

Glukóz-monitorozó neuronok a mediodorzális prefrontális kéregben

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Dr. Nagy Bernadett

Témavezető:

Prof. Dr. Karádi Zoltán

Programvezető:

Prof. Dr. Lénárd László

Doktori Iskola vezetője:

Prof. Dr. Lénárd László

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Élettani Intézet

Pécs, 2013.

I. Bevezetés

Napjainkban a táplálkozási és anyagcsere betegségek incidenciája folyamatosan növekszik. Közülük is kiemelendő az elhízás, az anorexia és bulimia nervosa, a metabolikus szindróma és a diabetes mellitus, melyek számottevően növelik a népesség morbiditását és mortalitását. Ezen kimagasló népegészségügyi jelentőségű kórképek komplex patofiziológiájáról még korántsem rendelkezünk megfelelő mélységű ismeretekkel, így terápiás lehetőségeink is korlátozottak.

A táplálkozási és anyagcsere betegségekben a homeosztázis egyensúlyának megbomlása észlelhető. Az adaptív táplálkozási magatartás és anyagcsere kialakításában a külső környezeti ingerek feldolgozásán túl, a belső környezet homeosztázisát biztosító idegi, valamint neurokémiai-humorális szabályozó folyamatok is alapvető jelentőségűek. A háttérben álló szabályozó mechanizmusok felderítésére világszerte extenzív kutatás irányul.

A prefrontális kéreg (PFC) egyike azon központi idegrendszeri struktúráknak, melyek kulcsszerepet játszanak a szervezet belső állapotának monitorozásában és ennek megfelelően képesek magatartási válaszokat kezdeményezni. A PFC számos regulációs folyamatban részt vesz, így a kognitív funkciók, figyelem, drive, motiváció, döntéshozatal és a munkamemória szabályozásában is [1-3]. A táplálék és folyadékfelvétel szintén a PFC ellenőrzése alatt áll. A mediális PFC bilaterális léziója finnyásságot eredményez, de nem okoz afágiát, viszont a ventrolaterális PFC károsodása afágia kialakulásához vezet [3].

Anatómiailag a prefrontális kéreg az emlős agy elülső pólusán helyezkedik el és a mediodorzális talamusz maggal reciprok kapcsolatban áll. A mediodorzális prefrontális kérgen (mdPFC) a PFC két neuroanatómiai alegységnek, a prelimbikus területnek és a cinguláris kortexnek az együttesét értjük.

A PFC biológiailag fontos szerepét többszörös előagyi és agytörzsi kölcsönkapcsolatai révén fejt ki. Anatómiai tanulmányok kimutatták, hogy a mdPFC direkt kapcsolatban áll számos limbikus rendszerhez tartozó struktúrával, így az amygdalával (AMY), a laterális hipotalamusszal (LHA), a nucleus accumbens-szel (NAcc) és a szomszédos orbitofrontális kéreggel (OBF) [4-6], melyek mindegyike meghatározó jelentőségű a táplálkozás központi szabályozásában. A nucleus tractus solitarii (NTS) is kiemelendő a mdPFC projekcióinak célterületei közül, hiszen számos autonóm reflex integrációja [7] mellett az íz-információk feldolgozásában is szerepet játszik [8, 9].

Korábbi tanulmányok ezen mdPFC-vel kapcsolatban álló agyterületeken speciális kemoszenzitív idegsejtek, úgynevezett glukóz-monitorozó (GM) neuronok jelenlétét mutatták ki [10-13]. A GM idegsejtek a vércukorszint emelkedésekor vagy D-glukóz lokális mikroiontoforetikus beadásakor megváltoztatják tüzelési frekvenciájukat. Szintén ismeretes, hogy e neuronok nagy része intraorálisan adott íz-oldatokra is reagál [11, 14-16]. Ezek a homeosztatikusan releváns, íz-érzékeny GM idegsejtek feltételezhetően komplex, hierarchikusan szervezett neuronhálózatot alkotnak és az endogén és exogén információkat integrálva szabályozzák a táplálék és folyadékfelvételt, valamint a metabolikus folyamatokat [11, 14, 16].

A GM neuronokra a katekolaminok is hatással vannak [11, 16, 17], ennek fényében fontos megjegyeznünk, hogy a felszálló mezokortikolimbikus dopamin (DA) projekciók egyik fő célterülete a PFC [18-21]. A kemoszenzoros idegsejtek e hierarchikusan szervezett hálózata amellett, hogy az endogén kémiai ingerekre reagál, sokféle, homeosztatikusan releváns információt integrál, az exogén kémiai és egyéb szignálokat, szenzomotoros, perceptuális és motivációs mechanizmusokat csakúgy, mint a megerősítési, tanulási és memória folyamatokat, így a környezeti változásokhoz könnyen alkalmazkodva képes szabályozni a táplálkozási és metabolikus funkciókat [10, 11, 15, 16, 22].

A fentiek alapján feltételezhető, hogy a mdPFC ezen komplex szerepét az előagyi glukóz-monitorozó hálózat részeként fejt ki. Jelen kísérletünkben ezért megpróbáltunk GM neuronokat azonosítani a mdPFC-ben, valamint megvizsgáltuk ezen neuronok DA érzékenységét is.

A streptozotocin (STZ) szelektíven elpusztítja a hasnyálmirigy Langerhans szigeteinek β sejtjeit, így széles körben használják az 1-es típusú diabetes mellitus állatkísérletes modelljeként [23, 24]. A STZ a sejtekbe a kettes típusú glukóz-transzporterrel (GLUT2) keresztül lép be és DNS alkilációt okoz. Citotoxikus hatását reaktív oxigén gyökökön keresztül fejt ki [24]. Korábbi eredményeink azt mutatják, hogy a STZ intracerebrális mikroinjekciója specifikusan károsítja a glukóz-monitorozó neuronokat (pl. a ventromediális hipotalamuszban, az OBF-ben és a globus pallidusban), mely súlyos táplálkozási és anyagcsere zavarok kialakulásához vezet [14, 16, 25-27].

Jelen kísérletünkben ezért megvizsgáltuk, hogy a patkány mdPFC-be adott bilaterális STZ mikroinjekció milyen magatartási következményekkel jár kondicionált íz-averziós (KÍA) paradigmában (adott ízű táplálék/folyadék első fogyasztásakor kialakult gasztrointesztinális diszkomfort miatt a táplálék/folyadék további fogyasztásának kerülése) és íz-reaktivitási teszt

során, valamint azt is, hogy a lokális mikroinjekció milyen hatással van a glukóz toleranciára és plazma metabolitok koncentrációjára.

