders, like obesity and diabetes mellitus that are known to impose a rapidly increasing heavy burden on the modern societies.

References

- [1] Takács G, Papp S, Lukács B, et al. Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *Appetite*. 2010;54(2):354–362. doi:10.1016/j.appet.2010.01.001.
- [2] Csetényi B, Horányi E, Szabó I, et al. Food and water intake, body temperature and metabolic consequences of interleukin-1beta microinjection into the cingulate cortex of the rat. *Behav Brain Res*. 2017;331:115–122. doi:10.1016/j.bbr.2017.05.041.
- [3] Kent S, Rodriguez F, Kelley KW, et al. Reduction in food and water intake induced by microinjection of interleukin-1 beta in the ventromedial hypothalamus of the rat. *Physiol Behav*. 1994;56(5):1031–1036. doi:10.1016/0031-9384(94)90339-5.
- [4] Dascombe MJ, Rothwell NJ, Sagay BO, et al. Pyrogenic and thermogenic effects of interleukin 1 beta in the rat. *Am J Physiol*. 1989;256(1 Pt 1):E7–11.
- [5] Besedovsky HO, Del Rey A. Physiologic versus diabetogenic effects of interleukin-1: a question of weight. *Curr Pharm Des*. 2014;20(29):4733–4740. doi:10.2174/1381612820666140130204401.

Bettina Csetényi and Zoltán Karádi

*Institute of Physiology, Medical School, University of Pécs, H-7624 Pécs, Szigeti út 12
Neuroscience Centre, Szentágothai János Research Centre, University of Pécs, H-7624 Pécs, Ifjúág út 20*

✉ bettina.csetenyi@aok.pte.hu; ✉ zoltan.karadi@aok.pte.hu



Research report

Disturbance of taste reactivity and other behavioral alterations after bilateral interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat



Bettina Réka László^{a,b,*}, Edina Hormay^{a,b}, István Szabó^{a,b}, Kitti Mintál^{a,b}, Bernadett Nagy^{a,b},
Kristóf László^{a,b}, László Péczely^{a,b}, Tamás Ollmann^{a,b}, László Lénárd^{a,b,c}, Zoltán Karádi^{a,b,c}

^a Institute of Physiology, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary

^b Centre for Neuroscience, Szentágotthai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary

^c Molecular Neuroendocrinology and Neurophysiology Research Group, Szentágotthai Research Centre, University of Pécs, Pécs, Hungary

ARTICLE INFO

Keywords:

Cingulate cortex
interleukin-1 β
Taste reactivity
Conditioned taste aversion
Open field
Place preference

ABSTRACT

The anterior cingulate cortex (ACC), is known to be intimately involved in food-related motivational processes and their behavioral organization, primarily by evaluating hedonic properties of the relevant stimuli. In the present study, the involvement of cingulate cortical interleukin-1 β (IL-1 β) mediated mechanisms in a) gustation associated facial and somato-motor behavioral patterns of Wistar rats were examined in taste reactivity test (TR). In addition, b) conditioned taste aversion (CTA) paradigm was performed to investigate the role of these cytokine mechanisms in taste sensation associated learning processes, c) the general locomotor activity of the animals was observed in open field test (OPF), and d) the potentially negative reinforcing effect of IL-1 β was examined in conditioned place preference test (CPP).

During the TR test, species specific behavioral patterns in response to the five basic tastes were analyzed. Response rates of ingestive and aversive patterns of the cytokine treated and the control groups differed significantly in case of the weaker bitter (QHCl, 0.03 mM), and the stronger umami (MSG, 0.5 M) tastes. IL-1 β itself did not elicit CTA, it did not interfere with the acquisition of LiCl induced CTA, and it also failed to cause place preference or aversion in the CPP test. In the OPF paradigm, however, significant differences were found between the cytokine treated and the control groups in the rearing and grooming, the number of crossings, and in the distance moved. Our results indicate the involvement of cingulate cortical IL-1 β mechanisms in the control of taste perception and other relevant behavioral processes.

1. Introduction

Feeding and drinking behaviors are the result of complex neural and humoral regulatory processes. The primary cytokine interleukin-1 β (IL-1 β) is known to have remarkable influence on the central regulation of feeding and metabolism. Numerous studies demonstrated its anorexigenic effect after peripheral [1], icv [2], and even direct, intracerebral [3] administrations. This characteristic response is considered to be mediated by IL-1 receptor type I [4]. By means of a distinct receptor mechanism, it also has an impact on water intake [3,5]. In previous works of our laboratory, similar effects of bilateral microinjection of the cytokine were elucidated in the globus pallidus (GP), orbitofrontal cortex (OFC) or nucleus accumbens (NAcc) [5–7].

There is increasing evidence that inflammatory states are associated with gustatory alterations and related disorders. A “whole mouth method” gustatory test, comparing healthy control subjects and

patients with acute inflammatory disease, revealed that the latter had increased taste detection and recognition thresholds for umami taste [8]. Inflammatory cytokine expression after intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS) [9] significantly decreased the number of new taste bud cells and so it inhibited taste cell renewal [10]. LPS-induced sickness caused the increase of aversive responses and the decrease of ingestive ones to mixed taste solution [11], furthermore, LPS and IL-1 β were shown to decrease sucrose intake in rats [12]. Taste disorders were observed in non-alcoholic fatty liver disease patients [13], in a condition in which interleukin-1-type cytokines are closely involved in the pathological processes [14]. Interleukin-1 β secretion of human macrophages exposed to hepatitis C virus is likely to play an important role in hepatic inflammation [15]. Taste perception alterations were also recognized in chronic hepatitis C patients [16]. Liver disease related alterations in the sense of taste are supposed to be mediated by brain derived neural mechanisms [17]. Since there is a neural

* Corresponding author at: Institute of Physiology, Medical School, Pécs University, Szigeti Str. 12, 7624 Pécs, Hungary.

E-mail address: bettina.csetenyi@aok.pte.hu (B.R. László).

interaction between IL-1 β and the activity of hepatic vagus nerve fibers (the infusion of IL-1 β into the portal vein led to vagal nerve excitation [18]), increased cytokine production in liver disease can be a possible cause of the related gustatory dysfunctions by triggering neural stimulation toward the brainstem, where - at least part of - the taste-associated information is processed [17].

The target brain area of our present series of experiments is the anterior cingulate cortex (ACC). This region is mainly known for its important role in the control of cognitive and emotional processes. Based on findings of neuropsychological and functional neuroimaging studies, it is considered to monitor the emotional aspects of stimuli and it also modifies organismic responses given in states when - among unusual circumstances - intensified cognitive control is needed [19]. ACC is active, for instance, when the balance of homeostasis is disturbed: in hunger [20], thirst [21], or hypoglycemia [22], and also during, e.g., overheating [23]. All the above demonstrates its crucial significance in the organization of goal-oriented behavioral output patterns. As such, and as part of the forebrain limbic circuitry, the cingulate cortex appears to be indispensable in the central regulation of feeding and metabolism as well [24,25]. The contribution of IL-1 β mediated mechanisms in homeostatic processes has already been shown by our research group in several limbic forebrain structures, for example, in the orbitofrontal cortex and the nucleus accumbens [6,7], areas known to have intense and reciprocal interconnections with the cingulate cortex [26,27]. The presence of IL-1 receptors in the anterior cingulate cortex has long been known [28], furthermore, microelectrophysiological single unit recording experiments of our laboratory revealed the existence of neurons altering their firing rate in response to locally, electro-osmophoretically administered IL-1 β here (unpublished data).

In another series of our previous studies, we examined the effect of bilaterally microinjected IL-1 β into the cingulate cortex on food and water intake, body temperature and plasma levels of relevant metabolites [29]. The results elucidated that IL-1 β mediated mechanisms in this cortical area do not regulate food and water intake in a direct way, since the cytokine had no remarkable impact on either the food or the water intakes of the animals. The significant decreases in the plasma concentrations of high density lipoprotein and total cholesterol and the marked elevation of body temperature [29], however, clearly demonstrated the involvement of cingulate cortical IL-1 β mediated processes in the central regulation of homeostasis.

The anterior cingulate cortex is intimately involved in neural control mechanisms of motivational determination of behavioral actions. Recent fMRI studies clearly demonstrated the role of this area in food motivation, as well as the determinant role of gustation in it. Namely, it has been revealed that the ACC of obese participants expressed greater activation to food vs non-food pictures compared to members of the healthy weight control group [24]. It has been also shown that activation of the ACC was more likely to respond to sweet high-calorie than to savory high-calorie foods [30]. The ACC, together with the orbitofrontal cortex, appears to take part in the encoding of the pleasantness/aversiveness of sensory stimuli: ACC activation, for example, correlated with the subjective pleasantness ratings of odors [31], fat texture and also with the pleasantness of flavor of the food [32].