II. Kísérletek

1. Célkitűzések

Korábbi vizsgálatok kimutatták a glukóz-monitorozó rendszer szerepét a táplálkozás adaptív szabályozásában. Nincs viszont arra vonatkozó ismeretanyag, hogy a homeosztázis fenntartásában szerepet játszó mdPFC-ben jelen vannak-e glukóz-monitorozó neuronok.

Kutatásaink célja a mediodorzális prefrontális kéreg neuronjainak vizsgálata, különösen a glukóz-monitorozó idegsejtek felkutatása és funkcionális jellemzése volt. Altatott patkányok mediodorzális prefrontális kérgéből wolfram-szálalás multibarrel üveg mikroelektrodával extracelluláris egységtevékenységet vezettünk el 1) mikroelektroforetikus anyagbeadások (D-glukóz, DA), 2) intraorális íz-ingerlések, valamint 3) kémiai anyagok intragasztrikus infúziója során. Kísérletsorozatunk második részében a mdPFC-be juttatott STZ mikroinjekció íz-információ feldolgozással kapcsolatos magatartási, továbbá a metabolikus folyamatokra kifejtett hatásait vizsgáltuk.

Jelen kutatásaink az alábbi kérdésekre kerestek választ:

I. Multibarrel mikroelektroforetikus technikával végzett mikroelektrofiziológiai kísérletek

1. Jelen vannak-e glukóz-monitorozó, azaz tüzelési frekvenciájukat D-glukóz mikroelektroforetikus adására megváltoztató neuronok a mdPFC-ben?
2. Hogy befolyásolja a glukózzal való válaszkészséget mutató és a glukóz-inszenzitív neuronok működését a dopamin, mely a mdPFC fiziológiai szabályozó folyamataiban fontos szerepet játszó neurotranszmitter?
3. Vannak-e íz-ingerlésre válaszoló idegsejtek a mdPFC-ben? A glukóz-monitorozó unitok íz-érzékenysége különbözik-e a glukóz-inszenzitív neuronokétól?
4. Miként válaszolnak a mdPFC neuronjai intragasztrikus kémiai ingerlésre?

II. Lokális intracerebrális STZ mikroinjekció íz-információ

feldolgozásra kifejtett hatásának vizsgálata magatartási tesztekkel

1. A GM sejtek szelektív elpusztítása okoz-e zavart a kondicionált íz-averzió létrejöttében?
2. A GM neuronok specifikus léziója előidéz-e íz-reaktivitási deficitet?

III. Lokális intracerebrális STZ mikroinjekció metabolikus hatásainak elemzése

1. A GM sejtek szelektív elpusztítása okoz-e glukóz intoleranciát?
2. A GM neuronok specifikus léziója megváltoztatja-e a plazma metabolitok (összkoleszterin, HDL, LDH, triglicerid, húgysav) koncentrációját?

2. Módszerek

2.1. Állatok

Kísérleteink során összesen 168 hím Wistar és 23 Sprague-Dawley laboratóriumi patkányt használtunk, melyek átlagos testtömege 268-380 g volt. A patkányszobában állandó hőmérsékletet és páratartalmat (55-60%), valamint 12-12 órás sötét-világos periódusú megvilágítást biztosítottunk. Minden állatot külön ketrecben tartottunk és naponta „handling”-eltünk. Standard laboratóriumi táplálékot és csapvizet ad libitum tettünk elérhetővé számukra, kivéve, amikor ezt a kísérlet leírása másként jelzi. A kísérletek során betartottuk az intézeti, hazai és nemzetközi előírásokat.

2.2. Elektrofiziológiai vizsgálatok

2.2.1. Műtét

Az altatott patkányok sztereotaxiás műtété során a skalpon metszést ejtettünk, majd kisméretű lyukat fúrtunk a koponyán. A dura bemetszése után hidraulikus mikrotovábbító rendszer (Narishige MO - 10, Japán) segítségével vezettük le a mikroelektródát. A mdPFC-ben az elektródahegy pozíciójának koordinátái az agyatlasz [28] alapján a következők voltak: anteroposterior: bregma + 3,2-4,0 mm; mediolaterális: 0,7-1,6 mm; ventrális: 0,6 - 2,8 mm.

2.2.2. Az egysejttevékenység extracelluláris regisztrálása

Az extracelluláris egysejtelvezetésekhez és a neurokémiai anyagok mikroelektroforetikus beadásához 9 csöves üveg mikroelektrodát használtunk. Az egysejttevékenységet a wolfram szálat (átmérő 10 μm) tartalmazó központi cső segítségével tudtuk elvezetni, míg a környéki csövekbe töltöttük a mikrointoforézishez használt oldatokat (az elektróda impedanciája 1,5 - 8 $\text{M}\Omega$ volt 50 Hz-en mérve). A neurokémiai anyagok beadásához megfelelő polaritású ejekciós áramra (5-95 nA) van szükség, melyhez a potenciál grádiens mikrointoforézis készülék (NeuroPhore BH-2 System, USA) hozta létre. Az extracellulárisan felvett akciós potenciálok egy előerősítőn át a főerősítőbe (Supertech Kft., Magyarország) jutnak, majd szűrést követően az A/D konverterbe (CED1401+) kerülnek. A Spike 2 szoftver csomag (Cambridge Electronic Design Ltd., Anglia) segítségével frekvencia hisztogram készült, valamint on-line és off-line analízis történt. Az akciós potenciálokat folyamatosan követtük oszcilloszkópon is.

Csak a folyamatos aktivitást mutató és megfelelően izolált sejteket tanulmányoztuk részletesen. Korrábbi vizsgálatainkhoz hasonlóan egy neuront akkor tekintettünk egy adott neurokémiai anyagra érzékenynek, ha a tüzelési frekvenciája legalább $\pm 30\%$ -ot vagy ± 2 SD-val megváltozott az alapfrekvenciához képest, és a válasza dóziszfüggőnek (a változás arányos az ejekciós áramerősséggel) és ismételhetőnek bizonyult. Hasonló kritériumokat alkalmaztunk az íz-ingerlések esetében is.

2.2.3. Neurokémiai és íz-ingerléses vizsgálatok

A mikroelektroda környéki csöveibe az alábbi oldatok valamelyikét töltöttük: D-glukóz (0,5 M NaCl-ban oldva, pH = 7); dopamin hidroklorid (0,5 M 1%-os aszkorbinsavban oldva, pH = 6) és monoszódium-L-glutamátot (0,5 M, pH = 7-8), mely utóbbi adása az elektródahegy sejttől való távolságának megítélésére is alkalmas.

Miközben egysejtelvezetést végeztünk, megfigyeltük a mdPFC neuronok válaszkészségét intraorálisan befecskendezett íz-oldatok hatására is. Az öt alapíznek megfelelő oldatok, valamint komplex ízként a narancslé hatását vizsgáltuk: édes (szukróz; 0,1M és 0,3M), sós (NaCl; 0,1M és 0,3M), savanyú (HCl; 0,01M és 0,03M), keserű (kinin /QHCl; 0,001M és 0,003M), umami (MSG; 0,1M és 0,3M) és narancslé (10% és 25%).

Intragasztrikus infúziók mdPFC neuronok egysejttevékenységére kifejtett hatását is tanulmányoztuk. NaCl (60 mM és 150 mM), glukóz (60 mM) és MSG (60 mM) oldatokat adtunk be polietilén csövön keresztül infúziós pumpa segítségével (térfogat: 3 ml; áramlási sebesség: 3 ml/perc).

2.3. Magatartási és metabolikus vizsgálatok STZ mikroinjekciót követően

2.3.1 Műtét

Ketamin anesztéziában rozsdamentes acélcsőből (23G) készült vezetőkanülöket helyeztünk a dura felszínére mechanikus mikrotovábbító manipulátor (MN-33 Narishige, Japán) segítségével. A pozicionálást követően, horgonyzó csavarok felhasználásával, a vezetőkanülöket fogászati akriláttal a koponyacsonthoz rögzítettük. A beadó kanülöket (30G) a vezetőkanülökön keresztül vezettük le a mdPFC-be. A mdPFC sztereotaxiás koordinátái a Pellegrino-agyatlasz alapján [28]: AP: Bregma + 3,7 mm; ML: 1 mm; V: 1,5 mm a durától. Azoknál az állatoknál, melyek az íz-reaktivitási tesztben vettek részt, polietilén csőből (külső átmérő: 1,33 mm) készített krónikus intraorális íz-kanül beültetésére is sor került. Az íz-kanült buccális behatolásból, a felső első moláris fog melletti területtől szubkután vezettük ki a fejtetőre.

2.3.2. STZ mikroinjekció

Az intracerebrális mikroinjekciót 7,5 µg STZ-vel (Sigma, 10 µg/µl koncentrációban, fiziológiás sóoldatban oldva) vagy 0,75 µl fiziológiás sóoldattal (kontroll csoport) bilaterálisan végeztük egy percen keresztül. Az oldatok mdPFC-be juttatása mikroinfúziós pumpa segítségével történt (Cole Parmer 789200C) olyan beadó kanülökön keresztül (30G), melyek 1,5 mm-el haladták meg a koponyához akriláttal rögzített vezetőkanül hosszát (V: 1,5 mm a durától).

2.3.3. Magatartási vizsgálatok

Kondicionált íz-averzió (KÍA)

A KÍA teszt során az állatok megtanulták, hogy a napi folyadékszükségletüket minden nap 10:00 és 10:30 között fogyasszák el. Négy nappal a STZ vagy a NaCl mikroinjekció után - a kondicionálási napon – 30 percig fogyaszthattak szacharin oldatot, majd 30 perc múlva i.p. lítium kloriddal (0,15 M, 20 ml/ttkg) gasztrointesztinális és vegetatív diszkomfortot váltottunk ki. A kondicionálás után a patkányok 3 napig ismét 30 perces periódusokban kaptak vizet, majd a negyedik (teszt) napon, a vizet ismét szacharin oldatra cseréltük az itatási időszakban. A szacharin oldat fogyasztást összehasonlítottuk a STZ kezelt és a kontroll csoportban a kondicionáló és a teszt napon is.

Íz-reaktivitás teszt

Íz-reaktivitási teszt segítségével a kellemes és kellemetlen ízek által kiváltott mimikai, poszturális és lokomotoros mozgásmintákat jellemezzük és értékeljük Grill és Norgren nemzetközileg elfogadott, módosított protokollja alapján [29-32].

Az íz-kanül beültetést követően 7 napos habituációs periódusban hozzászoktattuk a patkányokat a kísérlet során használt plexiüveg cylinderben (30 cm átmérő, 30 cm magasság) való tartózkodáshoz és az íz-kanül vízzel történő átmosásához. Az íz-reaktivitási tesztet 7 nappal a mikroinjekciót követően végeztük.

Az állatok két különböző koncentrációban kapták az öt alapíznek megfelelő íz-oldatokat: 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 (QHCl) (0,03 és 3,0 mM) és umami, monoszódium-glutamát (MSG, 0,05 és 0,5 M). Mikroinfúziós pumpa segítségével (Cole Parmer 789200C), állandó áramlási sebességgel (0,5 ml/min) 0,5 ml íz-oldatot fecskendeztünk be a kísérleti állatok szájüregébe az íz-kanülon keresztül. Az íz-oldat infúziója után az íz-kanült desztillált vízzel átmostuk és levegővel átfújtuk. Korábbi kísérletek alapján [33, 34] a szukróz oldat mindkét koncentrációja, valamint a NaCl és a MSG alacsonyabb koncentrációja kellemes, míg a HCl és a QHCl mindkét koncentrációja, valamint a magasabb koncentrációjú NaCl és MSG kellemetlen íz-stimulusok a kísérleti patkányok számára.

A patkányok viselkedését digitális videokamerával felvettük és a felvételt kockáról-kockára analizáltuk. A kísérleti állatok szájának megfigyeléséhez az üvegcylinder alá tükröt

rögzítettünk 45°-os szögben Ingesztív (elfogadó) reakcióként értékeltük a ritmikus szájmozgást, a középső és oldalsó ritmikus nyelvöltögetést, valamint a mancsnyalást. Averzív (elutasító) magatartási minta a szájtátás, az álldörzsölés, a fejrázás, a mancsrázás és a gyors, indukált, komplex lokomotoros mozgássor. A fajspecifikus válasszintázatok elemzését és pontozását minimum három gyakorlott bíráló végezte, majd a STZ kezelt és a kontroll csoport adatait összehasonlítottuk, statisztikailag analizáltuk.