Since food intake is greatly influenced by the aforementioned sensory properties (sight, taste, smell, texture) of the meal, we hypothesize that the cingulate cortex is involved in the organization of feeding behavior through the evaluation of hedonic, pleasant or unpleasant properties of the food. In the present series of experiments, therefore, IL-1 β was bilaterally microinjected into the cingulate cortex, and its effects on the taste perception of adult male Wistar rats were examined in taste reactivity tests. Additionally, conditioned taste aversion paradigm was also performed to investigate the role of cingulate cortical adaptive IL-1 β mechanisms in taste sensation associated learning processes.

IL-1 β as a pro-inflammatory cytokine is known to be responsible for

inducing inflammation-related feelings like malaise and lethargy, collectively known as sickness behavior. Furthermore, it can induce anxiety-like behavior and depression [33–35], conditions that are characterized by decreased locomotion. The question arises, whether the possible alterations in the taste reactivity test after the cytokine treatment may be an indirect consequence of these conditions. In order to exclude this possibility, open field test was performed to examine the locomotor and exploratory activity of the animals. The potentially aversive effect of IL-1 β was also examined in conditioned place preference test.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

Altogether 112 adult male Wistar rats weighing 270–310 g at the beginning of the study, were used in this series of experiments, from which the data of 97 were evaluated. The animals were kept on standard laboratory chow pellet food (Charles River Ltd., Budapest, Hungary) and tap water *ad lib* in individual cages in a room with constant temperature (23 ± 2 °C) and humidity (55–60 %), as well as with 12–12 hours dark/light cycle. Our experiments were performed in accordance with institutional (breeding license No.: BA 02/2000-72/2017), national (Law XXVIII, 1998, Government Decree, 40/2013. (II.14) Hungary) and international regulations (European Community Council Directive 86/609/EEC; 1986, 2006; European Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council; National Institutes of Health Guidelines, 1997). The number of animals minimally needed to evaluate the results was used in our experiments and all efforts were made to provide the required conditions for their well-being, and also, to minimize their suffering.

2.2. Surgery

Chronic intraoral, so called taste cannulas made of polyethylene tubes (HIBIKI, Japan; outer diameter: 1.33 mm) were implanted into the oral cavity of the animals taking part in the taste reactivity test. These cannulas were used to deliver the gustatory stimulus solutions into the mouth during the test. The operation was performed under anesthesia introduced by the intraperitoneal injection of 4:1 mixture of ketamine (Calypsol, Richter Gedeon Rt., Hungary; 80 mg/kg body weight) and diazepam (Seduxen, Richter Gedeon Rt., Hungary; 20 mg/kg body weight). The cannulas were placed anterolateral to the first maxillary molar and led through a small transbuccal slit subcutaneously up to the lateral part of the skull. Cannulas were fixed by surgical stitches, and antiseptic solution was applied locally after finishing this operation (Betadine, EGIS, Budapest, Hungary).

Guide cannulas for the intracerebral IL-1 β or vehicle microinjections were compiled from stainless steel hypodermic needles (23 G). These microcannulas were implanted bilaterally above the cingulate cortex in stereotaxic operation sessions. During the microinjection session, delivery cannulas were passed through these guide cannulas to administer substances directly into the cingulate cortex. These operations, to prepare for the microinjection, were performed right after the implantation of the taste cannulas, in joint sessions, under the same anesthesia. After the head of the animals was fixed, a longitudinal incision was made above the scalp and the bone was cleared. Hydrogen peroxide was used to reduce bleeding and for disinfecting as well. Under microscopic control, a stereotaxically oriented hole was drilled through the skull by means of an appropriate dental drill. Guide cannulas were placed on the surface of the dura above the cingulate cortex through this hole by means of a micromanipulator (MN-33 Narishige, Japan). Coordinates (AP: B + 2,7 mm, ML: 0,9 mm) were determined by using the rat brain atlas of Paxinos and Watson [36]. Pairs of the cannulas were fixed in position with dental acrylic, then, after local application of antiseptic powder (Tetran, Richter Gedeon Rt., Hungary),

Bregma 2.70 mm

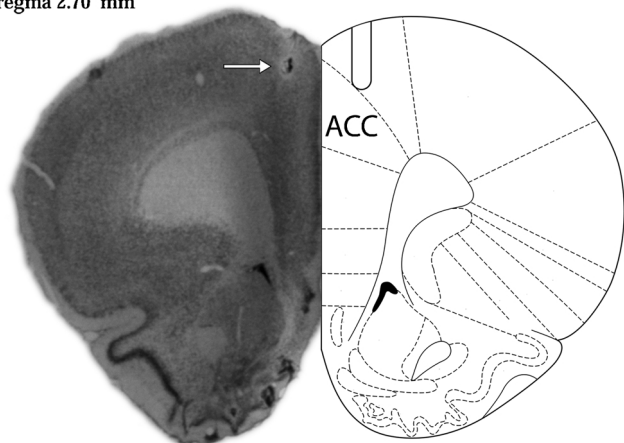


Fig. 1. Histological illustration of the delivery cannula track position (arrow) and the schematic drawing of the corresponding half-brain section from the rat brain atlas of Paxinos and Watson [36].

the wound was closed. All operations were followed by one week of recovery period.

2.3. Cingulate cortex microinjections

IL-1 β (SIGMA; 5 ng/ μ l; dissolved in 0.1 % phosphate-buffered saline /PBS/ containing 0.1 % bovine serum albumin /BSA/), or sterile PBS in the control animals, were administered into the cingulate cortex as bilateral microinjections by means of a microinfusion pump (Cole Parmer 789200C). Hamilton syringes containing the solutions were connected to the stainless steel delivery cannulas (30 G) via Hibiki 3 (Hibiki, Japan) polyethylene tubes. The delivery cannulas were then passed on to the required brain area, i.e., to the ACC (AP: Bregma + 2,7 mm, ML: 0,9 mm, V: 1,6 mm; Fig. 1.) through the previously implanted guide cannulas. During the 1 min interval of the microinjection, 0.75 μ l solution (that means, 3.75 ng of IL-1 β) was given each side of the brain. After the administrations were finished, the cannulas were left in place in the brain for an additional minute to allow free diffusion of chemicals and to prevent backflow of the solutions. The microinjections were performed in well-handled awake animals being calm on the experimental table.

Fig. 1. Histological illustration of the delivery cannula track position (arrow) and the schematic drawing of the corresponding half-brain section from the rat brain atlas of Paxinos and Watson [36].

2.4. Experiments

2.4.1. Taste reactivity test (TR)

An adapted and modified version of the taste reactivity test originally introduced by Grill and Norgren [37] was used in our laboratory. Three days after the surgery, rats were started to be trained to get accustomed to the experimental circumstances. They were placed in a plexiglass cylinder (30 cm high and 30 cm in diameter) for one minute and the taste cannulas were rinsed with distilled water on a daily basis. The taste reactivity tests were started 20 min after the intracerebral microinjections: 0.5 ml of the taste solutions were delivered into the oral cavity of the animals at 0.5 ml/min rate by means of a microinjection pump (Cole Parmer 789200C). Gustatory stimulus solutions representing the five basic taste qualities were administered in two concentrations: sweet (sucrose, 0.05 and 0.5 M); salty (NaCl, 0.05 and 0.5 M); sour (HCl, 0.03 and 0.3 M), bitter (quinine-HCl /QHCl/, 0.03 and 3.0 mM); and umami (monosodium-L-glutamate /MSG/, 0.05 and 0.5 M). Species specific facial expressions and postural-locomotor behavioral patterns of animals in response to the taste stimuli were recorded by digital video camera for later frame-by-frame evaluation. A

mirror tilted and positioned in 45° angle was fixed under the cylinder, and this enabled the observation of the mouth and the perioral region of the animals during the entire test period. Rhythmic mouth movements, rhythmic tongue protrusions along the midline, lateral tongue movements and paw licking were evaluated as ingestive, while gaping, chin rubbing, head shaking, forelimb flailing and evoked, escape-like locomotor movements as aversive behavioral patterns. The recordings were analyzed by three experienced evaluators who did not know the grouping of the rats. Responses of the animals, corresponding to the strength and duration of ingestive and/or aversive behavioral patterns, separately, were evaluated by a score (up to 3) for each taste solution. Then, so called ingestive and aversive taste reactivity indices were generated to all the tastes from the average of the summarized scores of the animals by dividing these values by 3.