2.3.4. Metabolikus vizsgálatok

A glukóz tolerancia tesztet (GTT) a patkányok 12 órás éheztetését követően, a nemzetközi standardoknak megfelelően végeztük el. Intraperitoneálisan 20 %-os D-glukóz oldattal (0,2 g/100 ttg/ml) cukorterhelést végeztünk először a STZ vagy a fiziológias sóoldat agyi mikroinjekciója után 20 perccel (akut GGT), majd 4 héttel az anyagbeadást követően (szubakut GTT).

Az anyagcsere szempontjából fontos metabolitok (össz-koleszterin, HDL, LDH, trigliceridek és húgysav) plazmaszintjének meghatározását az agyi mikroinjekció után 30 perccel végeztük el hidegkémiás fotométerrel (Spotchem EZ SP4430, Arkray, Japán).

2.4. Szöveti vizsgálat

Az elektrofiziológiai és magatartási vizsgálatok befejezését követően szövettani vizsgálatokat végeztünk a mikroelektroda hegyének és a mikroinjekció helyének meghatározása érdekében. Nem megfelelő elektroda vagy kanülpozíció esetén az adott állatok eredményeit kizártuk az értékelésből.

2.5. Az adatok statisztikai értékelése

Elektrofiziológiai vizsgálataink eredményeinek értékeléséhez Wilcoxon tesztet, Kruskal-Wallis tesztet, lineáris regressziós tesztet és χ^2 -próbát alkalmaztunk. Magatartási és metabolikus kísérleteink eredményeit átlag \pm SEM formában fejeztük ki és többszempontos varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltük. Post-hoc összevetésre Tukey-tesztet használtunk. A különbségeket $p < 0,05$ esetén értékeltük szignifikánsnak.

3. Eredmények

3.1. Mikroelektrofiziológiai vizsgálatok

3.1.1. A mdPFC neuronok glukóz és dopamin érzékenysége

Összesen 272 mdPFC neuron aktivitását vizsgáltuk Wistar és Sprague-Dawley patkányokban. A spontán tüzelési frekvencia átlaga a két állatcsoportban ($2,2 \pm 0,2$ Hz és $2,4 \pm 0,3$ Hz) nem mutatott szignifikáns különbséget. A 255 neuronból hatvankettő (24,3 %) mutatott válaszkészséget glukózra, így ezekről a sejtekről igazoltuk, hogy a glukóz-monitorozó rendszer részét képezik. A jellemző válasz a glukóz hatására a gátlódás volt (43 neuron a 62-ből, 69,4 %), azonban egyértelmű serkentődést is megfigyeltünk 19 esetben (30,6 %). A többi 193 vizsgált idegsejt nem változtatta meg a tüzelési frekvenciáját glukóz hatására, így ezeket a glukóz-inszenzitív (GIS) sejtek közé soroltuk.

A mdPFC neuronok dopamin érzékenységét 235 sejten tanulmányoztuk. A DA mikroiontoforetikus adása 55 esetben (23,4 %) okozott aktivitásváltozást. A facilitáció (28, 11,9 %) és az inhibíció (27, 11,5 %) aránya csaknem azonosnak bizonyult.

Az 51 GM sejtől 21 (41,2 %), míg a 167 GIS neuronból csak 27 (16,2 %) mutatott tüzelési frekvencia változást erre a katecholamin neurotranszmitterre. Ezek alapján a mdPFC-ben elhelyezkedő GM neuronok DA érzékenysége szignifikánsan nagyobbak bizonyult, mint a GIS sejteké ($p < 0,001$; χ^2 teszt). A DA-ra érzékenységet mutató GR sejtek esetén csak serkentődést tapasztaltunk (15-ből 7 esetben, 46,7 %), míg a GS neuronok esetén mind gátló (36-ből 10 sejt, 27,8 %), mind serkentő (36-ből 4 esetben, 11,1 %) hatás megfigyelhető volt DA mikroiontoforetikus adásakor. A DA indukálta aktivitásváltozás így szignifikánsan különbözött a GM sejtek két típusában ($p < 0,01$; χ^2 teszt).

A mikroelektroforetikus anyagbeadás hatására kialakult válasz nagyságát is megvizsgáltuk. Mind a glukóz, mind a DA esetében a magasabb ejekciós áramerősség szignifikánsan nagyobb tüzelési frekvencia változást okozott az érzékenységet mutató neuroncsoportokban ($p < 0,05$; Wilcoxon teszt).

A különböző glukóz- és DA-érzékenységű sejtek alap tüzelési frekvenciája és spike időtartama nem mutatott szignifikáns különbséget ($p = 0,248$ és $p = 0,30$; Kruskal-Wallis teszt). Sem a spike időtartam, sem az alap tüzelési frekvencia nem mutatott korrelációt a glukóz és a dopamin válaszokkal ($p \geq 0,213$).

3.1.2. Intraorális és intragasztrikus stimuláció

A neurotranszmitterek és neuromodulátorok segítségével tesztelt endogén kémiai érzékenység mellett 259 neuron esetén az exogén kémiai érzékenységet is megvizsgáltuk. Az idegsejtek mintegy fele (49,4 %) mutatott válaszkészséget az alkalmazott ötféle íz-oldat valamelyikére. A glukóz-receptor sejtek közt azonban az íz-érzékeny sejtek aránya elérte a 80 %-ot (20 közül 16), míg a GS és GIS csoportban a neuronok kevesebb, mint fele változtatta meg a tüzelési frekvenciáját íz-ingerlés hatására. Az íz-érzékeny idegsejtek többsége két vagy akár több íz-ingerre is válaszkészséget mutatott. Az intragasztrikus infúziók mdPFC neuronok tüzelési frekvenciájára gyakorolt hatásának vizsgálatakor az idegsejtek mintegy 45 %-a (76-ből 34) reagált a 60 mM koncentrációjú NaCl-ra, 39 %-a (70-ből 27) a 150 mM koncentrációjú NaCl-ra, 45 %-a a 60 mM-os D-glukózra (85-ből 38) és 51 %-a (75-ből 38) az azonos koncentrációjú MSG-ra.