2.4.2. Conditioned taste aversion test (CTA)

Conditioned taste aversion (CTA) means the long term avoidance of a certain taste of food or fluid after it is associated with gastrointestinal discomfort or malaise. Two distinct arrangements of the experiment were performed in our present study using different animal groups. On the one hand, the potential taste aversion eliciting capacity of IL-1 β itself was tested. On the other hand, the potential modifying effect of IL-1 β on the acquisition process of LiCl induced taste aversion was also examined.

Rats were trained to consume their daily water need restricted to 30 min intake sessions every morning from 10:00 to 10:30 a.m. The guide cannula implanting surgery took place after the animals had learned the new drinking schedule. After the operations, during 3 days of recovery, water was provided *ad libitum* for them. Following this 3-day long period, rats were re-acquainted to the daily 30 min fluid consumption schedule. On the conditioning day, a novel taste solution (0.1 % Na-saccharinate solution) was introduced to the animals, instead of water.

In the first paradigm, microinjection of IL-1 β or PBS (controls) was performed 30 min after the fluid consumption session of the animals.

In the second paradigm, microinjection of IL-1 β or PBS was performed right after the drinking period, and 15 min later the rats were injected i.p. with the gastrointestinal discomfort inducing lithium chloride (0.15 M, 20 ml/kg b. w.). After these procedures, animals had water available for 3 days in the 30 min schedule again. On the 4th (test) day, water was replaced by saccharin solution again in the ordinary half hour drinking period, and consumptions of the saccharin solution measured on the conditioning and the test days in the cytokine treated and the control groups were statistically compared.

2.4.3. Open field test (OPF)

Species specific motor patterns and locomotor activity of the animals were examined in open field test (OPF). On the first day a habituation session was accomplished, and on the second day, basal activity was studied without any microinjections. On the test day, OPF was performed 20 min after the bilateral intracerebral microinjections of either the cytokine or the vehicles. The animals were placed into a 50 cm x 50 cm x 50 cm box lit by a red bulb and their activity was recorded for 5 min by means of a digital video camera fixed above the apparatus. The ground of the cage was virtually divided into 16 identical squares in order to define the peripheral, corner and center areas of the box. Rearing, grooming, sniffing, urination and defecation, the distance moved, the number of crossings and the time spent in the different parts of the box were investigated. Data were stored and analyzed by means of the Noldus EthoVision Basic software (Noldus Information Technology B.V., Wageningen, The Netherlands).

2.4.4. Conditioned place preference test (CPP)

Positive or negative reinforcing effects of drugs can be examined by the conditioned place preference test [38,39]. We employed the internationally validated protocol, the experimental setup and the examination procedure of our Institute [40]. Experiments were performed

in an isolated experimental room that was dimly lit. The corral consisted of a circular open field arena with a diameter of 85 cm and with a 40 cm high wall. The ground base of the apparatus was divided into four quadrants of equal size by black lines. External visual cues on the inside walls of the corral helped the animals in spatial orientation inside the apparatus. The place preference procedure consisted of a habituation (day 1), a conditioning (day 2) and a test (day 3) trial, each lasted for 900 s (15 min). In the habituation trial animals were placed into the apparatus and had free access to all parts of it for 900 s. The apparatus was cleaned and dried after each rats. The time the animals spent in each of the four quadrants was measured. Treatment quadrant was determined to be one of the four quadrants in which the animal had spent neither the longest nor the shortest time during habituation. On the conditioning day, animals received the IL-1 β or PBS microinjections and 20 min later they were restricted to the treatment quadrant for 15 min by means of a plexiglass barrier. On the test day, rats had free access to all parts of the apparatus again. The time they had spent in each of the four quadrants was measured and compared between the two groups. Behavior of the animals was recorded by a digital video camera. Data were stored and analyzed by means of the EthoVision Basic software (Noldus Information Technology B.V., Wageningen, The Netherlands).

2.5. Histology

After all experiments ended, rats were over-anesthetised (urethane, 25 % fresh solution, 7 ml/kg b.w.; i.p.) and transcardially perfused by physiological saline and 4 % formaline in order to determine the location of the bilaterally positioned cannulas in the brain. Brains were removed from the skull, and fixed in 4 % formaline. Frozen, 40 μ m thin sections were stained by cresyl violet (Nissl staining). Rats with inappropriate cannula positions (15 from all the 112 animals) were excluded from data analysis (Fig. 2).

Fig. 2. Illustration of reconstructed injection sites. Correct bilateral injection placements (tips of infusion cannulas) are indicated on panel A (n = 97). Incorrect injection placements are indicated on panel B (n = 15). Brain structure diagrams of coronal sections are adapted from the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [36]. The numbers refer to anterior–posterior distance from Bregma in mm. Identical symbols (black and grey dots and empty circles) indicate coherent injection sites of bilateral microinjections. Numbers above marked sites indicate numbers of animals.

2.6. Data analysis

For the processing and statistical analysis of our experimental data, the “SPSS for Windows” program package was employed. Results were presented as means \pm SEM. One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey’s test for post hoc comparisons or Student’s *t*-test were used for the statistical evaluation of data. Differences were considered to be significant at the level of $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Taste reactivity test (TR)

Ingestive and aversive taste reactivity indices are presented in Fig. 3. The differences between the responses of the control and the IL-1 β treated animals were significant in case of two taste solutions, namely the lower concentration bitter (QHCl, 0.03 mM) solution and the higher concentration umami (MSG, 0.5 M) solution. In the control group, there was no remarkable difference between the ingestive and aversive reactions in response to these tastes [QHCl, 0.03 mM: $F(3, 76) = 9.288$, $p = 0.827$; MSG, 0.5 M: $F(3, 76) = 6.450$, $p = 0.853$]. In the cytokine treated group, however, there was a significant difference between the ingestive and aversive taste reactivity indices in case of both tastes

(QHCl, 0.03 mM: $p < 0.001$; MSG, 0.5 M: $p < 0.001$). These results are presented in Fig. 4. The IL-1 β treated rats definitely evaluated these tastes as a pleasant stimulus by showing significantly more ingestive than aversive reactions. For the other taste solutions, there were no significant differences between the groups. The 0.05 M NaCl, 0.05 M sucrose, 0.05 M MSG, 0.03 M HCl and 0.5 M sucrose that were clearly pleasant for the control animals since they showed significantly more ingestive than aversive reactions to these tastes [NaCl, 0.05 M: $F(3, 76) = 26.016$, $p < 0.001$; sucrose, 0.05 M: $F(3, 76) = 37.742$, $p < 0.001$; MSG, 0.05 M: $F(3, 76) = 19.799$, $p < 0.001$; HCl, 0.03 M: $F(3, 76) = 10.509$, $p = 0.005$; sucrose, 0.5 M: $F(3, 76) = 10.436$] remained pleasant in the IL-1 β treated rats as well (NaCl, 0.05 M: $p < 0.001$; sucrose, 0.05 M: $p < 0.001$; MSG, 0.05 M: $p < 0.001$; HCl, 0.03 M: $p < 0.001$; sucrose, 0.5 M: $p = 0.498$). The 3 mM QHCl and 0.3 M HCl that were definitely unpleasant for the control animals, since they showed significantly more aversive than ingestive responses [QHCl, 3 mM: $F(3, 76) = 36.419$, $p < 0.001$; HCl, 0.3 M: $F(3, 76) = 224.787$, $p < 0.001$] remained unpleasant in the IL-1 β treated rats as well (QHCl, 3 mM: $p < 0.001$; HCl, 0.3 M: $p < 0.001$). Ingestive responses dominate in case of the 0.5 M NaCl, but the difference is not significant [$F(3, 76) = 3.250$, $p = 0.853$], similarly to the reactions of the control animals ($p = 0.164$).

Fig. 3. Ingestive and aversive taste reactivity indices including all taste solutions

Fig. 4. Taste reactivity indices in response to the lower concentration QHCl and the higher concentration MSG solution

3.2. Conditioned taste aversion test (CTA)

In the first paradigm of the conditioned taste aversion test, IL-1 β given bilaterally into the cingulate cortex itself did not elicit conditioned taste aversion [$F(3, 24) = 3.724$, $p = 0.025$] (Fig. 5.). The post hoc Tukey’s test revealed that there were no significant alterations in the fluid consumption of the cytokine treated animals on the test day compared to the conditioning day ($p = 0.653$), and compared to the control animals on the test day either ($p = 0.403$).

In the second paradigm of the conditioned taste aversion test, the cytokine was proven not to interfere with the acquisition process (Fig. 6.). Taste aversion has developed in both groups [$F(3, 20) = 20.168$, $p < 0.001$]: there was a significant decrease in the fluid intake values of the conditioning day compared to those of the test day, both in the cytokine treated ($p < 0.001$) and the control group ($p = 0.001$). In addition, there was no significant difference between the cytokine treated and the control animals ($p = 0.835$) in their test day’s consumptions.

Fig. 5. Fluid consumption in grams on the conditioning and the test day in the 1 st paradigm of the CTA test

Fig. 6. Fluid consumption in grams on the conditioning and the test day in the 2nd paradigm of the CTA test

3.3. Open field test (OPF)

In the OPF test, significant differences were observed between the locomotor activity of the cytokine treated and the control group (independent samples *t*-test, Fig. 7a, 7b, 7c). The values of the IL-1 β treated group were found to be significantly higher in case of the number of rearing (IL-1: 12.14 ± 1.06 , CO: 4.67 ± 1.12 ; $t(11) = 4.86$, $p = 0.001$), the number of grooming (IL: 5.14 ± 0.83 , CO: 2.17 ± 0.6 ; $t(11) = 2.82$, $p = 0.017$), the distance moved (IL: 1428.09 ± 34.81 , CO: 894.43 ± 162.55 ; $t(5.46) = 3.21$, $p = 0.021$), and the number of crossings in the corner areas (IL: 23.67 ± 1.67 , CO: 12.50 ± 3.61 ; $t(10) = 2.81$, $p = 0.019$). There were no significant differences between the two groups in case of sniffing, the number of crossings in the middle and peripheral areas and the time spent in the different areas of the open field box. Similarly, no significant differences were found in the locomotor activity of the animals during the habituation and the basal

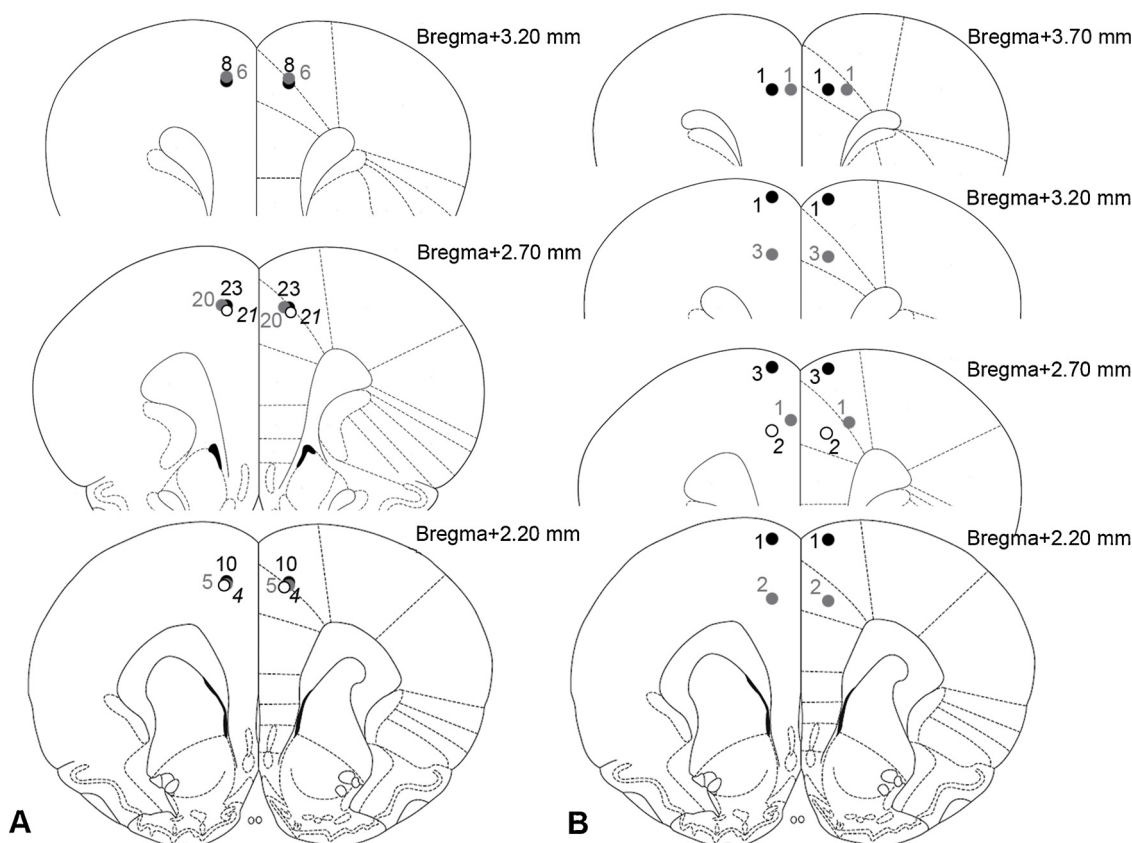


Fig. 2. Illustration of reconstructed injection sites. Correct bilateral injection placements (tips of infusion cannulas) are indicated on panel A ($n = 97$). Incorrect injection placements are indicated on panel B ($n = 15$). Brain structure diagrams of coronal sections are adapted from the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [36]. The numbers refer to anterior–posterior distance from Bregma in mm. Identical symbols (black and grey dots and empty circles) indicate coherent injection sites of bilateral injections. Numbers above marked sites indicate numbers of animals.

activity measurements.

Fig. 7. Significant alterations observed in the open field test (OPF): a. number of rearing and grooming; b. distance moved in cm; c. number of crossings in the corners

3.4. Conditioned place preference test (CPP)

No significant difference was found between the behavior of the IL-1 β treated and the control animals on the test day of the conditioned place preference test (IL:116.8 \pm 38.0, CO:159.6 \pm 66.5; $t(10) = -0.776$, $p = 0.456$; independent samples t -test; **Fig. 8.**). There was no significant alteration between the values of IL-1 β treated animals on the habituation and the test day either (H:189.4 \pm 28.1, T:116.8 \pm 38.0; $t(5) = 1.827$, $p = 0.127$; paired samples t -test; **Fig. 8.**) that is, neither conditioned place preference, nor conditioned place aversion was observed.

Fig. 8. Results of the conditioned place preference test (CPP): time spent in the treatment quadrant during the habituation and the test days

4. Discussion

The involvement of the cingulate cortex in taste perception is somewhat discussed in the literature, nevertheless, our knowledge is very limited concerning fine details of the regulatory processes. The pregenual cingulate cortex was demonstrated to receive connections from the orbitofrontal cortex [26] where the secondary cortical taste area was discovered in primates [41]. Moreover, since neurons with gustatory responsiveness have been recorded in the cingulate cortex [25], this part of the brain is regarded to include a tertiary cortical taste

representation area [42]. In the insular-opercular primary taste cortex, the identity and the intensity of the gustatory stimulus are the most important represented attributes. By contrast, in the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices (secondary and tertiary taste cortices), the reward value, i.e. the pleasantness of the taste appears to be more determinant [43]. Considering the above, the taste reactivity test was appropriate to use to examine certain, especially hedonic taste perception processes, as it compares the responses of the animals given to pleasant and unpleasant gustatory stimuli. In this respect, our present series of experiments to demonstrate the hedonic effect of IL-1 β on taste sensation/perception processes in the cingulate cortex represent the first study of this kind in the literature.