3.2. Magatartási kísérletek

Kondicionált íz-averzió

A mdPFC-be juttatott STZ mikroinjekció nem gátolta meg a lítium klorid indukálta, szacharinnal kondicionált íz-averziós tanulást. A KÍÁ kialakult nem csak a kontroll, hanem a STZ kezelt csoportban is, amit szintén igazolt az a tény, hogy mindkét csoportban a teszt napi szacharinfogyasztás szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kondicionálási napon (ANOVA, $F_{3,85}=14,161$; $p<0,001$). A poszt hoc teszt eredményeinek tanúsága szerint a két csoport közt nem volt szignifikáns különbség a teszt napi szacharin fogyasztásban (Tukey teszt, $p=0,298$).

Íz-reaktivitási teszt

A bilaterális STZ mikroinjekció íz-reaktivitás változást okozott kellemes íz-stimulusok esetén (ANOVA, $F_{3,35}=19,451$; $p<0,001$). A STZ-nal kezelt állatok szignifikánsan gyengébb ingerstív válaszmintázatot mutattak kellemes íz-ingerekre, mint a kontroll csoport tagjai (Tukey teszt, $p<0,05$). A kellemes ízekre adott averzív (elutasító) válaszokat illetően a STZ kezelésben részesült és a kontroll patkányok rejektív mintázatainak aránya és mértéke is hasonló volt. Az íz-reaktivitási deficit a STZ kezelést kapott állatoknál a

magasabb koncentrációjú szukróz és az alacsonyabb koncentrációjú NaCl oldatnál volt a legkifejezettebb.

Ami a kellemetlen ízeket illeti, nem volt szignifikáns különbség az ingerstív és averzív íz-reaktivitási mintázatokban a STZ kezelt és a kontroll állatok közt.

3.3 Metabolikus változások

Glukóz tolerancia teszt

Az akut GTT során a STZ kezelést kapott állatcsoportban a vércukorszintek patológiás eltérését, egyértelmű glukóz intoleranciát tapasztaltunk. A cukorterhelést követő 120. percben szignifikánsan magasabb vércukorszintet mértünk a STZ kezelésben részesült patkányokban (kontroll: $6,95 \text{ mmol/l} \pm 0,14 \text{ mmol/l}$, STZ: $8,60 \text{ mmol/l} \pm 0,51 \text{ mmol/l}$; $p < 0,05$).

A szubakut GTT eredménye nem mutatott szignifikáns különbséget az STZ kezelést kapott és a kontroll állatokban, a vércukorgörbék fiziológiás tartományban maradtak a teszt során mindkét csoport esetén.

Plazma metabolit szintek

Az össz-koleszterin, HDL, LDH és húgysav plazma koncentrációk nem különböztek szignifikánsan az STZ kezelést kapott és a kontroll csoportban. A plazma triglicerid szint azonban szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult az STZ mikroinjekciót kapott állatokban.

4. Megbeszélés

A PFC definíció szerint az emlős agy elülső pólusán elhelyezkedő terület, mely elsősorban a mediodorzális talamusz magból kap afferenciát [4, 35]. A prefrontális kortex kulcsfontosságú számos olyan szabályozó és kognitív folyamatban, mint a döntéshozatal, munkamemória, valamint olyan motivált magatartások szervezésében, mint a táplálék és folyadékfelvétel [3, 5, 36-40].

A prefrontális kéreg ezen komplex szerepét kiterjedt (elsősorban előagyi és agytörzsi) kölcsönkapcsolatai útján fejt ki. Anatómiai vizsgálatok bizonyították olyan limbikus területekkel fenálló közvetlen összeköttetéseit, melyek a táplálkozás központi szabályozásában is fontos szerepet játszanak (AMY, LHA, NAcc) [4-6]. A mdPFC szintén kapcsolatban áll az agytörzsi NTS-sel, mely számos autonóm reflex integrációjában vesz részt [7] és jól ismert struktúrája az íz-információ feldolgozásnak is [8, 9].

A mdPFC neuronok endogén kémiai érzékenysége

Korábbi vizsgálatok bizonyították a fenti, mdPFC-vel neuronális kapcsolatban álló struktúrákban is a glukóz-monitorozó neuronok jelenlétét, melyek a vércukorszint emelkedésre vagy a D-glukóz lokális mikroelektroforézisére tüzelési frekvencia változással reagálnak. Glukóz hatására gátlódó, ún. glukóz-szenzitív sejteket azonosítottak a LHA-ban először patkányokban [12, 41], később rhesus majom LHA-ban és AMY-ban [10, 11, 42], majd NTS-ban is [43, 44]. Szintén csak GS típusú GM neuronok detektálhatók az area postrema és a GP területén [17, 43]. A glukóz ellentétes hatását mutatták ki a VMH-ban, az itt elhelyezkedő GM idegsejtek kivétel nélkül GR unitok. Az előagyi glukóz-monitorozó rendszernek azonban részét képezik olyan agyterületek is (NAcc, OBF), ahol GS és GR idegsejtek egyaránt kimutathatók [13, 16].

Eredményeink közül kiemelkedően fontosnak tartjuk, hogy elsőként tudtuk bizonyítani GM neuronok jelenlétét a mdPFC-ben. A mdPFC fontos szerepet játszik szervezetünk regulációs folyamataiban, így részt vesz a táplálkozás központi szabályozásában is [3, 5, 37, 45]. Fontos megemlíteni, hogy a korábbi eredmények számottevő része főemlősökből származik, míg jelen kísérleteinket patkányokon végeztük. Mnkacsoportunk még nem publikált eredményei azt mutatják, hogy rhesus majom mdPFC-ben is

megtalálhatók a GR és a GS sejtek, így a struktúra központi GM neuronhálózatbeli érintettségére vonatkozó leleteink érvényessége általánosítható.

Mikroelektrofiziológiai kísérleteink további jelentős eredménye, hogy a mdPFC-ben eltérő DA-érzékenyséű neuroncsoportokat sikerült azonosítani. A GM unitok nagyobb valószínűséggel mutattak aktivitásváltozást DA mikroiontoforetikus beadásakor, mint a glukóz-inszenzitív sejtek. A DA-ra érzékeny GR neuronok kizárólag serkentődtek, míg a GS neuronok főként gátlódtak ezen katekolamin hatására. Adataink összhangban vannak azokkal a korábbi eredményekkel, melyek a LHA-ban és a GP-ban a GM neuronok nagyobb dopamin-érzékenységet mutatták ki a GIS neuronok esetén tapasztalhatóhoz képest. A LHA-ban és a pallidumban is megfigyelhető volt a DA indukálta tüzelési frekvencia csökkenés a GS neuronoknál [11, 17].

A PFC dopaminergiás innervációja [18-21] számos regulációs folyamatban szerepet játszik [1, 46-51], így a táplálkozással összefüggő tanulási és memória folyamatokban is [36, 52-54]. Különösen fontos megemlíteni, hogy a táplálékfelvétel önmagában, valamint a táplálékkal összefüggő ingerek egyaránt emelik a DA koncentrációt a prefrontális kortexben [55, 56]. Ezen eredmények, jelen kutatásaink leleteivel összhangban komplex, egymással összefüggésben álló neurokémiai mechanizmusok szerepét bizonyítják a mdPFC szabályozó működéseiben [40, 51].

Egyes kutatások a kortikális interneuronok esetén rövidebb spike-időtartamot találtak, mint a piramis-sejteknél, bár irodalmi adatok szerint a piramis-sejtek spike-időtartama elég nagy ingadozást mutathat [57-59]. Kísérleteinkben a spike-időtartam nem különbözött szignifikánsan a különböző neurokémiai tulajdonságokkal rendelkező sejtcsoportokban. A glukóz és DA mikroelektroforézis hatására kialakult frekvenciaváltozási válasz sem mutatott korrelációt a spike-időtartammal.

Exogén kémiai érzékenység

Az ízlelés fontos szerepet játszik abban, hogy eldöntsük, egy táplálék ehető-e vagy sem, így táplálkozási magatartásunk egyik alapvető meghatározója. A táplálék kemorecepcióját követi az adaptív táplálkozási magatartás és a következményes homeosztatiszikus változások.

Kísérleteink mind intraorálisan adott íz-oldatokra, mind intragasztrikusan infundált oldatokra reagáló neuronok jelenlétét igazolták a mdPFC-ben. A GR sejtek szignifikánsan nagyobb arányban változtatták meg a frekvenciájukat az intraorálisan adott íz-oldatokra, mint

a GIS unitok, melyből ezen kemoszenzoros neuronok különös jelentőségére következtethetünk az íz-információ feldolgozásban.

A gasztrointesztinális rendszer és a központi idegrendszer között humorális (pl. szerotonin, GLP-1) és neurális (afferens vágusz rostok aktivációja) kapcsolatok segítik az információ áramlást, és ezek szerepet játszhatnak az elfogyasztott táplálék ízének érzékelésében és felismerésében is [60-62]. A gyomor-bélrendszerben szintén kimutattak keserű, édes és umami receptorokat [63-65]. Az elmúlt időszakban fMRI vizsgálatok igazolták az intragasztrikusan alkalmazott íz-oldatok (D-glukóz, MSG és NaCl) hatását több agyterületen [66]. Vizsgálataink során mind az intraorális, mind az intragasztrikus ingerléskor tapasztalt neuronális aktivitásváltozások alátámasztják a mdPFC gasztrointesztinális rendszer pre- és posztabszorptív folyamataival fennálló szoros funkcionális kapcsolatára vonatkozó elképzelést.

A GM idegsejtek – melyeket számos agyterületen azonosítottak - képezhetik a neuronális alapját annak az összetett integrációs folyamatsornak, mely ötvözni képes az endogén és exogén kémiai ingereket a táplálékfelvétel szenzoros, percepció, motivációs folyamataival, valamint megerősítési, memória és tanulási mechanizmusokkal [10-13, 15-17, 22]. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a mdPFC kemoszenzoros sejtjei hasonló komplex funkcionális szerepet töltenek be az adaptív táplálkozási magatartás szabályozásában.

Kondicionált íz-averzió

A mdPFC-be juttatott bilaterális STZ mikroinjekció nem gátolta meg a kondicionált íz-averzió kialakulását. Eredményünk összhangban van azokkal a korábbi adatokkal, melyek szerint a kísérleti állatok mediodorzális vagy dorzolaterális PFC léziója nem csökkentette ill. gátolta a KÍA megtanulását [45, 67]. A szakirodalomban azonban található olyan publikációt is, mely a mediális PFC-be mikroiontoforézissel bejuttatott neurotoxinok (kainsav, 6-hidroxidopamin) KÍA-t károsító hatásáról számolt be [53]. Ezen eltérő eredményekre valószínűleg az alkalmazott neurotoxinok különböző specificitása ad magyarázatot, mivel a STZ a GM sejtekre szelektív destrukciót okoz. Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a NAcc-be juttatott STZ mikroinjekció KÍA deficitet idéz elő patkányokban [14]. A jelen kísérletünkben nem sikerült hasonló változásokat kimutatnunk a STZ mdPFC-be történő mikroinjekciója után, melyből arra következtethetünk, hogy a GM rendszer nem mindegyik része szükséges a KÍA elsajátításához. Következésképpen ezen eredményeink arra utalnak, hogy a mdPFC-ben jelen lévő GM neuronok önmagukban nem

nélkülözhetetlenek az elfogyasztott táplálék ízének a későbbi, esetlegesen káros következményekkel való asszociációjához.

Íz-reaktivitási teszt

Kísérleteink a patkány mdPFC bilaterális STZ mikroinjekcióját követően íz-reaktivitási deficitet igazoltak. A STZ kezelésben részesült patkányok szignifikánsan gyengébb ingerstív választ mutattak kellemes ízekre, mint a kontroll csoport tagjai. Ezen íz-reaktivitási változások az édes és az enyhén sós íz-stimulusok esetén voltak a legkifejezettebbek. Az alkalmazott STZ mikroinjekció a mdPFC-ben jelen lévő GM neuronok szelektív elpusztításával okozhatta ezeket a változásokat. A STZ egyszeri, bilaterális mikroinjekciója mind a VMH-ban, mind az OBF-ben a GM neuronok károsodását okozva komplex metabolikus és táplálkozási zavarokat okozott [16, 25] a jellegzetes íz-reaktivitási változások mellett [14]. A GM neuronok szelektív léziója az OBF-ben szignifikánsan erősebb averzív reakciót váltott ki kellemes íz-ingerek esetén és több ingerstív mintázatot kellemetlen ízek esetén. Mivel a szerteágazó működésekben érintett mdPFC részét képezi az előagyi glukóz-monitorozó rendszernek is, így feltételezhető, hogy az orbitofrontális homloklebenyi területhez hasonló komplex funkcionális jelentőséggel bír az adaptív táplálkozási magatartás szervezésében.