The results of the taste reactivity test performed in our present series of experiments provided evidence that IL-1 β given bilaterally into the cingulate cortex causes taste reactivity disturbances: the weak bitter, 0.03 mM QHCl, and the strong umami, 0.5 M MSG taste solutions – where there was no significant difference between the ingestive and aversive response rates in the control animals – were definitely pleasant for the cytokine treated ones. This finding appears to be comparable to gustatory symptoms of various human disorders where the IL-1 β level increases, for example, to those taste disturbances that can be observed in patients with non-alcoholic fatty liver disease [13]. In case of these patients, the recognition threshold of umami increased significantly, thus, the taste was perceived with lower intensity and therefore, the positive hedonic responses for this taste enhanced. Similar to the above, the increase of the recognition threshold of umami taste was observed also in chronic hepatitis C patients, who described many of the examined dishes more pleasant than did the members of the control group [16]. Since MSG solution in the lower concentration was absolutely pleasant for the control animals (rats displayed only ingestive

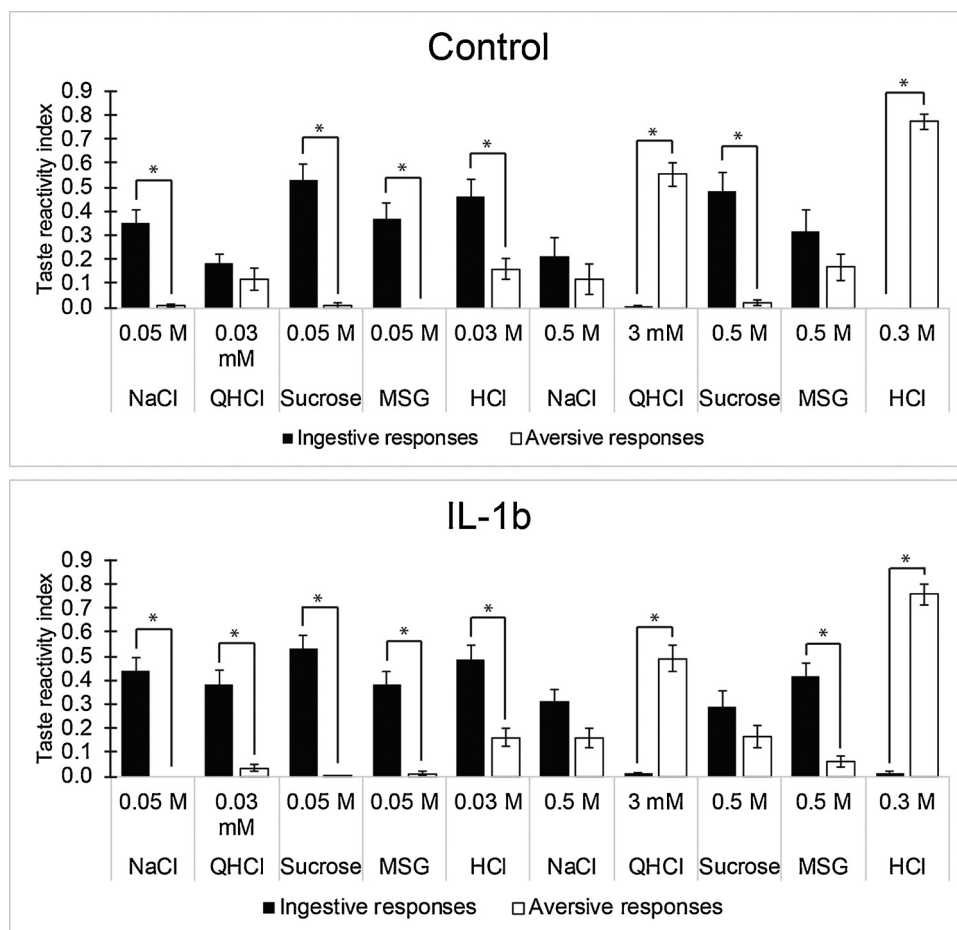


Fig. 3. Ingestive and aversive taste reactivity indices including all taste solutions.

behavioral patterns in response to this taste), in our present experiments, this shift in recognition threshold could explain the background of our present findings as well. Similar causal factors can be hypothesized for the other, the bitter taste as well. The above findings and our present results suggest that the shift of the evaluation of neutral tastes in patients with chronic liver disease can be due to the increased concentration of IL-1 β that is with substantial influence on functioning of the cingulate cortex.

Sweet, bitter and umami are known to be the most important tastes that determine the palatability and so the acceptance of a food [16]. Gustatory alterations, therefore, highly influence a patient's food choice and appetite and so they can lead to difficulties in the maintenance of body weight and to the development of metabolic disorders. Recent years' research revealed that maintained umami taste sensation has especially important role in the fine organization of feeding behavior and in assuring the good physical condition of the individuals as well [44]. MSG, naturally occurring in many food stuffs, is also used as a flavor enhancer to increase palatability [45]. Patients with an umami specific taste disorder (the loss of only the umami taste sensation with remaining the intact sensation of the other four basic taste qualities) reported about their loss of appetite because of the tastelessness of the food, and also about consequent weight loss and poor general health condition. Both the appetite and the body weight of these patients greatly improved after a special treatment restoring their umami taste sensitivity [46,47]. The importance of umami taste perception in nutrient sensation and digestion is also demonstrated by the fact that T1R receptors – that mediate umami taste – can be found not only in the oral cavity tissues but in the stomach and the duodenum as well [48–50]. Preliminary microelectrophysiological experiments of our laboratory revealed the existence of neural cells in the cingulate cortex that alter

their firing rate in response to intraoral and intragastric administration of MSG solutions [51]. The activity change of these umami sensitive neurons in response to unpleasant tastes was much higher than that of the umami insensitive cells [51]. These findings further support the importance of umami taste sensation in the organization of feeding behavior and confirm that the cingulate cortex is involved in the regulation of taste sensation related processes of the central feeding control.

The effect of direct intracerebral microinjection of interleukin-1 β on taste sensation has already been investigated previously by our research group in other brain structures as well. The cytokine administered into the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) – in the same dose (7.5 ng) as in our present experiments – has also been shown to induce taste reactivity alterations [52], but our present findings in the ACC differ from those observed in the VMH. The IL-1 β treated animals in that study displayed poorer ingestive reactions and gave more aversive responses to pleasant tastes compared to the control animals, and their aversive reactions were also stronger than the ingestive ones in response to these hedonically positive tastes [52]. Cytokine treated animals of the present experiments – instead of evaluating pleasant stimuli negatively – perceived tastes more preferable, thus, more palatable. This difference is supposed to come from the distinct functional role of the two brain areas. The ventromedial hypothalamic nucleus is labeled as the principal satiety center controlling various neural and humoral factors of feeding behavior [53], whereas the ACC, as part of the reward network of the limbic forebrain [54], contributes to feeding behavior more indirectly, via controlling the emotional and hedonic aspects of food associated stimuli [19]. Another thing that is necessary to take into consideration, is the different ratio of glucose-monitoring (GM) neurons in the two regions. These chemosensory neurons in a hierarchically

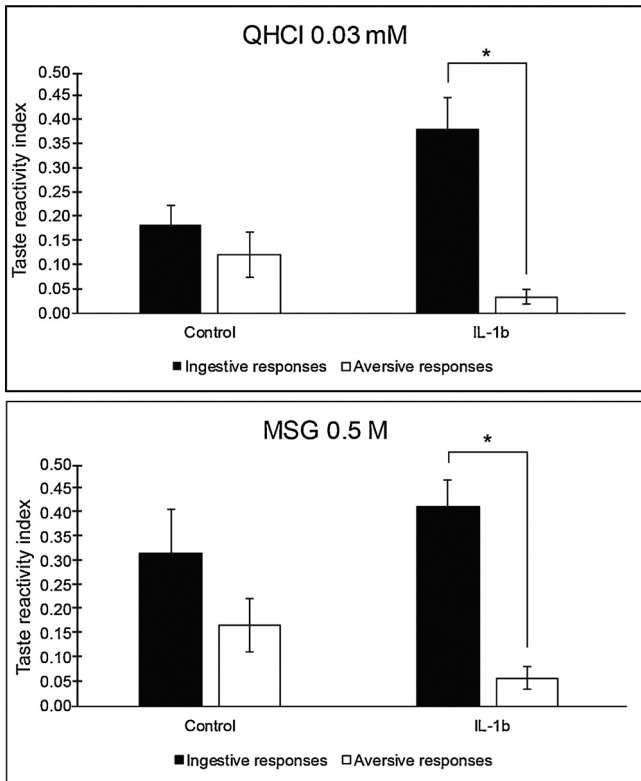


Fig. 4. Taste reactivity indices in response to the lower concentration QHCl solution and the higher concentration MSG solution.

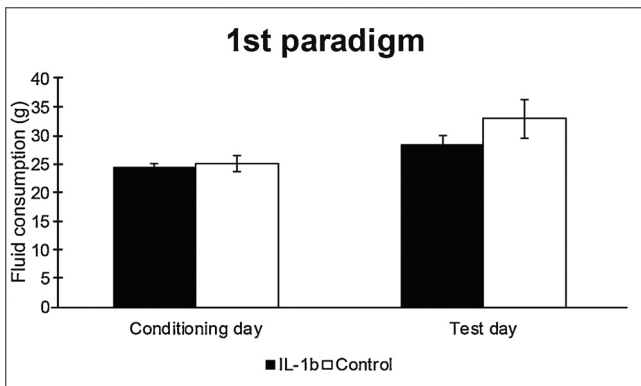


Fig. 5. Fluid consumptions in grams on the conditioning and the test day in the 1st paradigm of the CTA test.