Bár kísérletekkel igazolták, hogy a krónikus decerebrált patkányok a kontroll állatokhoz hasonló ingerstív és averzív válaszmintázatok létrehozására képesek [30], mégis feltételezhető, hogy bizonyos íz-érzékeny kortikális neuronoktól érkező inputok hiánya íz-érzékelési eltolódást („palatability shift”) okozhat. A hipotézisünket alátámasztják azok a vizsgálatok, melyek íz-kéreg léziós patkányok averzív válaszainak hiányát írták le LiCl-dal párosított ízek esetén íz-reaktivitási tesztben [68]. Elképzelhető, hogy eredményeink hátterében a thalamusz mdPFC-ből érkező nem megfelelő inputja áll, mivel úgy tűnik, hogy a thalamusz megtartott működése is elengedhetetlenül szükséges a megfelelő mimetikus válaszok kialakulásához [30].

Kísérletünkben az ingerstív mintázatok csökkenése mindezek nyomán magyarázható azzal, hogy a GM idegsejtek destrukciója zavart okozott a táplálék és folyadékfelvétel komplex homeosztatis és hedonikus integrációs folyamataiban.

Metabolikus változások

Jelen kísérleteink leletei meggyőzően támasztják alá a mdPFC neuronok fontos szerepét a metabolikus folyamatok központi szabályozásában.

Szervezetünkben a perifériáról érkező információk segítségével a központi idegrendszer a metabolikus igényeknek megfelelően képes kontrollálni az anyagcsere folyamatokat. A perifériáról metabolikus, humorális és a váguszon keresztül neurális információk érkeznek azon kemoszenzoros idegsejtekhez, melyek a glukóz koncentráció mellett hormonok (inzulin, leptin, GLP-1) és különböző metabolitok (zsírsavak, ketontestek, laktát és más metabolitok) érzékelésére is képesek [69-71]. Ha ezen speciális neuronok érzékenysége csökken, a perifériás információk feldolgozása zavart szenved, ami metabolikus betegségek kialakulásához vezethet.

Az 1-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegeknél a PFC szignifikáns vastagságcsökkenését mutatták ki MR vizsgálattal. A kéregvastagság csökkenésének mértéke korrelációt mutatott a betegek hosszútávú glikémiás kontrolljával. [72].

A mdPFC STZ mikroinjekcióval történt kezelését követően vizsgálataink komplex metabolikus eltéréseket mutattak. Átmeneti glukóz-intoleranciát és plazma triglicerid szint csökkenést tapasztaltunk a GM neuronok szelektív elpusztításának eredményeként.

5. Általános következtetések

A táplálkozási és anyagcsere betegségek, mint a diabetes mellitus, a metabolikus szindróma és az elhízás, egyre növekvő népegészségügyi problémát okoznak a modern társadalmakban. A jelenlegi orvosi kezelések a perifériás kórfolyamatokra koncentrálnak és mindezidáig nem hoztak átütő sikert.

Eredményeink alátámasztják azt a nézetet, hogy a fent említett betegségek esetén a központi idegrendszer szabályozó működésének diszfunkcióját sem szabad figyelmen kívül hagyni. Jelen vizsgálataink a korábbi eredményekkel együtt az endogén és exogén kemoszenzoros funkciók konvergenciáját mutatják a mdPFC-ben. Úgy tűnik, hogy az itt jelenlévő GM neuronok kiemelt szerepet játszanak a különböző területekről érkező komplex kemoszenzoros információk integrációjában, mely lehetővé teszi, hogy a táplálkozás és a metabolizmus központi szabályozásában részt vegyenek.

Mindezek alapján reméljük, hogy a szervezetünk homeosztázisának fenntartásában résztvevő központi idegrendszeri struktúrák - így a mdPFC - egyre részletesebb funkcionális megismerése hozzájárul új gyógyszer-targetek azonosításához, és az eddigieknél hatékonyabb terápiás stratégiák kidolgozásához.

Irodalomjegyzék

- [1] Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004;28:771-84.
- [2] Watanabe M. Reward expectancy in primate prefrontal neurons. *Nature.* 1996;382:629-32.
- [3] Kolb B, Nonneman AJ. Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 1975;88:806-15.
- [4] Lacroix L, Spinelli S, Heidbreder CA, Feldon J. Differential role of the medial and lateral prefrontal cortices in fear and anxiety. *Behav Neurosci.* 2000;114:1119-30.
- [5] Kolb B. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain research.* 1984;320:65-98.
- [6] Kita H, Oomura Y. Reciprocal connections between the lateral hypothalamus and the frontal complex in the rat: electrophysiological and anatomical observations. *Brain research.* 1981;213:1-16.
- [7] Terreberry RR, Neafsey EJ. The rat medial frontal cortex projects directly to autonomic regions of the brainstem. *Brain Res Bull.* 1987;19:639-49.
- [8] Norgren R, Leonard CM. Taste pathways in rat brainstem. *Science.* 1971;173:1136-9.
- [9] Rolls ET. Information processing in the taste system of primates. *J Exp Biol.* 1989;146:141-64.
- [10] Aou S, Oomura Y, Lenard L, Nishino H, Inokuchi A, Minami T, et al. Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain research.* 1984;302:69-74.
- [11] Karadi Z, Oomura Y, Nishino H, Scott TR, Lenard L, Aou S. Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. *J Neurophysiol.* 1992;67:389-400.
- [12] Oomura Y, Ono T, Ooyama H, Wayner MJ. Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature.* 1969;222:282-4.
- [13] Papp S, Lukats B, Takacs G, Szalay C, Karadi Z. Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *Neuroreport.* 2007;18:1561-5.
- [14] Karadi Z, Lukats B, Papp S, Szalay C, Egyed R, Lenard L, et al. Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem Senses.* 2005;30 Suppl 1:i168-9.
- [15] Karadi Z, Faludi B, Lenard L, Czurko A, Niedetzky C, Vida I, et al. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. *Brain Res Bull.* 1995;37:157-62.
- [16] Karadi Z, Lukats B, Papp S, Takacs G, Egyed R, Lenard L. The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. *International Congress Series.* 2004;1269:30-3.
- [17] Lenard L, Karadi Z, Faludi B, Czurko A, Niedetzky C, Vida I, et al. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res Bull.* 1995;37:149-55.
- [18] Descarries L, Lemay B, Doucet G, Berger B. Regional and laminar density of the dopamine innervation in adult rat cerebral cortex. *Neuroscience.* 1987;21:807-24.
- [19] Berger B, Thierry AM, Tassin JP, Moyne MA. Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex: a fluorescence histochemical study. *Brain research.* 1976;106:133-45.
- [20] Björklund A, Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. In: Björklund A, Hökfelt T, editors. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, Amsterdam-New York-Oxford: Elsevier Science Publishers B.V.; 1984. p. 55-122.
- [21] Ungerstedt U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1971;367:1-48.
- [22] Oomura Y, Yoshimatsu H. Neural network of glucose monitoring system. *Journal of the autonomic nervous system.* 1984;10:359-72.
- [23] Ganda OP, Rossini AA, Like AA. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes.* 1976;25:595-603.
- [24] Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50:537-46.