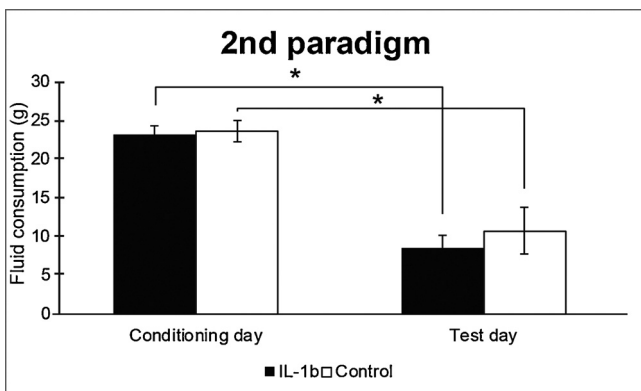


Fig. 6. Fluid consumptions in grams on the conditioning and the test day in the 2nd paradigm of the CTA test.

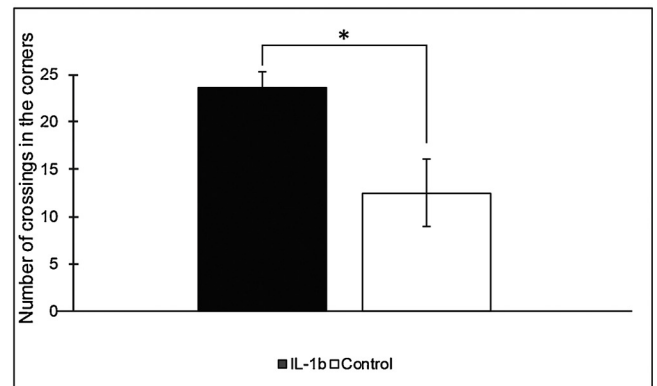
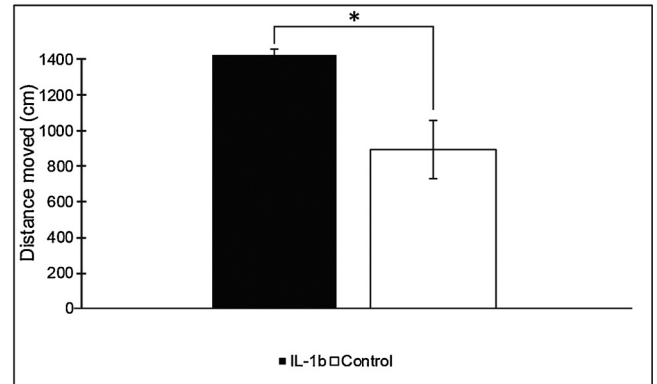
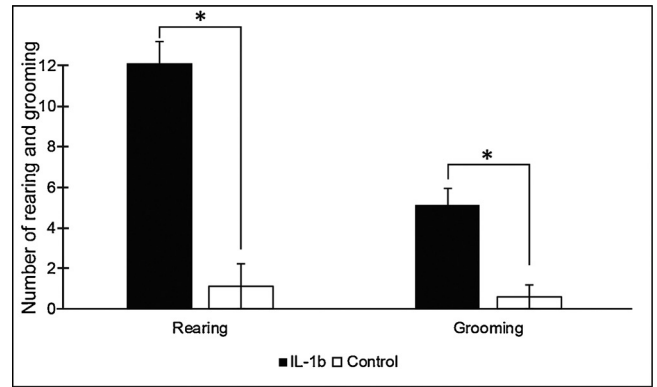


Fig. 7. Significant alterations observed in the open field test (OPF): a. number of rearing and grooming; b. distance moved in cm; c. number of crossings in the corners.

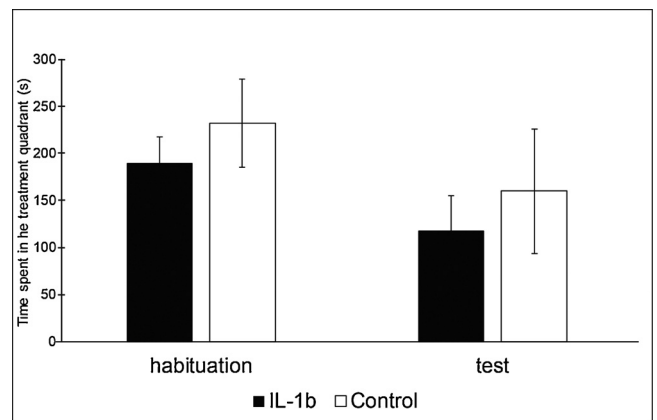


Fig. 8. Results of the conditioned place preference test (CPP): time spent in the treatment quadrant during the habituation and the test days.

organized network, at several levels of the brain, are intimately involved in the organization of feeding behavior, moreover, it has been shown that high proportion of them are IL-1 β sensitive [55]. Cytokine responsive GM cells were shown to be modulated by gustatory stimuli in several brain regions (lateral hypothalamic area, globus pallidus, orbitofrontal cortex) [56]. The ratio of these GM cells is one third in the VMH [57], while every tenth neurons are part of the central glucose-monitoring network in the cingulate cortex, based on the results of microelectrophysiological studies of our research group [58]. Homeostatic alterations caused by the cytokine proved to be also different in the VMH from those found in the cingulate cortex. In the VMH, IL-1 β induced – among others – feeding disturbances and the elevation of blood glucose level [3,59], whereas microinjection of the cytokine given into the cingulate cortex had no remarkable effect on food intake and blood glucose level of the rats [29]. Considering that a taste stimulus can evoke distinctive hedonic responses depending on the actual physiologic-organismic state [60], the differential responses to the various taste solutions can also originate from the above mentioned homeostatic state associated sensibility differences.

Considering the spatial-topographic specificity of our findings (i.e., where could the primary site of the cytokine action be), the question arises, whether the adjacent brain regions around the cingulate cortex could be implicated in the above changes. With respect to its closest vicinity, as well as the functional similarities between the two prefrontal cortical areas, the prelimbic cortex (PrL), just beneath the cingulate, should be the most carefully illuminated at this point. Several observations, experimental facts appear to disprove the involvement of the PrL as a primary site of action of the IL-1 β . On the one hand, Farrar et al. [28] examined the density of IL-1 binding to the rat brain, and the PrL, due to the complete lack of binding, was not included within the list of areas where IL-1 receptors were identified. On the other hand, in our present study, in case of animals with mistargeted microinjections, when the tip of the delivery cannula was located in a position that the majority of the IL-1 β solution was delivered into the PrL (8 of 112 IL-1 β microinjections, shown in Fig. 2), TR alterations have not been detected at all. In addition, preliminary results of our recent single neuron recording experiments in the PrL demonstrated the existence of no IL-1 β responsive units among the recorded cells (unpublished data). Taking all the above into consideration, it is reasonable to suppose that the cytokine mediated mechanisms of the ACC are of distinguished significance in the central gustatory information processing. Based on previous findings and our own present results, this significance is closely related to the postulated affective-emotional components of the taste associated regulatory mechanisms of this forebrain structure.

As it is recognized here, IL-1 β in the ACC remarkably influences taste reactivity. The question arises whether it also affects taste-related learning processes, for example, conditioned taste aversion (CTA). In our present study, direct bilateral microinjection of IL-1 β into the cingulate cortex did not lead to the development of CTA and it also failed to modify the acquisition of the lithium chloride induced taste aversion. These results are in accordance with the previous findings of our laboratory, where direct bilateral microinjection of the cytokine into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat also did not lead to the development of CTA [52]. IL-1 β injected intraperitoneally was reported to evoke a weak aversion to taste, but only a minor component in the hypophagic effect of the cytokine was attached to this learned aversion [61]. Nevertheless, there are studies where interleukin-1 β was found to induce conditioned taste aversion after peripheral [62] and i.c.v. administration [63] as well. Tazi et al. showed that IL-1 injected peripherally after the consumption of a novel-tasting fluid, reduced the preference for this taste solution in a dose-dependent manner [62]. CTA eliciting ability of ip. injected IL-1 β is thought to be mediated by the vagus nerve, since subdiaphragmatic vagal nerve transection blocked this effect [64]. There is no evidence for the dose-dependent manner of CTA inducing effect of the centrally administered IL-1 β . The dose of the i.c.v. injected IL-1 in the study of Janz et al. [63] was comparable to the

dose used in our present experiments (5 ng vs. 7.5 ng), yet it led to the development of CTA. The above brings us to the conclusion that IL-1 β can induce the acquisition of conditioned taste aversion under certain conditions, but – at least in the dose used in our experiments – it has no such functional role in cingulate cortical taste sensation associated learning processes.

In addition to elucidate changes of taste-related processes, we also aimed to reveal the general behavioral effects of IL-1 β microinjected into the ACC. Open field test was performed in another animal group with the identical IL-1 β treatment (i.e. 3.75 ng of IL-1 β per side was microinjected bilaterally into the cingulate cortex of the rats) in order to examine the effect of the cytokine on the locomotor activity of the animals. Our results show that IL-1 β did not decrease, moreover, it increased exploratory activity (locomotion, rearing) of the rats. This finding can be explained by supposing that the locomotor effect of IL-1 β is dose-dependent. While the higher doses (100 ng or higher) of IL-1 β decreased the number of crossings in the open field test after ip. injection in mice, the lowest dose (30 ng) tended to increase locomotor activity [65]. An inverted-U shaped relationship was found between the IL-1 β dose and the behavior of rats in elevated plus-maze test after central (icv.) administration of the cytokine, where 100 ng IL-1 β caused anxiety, whereas doses between 0.01 and 10 ng reduced it [66]. These results are in accordance with our present findings where 7.5 ng IL-1 β increased locomotor activity of the animals. This means that the taste reactivity changes observed in our present series of experiments, are not the non-specific consequences of the above mentioned, well-known conditions (sickness behavior, anxiety, reduced locomotion) caused by the cytokine.

The potential general rewarding or aversive (punishing) effect of IL-1 β was tested in conditioned place preference paradigm (CPP). Neither place preference, nor place aversion was elicited by the IL-1 β microinjection in the applied dose, that is, the cytokine did not evoke such positive or negative reinforcing effect that would influence the animals' taste sensation associated behavior. This further confirmed the results of the CTA test, where IL-1 β microinjection did not lead to the development of conditioned taste aversion.

5. Conclusions

In conclusion, this is the first study in the literature reporting evidence that: 1) interleukin-1 β microinjection directly into the cingulate cortex causes taste reactivity alterations in rats, and so it has definite influence on the organization of their feeding behavior. 2) The cytokine has an impact on the animals' species specific behavioral motor patterns and locomotor activity as well, but the altered feeding behavior seems to be unrelated to the above effect. To elucidate the exact mechanisms through which the cytokine exerts its fine regulatory influence, however, needs further research. We suppose that the better understanding of the specific characteristics and significance of cingulate cortical IL-1 β mediated processes leads us closer to the recognition of complex CNS regulatory deficits postulated in the background of various feeding and metabolic disorders. Our present findings may well apply for patients with chronic liver disease whose taste recognition shift appears to be related to the increased level of IL-1 β with direct effect on the functioning of the cingulate cortex.

Acknowledgements

The authors express their thanks to Ms. I. Fuchs for her devoted and essential technical help. This work was supported by Ajinomoto 51064/2009, SROP-4.2.1.B-10/2/KONV-2010-0002, SROP-4.2.2/B-10/1-2010-0029, PTE ÁOK-KA 2013/34039/1, EFOP-3.6.1-16-2016-00004, UNKP-18-3-IVNew National Excellence Program of the Ministry of Human Capacities, and by the Thematic Excellence Programme 2019 (TUDFO/51757-1/2019-ITM)

All authors declare that there are no any actual or potential conflicts

of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations.

References

- [1] W. Langhans, D. Savoldelli, S. Weingarten, Comparison of the feeding responses to bacterial lipopolysaccharide and interleukin-1 beta, *Physiol. Behav.* 53 (4) (1993) 643–649.
- [2] C.R. Plata-Salaman, Y. Oomura, Y. Kai, Tumor necrosis factor and interleukin-1 beta: suppression of food intake by direct action in the central nervous system, *Brain Res.* 448 (1) (1988) 106–114.
- [3] S. Kent, et al., Reduction in food and water intake induced by microinjection of interleukin-1 beta in the ventromedial hypothalamus of the rat, *Physiol. Behav.* 55 (5) (1994) 1031–1036.
- [4] G. Sonti, M.C. Flynn, C.R. Plata-Salaman, Interleukin-1 (IL-1) receptor type I mediates anorexia but not adipia induced by centrally administered IL-1beta, *Physiol. Behav.* 62 (5) (1997) 1179–1183.
- [5] Z. Karadi, et al., Homeostatic alterations after intrapallidal microinjection of interleukin-1beta in the rat, *Appetite* 44 (2) (2005) 171–180, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2004.11.001>.
- [6] B. Lukats, et al., Homeostatic alterations induced by interleukin-1beta microinjection into the orbitofrontal cortex in the rat, *Appetite* 45 (2) (2005) 137–147, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2005.03.014>.
- [7] G. Takacs, et al., Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat, *Appetite* 54 (2) (2010) 354–362, <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.01.001>.
- [8] P. Schalk, et al., Influence of cancer and acute inflammatory disease on taste perception: a clinical pilot study, *Support. Care Cancer* 26 (3) (2018) 843–851, <https://doi.org/10.1007/s00520-017-3898-y>.
- [9] D.L. Phelps, et al., 28-day survival rates of 6676 neonates with birth weights of 1250 grams or less, *Pediatrics* 87 (1) (1991) 7–17.
- [10] Z.J. Cohn, et al., Lipopolysaccharide-induced inflammation attenuates taste progenitor cell proliferation and shortens the life span of taste bud cells, *BMC Neurosci.* 11 (2010) 72, <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-72>.
- [11] A. Aubert, R. Dantzer, The taste of sickness: lipopolysaccharide-induced finickiness in rats, *Physiol. Behav.* 84 (3) (2005) 437–444, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.01.006>.
- [12] S.J. Larson, Lipopolysaccharide and interleukin-1beta decrease sucrose intake but do not affect expression of place preference in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 84 (3) (2006) 429–435, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.06.004>.
- [13] J. Musialik, et al., Taste and appetite disorders in patients with non-alcoholic fatty liver disease, *J. Hepatol.* 66 (1) (2017) S417, [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(17\)31195-9](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(17)31195-9).
- [14] L.T. Niederreiter, Cytokines and fatty liver diseases, *Liver Res.* 2 (1) (2018) 14–20, <https://doi.org/10.1016/j.livres.2018.03.003>.
- [15] S. Shrivastava, et al., Hepatitis C virus induces Interleukin-1 beta (IL-1 beta)/IL-18 in circulatory and resident liver macrophages, *J. Virol.* 87 (22) (2013) 12284–12290, <https://doi.org/10.1128/Jvi.01962-13>.
- [16] J. Musialik, et al., Taste and appetite disorders of chronic hepatitis C patients, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 24 (12) (2012) 1400–1405, <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283589f63>.
- [17] N.V. Bergasa, Hypothesis: taste disorders in patients with liver disease may be mediated in the brain: potential mechanisms for a central phenomenon, *Am. J. Gastroenterol.* 93 (8) (1998) 1209–1210.
- [18] A. Nijijima, The afferent discharges from sensors for interleukin 1 beta in the hepatoportal system in the anesthetized rat, *J. Auton. Nerv. Syst.* 61 (3) (1996) 287–291, [https://doi.org/10.1016/S0165-1838\(96\)00098-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1838(96)00098-7).
- [19] P.G. Gasquoin, Localization of function in anterior cingulate cortex: from psychosurgery to functional neuroimaging, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 37 (3) (2013) 340–348, <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.01.002>.
- [20] P.A. Tataranni, et al., Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography, *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (8) (1999) 4569–4574.
- [21] M.J. Farrell, et al., Effect of aging on regional cerebral blood flow responses associated with osmotic thirst and its satiation by water drinking: a PET study, *Proc Natl Acad Sci U S A* 105 (1) (2008) 382–387, <https://doi.org/10.1073/pnas.0710572105>.
- [22] L.G. Bie-Olsen, et al., Changes of cognition and regional cerebral activity during acute hypoglycemia in normal subjects: a H-2 O-15 positron emission tomographic study, *J. Neurosci. Res.* 87 (8) (2009) 1922–1928, <https://doi.org/10.1002/jnr.22002>.
- [23] R.R. Freedman, et al., Cortical activation during menopausal hot flashes, *Fertil. Steril.* 85 (3) (2006) 674–678, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.08.026>.
- [24] L.E. Martin, et al., Neural mechanisms associated with food motivation in obese and healthy weight adults, *Obesity (Silver Spring)* 18 (2) (2010) 254–260, <https://doi.org/10.1038/oby.2009.220>.
- [25] E.T. Rolls, Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion, *Acta Physiol. Hung.* 95 (2) (2008) 131–164, <https://doi.org/10.1556/APhysiol.95.2008.2.1>.
- [26] S.T. Carmichael, J.L. Price, Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys, *J. Comp. Neurol.* 371 (2) (1996) 179–207, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960722\)371:2<179::AID-CNE113.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960722)371:2<179::AID-CNE113.0.CO;2-#).
- [27] E.J. Neafsey, H. T.R.R., R. K.M., F. K.G., Anterior cingulate cortex in rodents, in: G.M. Vogt (Ed.), *Connections, Visceral Control Functions, and Implications for Emotion, in Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus*, Birkhäuser, Boston, MA, 1993, pp. 206–223.
- [28] W.L. Farrar, et al., Visualization and characterization of interleukin 1 receptors in brain, *J. Immunol.* 139 (2) (1987) 459–463.
- [29] B. Csetenyi, et al., Food and water intake, body temperature and metabolic consequences of interleukin-1beta microinjection into the cingulate cortex of the rat, *Behav. Brain Res.* 331 (2017) 115–122, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.041>.
- [30] L.E. Stoeckel, et al., Widespread reward-system activation in obese women in response to high-calorie foods, *Neuroimage* 41 (2) (2008) 636–647, <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.02.031>.
- [31] E.T. Rolls, M.L. Kringelbach, I.E. de Araujo, Different representations of pleasant and unpleasant odours in the human brain, *Eur. J. Neurosci.* 18 (3) (2003) 695–703.
- [32] F. Grabenhorst, et al., How the brain represents the reward value of fat in the mouth, *Cereb. Cortex* 20 (5) (2010) 1082–1091, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp169>.
- [33] L.M. Harden, et al., Interleukin (IL)-6 and IL-1 beta act synergistically within the brain to induce sickness behavior and fever in rats, *Brain Behav. Immun.* 22 (6) (2008) 838–849, <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2007.12.006>.
- [34] R. Dantzer, Cytokine, sickness behavior, and depression, *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 29 (2) (2009) 247–264, <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2009.02.002>.
- [35] S. Munshi, V. Parrilli, J.A. Rosenkranz, Peripheral anti-inflammatory cytokine Interleukin-10 treatment mitigates interleukin-1beta - induced anxiety and sickness behaviors in adult male rats, *Behav. Brain Res.* 372 (2019) 112024, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112024>.
- [36] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, 1997.
- [37] H.J. Grill, R. Norgren, Taste reactivity test .1. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats, *Brain Res.* 143 (2) (1978) 263–279, [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90568-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90568-1).
- [38] T.M. Tzschentke, Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues, *Prog. Neurobiol.* 56 (6) (1998) 613–672.
- [39] R.U. Hasenohr, M.S. Oitzl, J.P. Huston, Conditioned place preference in the corral - a procedure for measuring reinforcing properties of drugs, *J. Neurosci. Methods* 30 (2) (1989) 141–146, [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(89\)90060-5](https://doi.org/10.1016/0165-0270(89)90060-5).
- [40] K. Laszlo, et al., Positive reinforcing effect of oxytocin microinjection in the rat central nucleus of amygdala, *Behav. Brain Res.* 296 (2016) 279–285, <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.09.021>.
- [41] E.T. Rolls, S. Yaxley, Z.J. Sienkiewicz, Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey, *J. Neurophysiol.* 64 (4) (1990) 1055–1066, <https://doi.org/10.1152/jn.1990.64.4.1055>.
- [42] E.T. Rolls, Taste, olfactory, and food reward value processing in the brain, *Prog. Neurobiol.* 127–128 (2015) 64–90, <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.03.002>.
- [43] F. Grabenhorst, E.T. Rolls, A. Bilderbeck, How cognition modulates affective responses to taste and flavor: top-down influences on the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices, *Cereb. Cortex* 18 (7) (2008) 1549–1559, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm185>.
- [44] T. Sasano, et al., Important role of umami taste sensitivity in oral and overall health, *Curr. Pharm. Des.* 20 (16) (2014) 2750–2754, <https://doi.org/10.2174/13816128113199990577>.
- [45] F. Bellisle, Glutamate and the UMAMI taste: sensory, metabolic, nutritional and behavioural considerations. A review of the literature published in the last 10 years, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23 (3) (1999) 423–438, [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(98\)00043-8](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(98)00043-8).
- [46] N. Shoji, S. Satoh-Kuriwada, T. Sasano, Clinical significance of umami taste and umami-related gene expression analysis for the objective assessment of umami taste loss, *Curr. Pharm. Des.* 22 (15) (2016) 2238–2244, <https://doi.org/10.2174/1381612822666160216150511>.
- [47] S. Satoh-Kuriwada, et al., Development of an umami taste sensitivity test and its clinical use, *PLoS One* 9 (4) (2014) DOI: ARTN e9517710.1371/journal.pone.0095177, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095177>.
- [48] H.J. Jang, et al., Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104 (38) (2007) 15069–15074, <https://doi.org/10.1073/pnas.0706890104>.
- [49] R.F. Margolskee, et al., TIR3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na⁺-glucose cotransporter 1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104 (38) (2007) 15075–15080, <https://doi.org/10.1073/pnas.0706678104>.
- [50] T. Tsurugizawa, et al., Mechanisms of neural response to gastrointestinal nutritive stimuli: the gut-brain Axis, *Gastroenterology* 137 (1) (2009) 262–273, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.02.057>.
- [51] B. Csetenyi, et al., Endogén És Exogén Kémiai Ingerek Hatása Az Umami-érzékeny Idegsejtekre Patkány Cinguláris Kérgében (in Hungarian, Meeting of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, 2012).
- [52] G. Takacs, et al., Taste reactivity alterations after IL-1beta microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat, *Neurosci. Res.* 62 (2) (2008) 118–122, <https://doi.org/10.1016/j.neures.2008.06.010>.
- [53] J. Feher, Energy balance and regulation of food intake, *Quantitative Human Physiology*, (2012), pp. 834–846.
- [54] K.C. Berridge, M.L. Kringelbach, Pleasure systems in the brain, *Neuron* 86 (3) (2015) 646–664, <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.018>.
- [55] K. Kuriyama, et al., Actions of interferon alpha and interleukin-1 beta on the glucose-responsive neurons in the ventromedial hypothalamus, *Brain Res. Bull.* 24

- (6) (1990) 803–810.
- [56] Z. Karadi, et al., Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies, *Chem. Senses* 30 (Suppl 1) (2005) i168–9, <https://doi.org/10.1093/chemse/bjh167>.
- [57] Y. Oomura, Input-output organization in the hypothalamus relating to food intake behavior, *Handbook of the Hypothalamus*, (1980), pp. 557–620.
- [58] E. Hormay, et al., The effect of loss of the glucose-monitoring neurons in the anterior cingulate cortex: Physiologic challenges induce complex feeding-metabolic alterations after local streptozotocin microinjection in rats, *Neurosci. Res.* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.01.005>.
- [59] B.P. Lukáts, G. Juharosi, L. Ságodi, G. Takács, C. Szalay, Z. Karádi, IL-1b Microinjection Into the Ventromedial Hypothalamus Evokes Homeostatic Disturbances, Sixth IBRO World Congress, 2003.
- [60] M. Cabanac, Physiological role of pleasure, *Science* 173 (4002) (1971) 1103–1107.
- [61] C. Bauer, et al., Limited importance of a learned aversion in the hypophagic effect of interleukin-1 beta, *Physiol. Behav.* 57 (6) (1995) 1145–1153.
- [62] A. Tazi, et al., Interleukin-1 induces conditioned taste aversion in rats: a possible explanation for its pituitary-adrenal stimulating activity, *Brain Res.* 473 (2) (1988) 369–371.
- [63] L.J. Janz, et al., Conditioned taste aversion but not adrenal activity develops to ICV administration of interleukin-1 in rats, *Physiol. Behav.* 49 (4) (1991) 691–694.
- [64] L.E. Goehler, et al., Blockade of cytokine-induced conditioned taste-aversion by Subdiaphragmatic Vagotomy - further evidence for vagal mediation of immune-brain communication, *Neurosci. Lett.* 185 (3) (1995) 163–166, [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)11251-Q](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)11251-Q).
- [65] A.H. Swiergiel, A.J. Dunn, Effects of interleukin-1beta and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 86 (4) (2007) 651–659, <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.02.010>.
- [66] A. Montkowski, et al., Central administration of IL-1 reduces anxiety and induces sickness behaviour in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 58 (2) (1997) 329–336, [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(97\)00244-x](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(97)00244-x).