- [25] Egyed R, Lukats B, Karadi Z. Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. *J Physiol (Lond)*. 2000;526:173-4.
- [26] Keszthelyi Z, Past T, Lukats B, Koltai K, Karadi Z. The central effect of chromium on glucose metabolism. *Pharmacopsychiatry*. 2004;37:242.
- [27] Karádi Z, Nagy B, Szabó I, Szalay C, Takács G, Keresztes D, et al. Complex Functional Attributes of Forebrain Glucose-Monitoring Neurons in the Maintenance of Homeostasis. *Acta Physiologica*. 2011;202,Supplement 684 :O20
- [28] Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. A stereotaxic atlas of the rat brain. New York: Plenum Press. 1979.
- [29] Grill HJ, Norgren R. The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain research*. 1978;143:263-79.
- [30] Grill HJ, Norgren R. The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. *Brain research*. 1978;143:281-97.
- [31] Nagy B, Takacs G, Szabo I, Lenard L, Karadi Z. Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. *Behavioural brain research*. 2012;234:228-32.
- [32] Takacs G, Lukats B, Papp S, Szalay C, Karadi Z. Taste reactivity alterations after IL-1beta microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat. *Neurosci Res*. 2008;62:118-22.
- [33] Moskowitz HR, Kumraiah V, Sharma KN, Jacobs HL, Sharma SD. Effects of hunger, satiety and glucose load upon taste intensity and taste hedonics. *Physiology & behavior*. 1976;16:471-5.
- [34] Yamaguchi S. Basic properties of umami and its effects on food flavor. *Food Reviews International*. 1998;14:139-76.
- [35] Rose JE, Woolsey CN. The orbitofrontal cortex and its connections with the mediodorsal nucleus in rabbit, sheep and cat. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1948;27 (1 vol.):210-32.
- [36] Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE. Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2002;22:1063-71.
- [37] Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26:321-52.
- [38] Heidbreder CA, Groenewegen HJ. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003;27:555-79.
- [39] Kolb B. Animal models for human PFC-related disorders. *Prog Brain Res*. 1990;85:501-19.
- [40] Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog Neurobiol*. 2005;75:143-60.
- [41] Oomura Y. Input-output organisation in the hypothalamus relating to food intake behaviour. In: Morgane PJ, Panksepp J, editors. *Handbook of the Hypothalamus II*, New York: Marcel Dekker Inc.; 1980. p. 557-620.
- [42] Nakano Y, Oomura Y, Lenard L, Nishino H, Aou S, Yamamoto T, et al. Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala. *Brain research*. 1986;399:167-72.
- [43] Adachi A, Shimizu N, Oomura Y, Kobashi M. Convergence of hepatoportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract. *Neuroscience letters*. 1984;46:215-8.
- [44] Mizuno Y, Oomura Y. Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study. *Brain research*. 1984;307:109-16.
- [45] Mogensen J, Divac I. Behavioural changes after ablation of subdivisions of the rat prefrontal cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 1993;53:439-49.
- [46] Granon S, Passetti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2000;20:1208-15.
- [47] Goeders NE, Dworkin SI, Smith JE. Neuropharmacological assessment of cocaine self-administration into the medial prefrontal cortex. *Pharmacol Biochem Behav*. 1986;24:1429-40.

- [48] Hedou G, Feldon J, Heidbreder CA. Effects of cocaine on dopamine in subregions of the rat prefrontal cortex and their efferents to subterritories of the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol.* 1999;372:143-55.
- [49] Ikemoto S. Brain reward circuitry beyond the mesolimbic dopamine system: a neurobiological theory. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;35:129-50.
- [50] Richardson NR, Gratton A. Changes in medial prefrontal cortical dopamine levels associated with response-contingent food reward: an electrochemical study in rat. *J Neurosci.* 1998;18:9130-8.
- [51] Tzschentke TM. Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog Neurobiol.* 2001;63:241-320.
- [52] Gambarana C, Masi F, Leggio B, Grappi S, Nanni G, Scheggi S, et al. Acquisition of a palatable-food-sustained appetitive behavior in satiated rats is dependent on the dopaminergic response to this food in limbic areas. *Neuroscience.* 2003;121:179-87.
- [53] Hernadi I, Karadi Z, Vigh J, Petyko Z, Egyed R, Berta B, et al. Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull.* 2000;53:751-8.
- [54] Touzani K, Bodnar RJ, Sclafani A. Acquisition of glucose-conditioned flavor preference requires the activation of dopamine D1-like receptors within the medial prefrontal cortex in rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2010;94:214-9.
- [55] Bassareo V, Di Chiara G. Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *J Neurosci.* 1997;17:851-61.
- [56] Hernandez L, Hoebel BG. Feeding can enhance dopamine turnover in the prefrontal cortex. *Brain Res Bull.* 1990;25:975-9.
- [57] Bartho P, Hirase H, Monconduit L, Zugaro M, Harris KD, Buzsaki G. Characterization of neocortical principal cells and interneurons by network interactions and extracellular features. *J Neurophysiol.* 2004;92:600-8.
- [58] Contreras D. Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Netw.* 2004;17:633-46.
- [59] Vigneswaran G, Kraskov A, Lemon RN. Large identified pyramidal cells in macaque motor and premotor cortex exhibit "thin spikes": implications for cell type classification. *J Neurosci.* 2011;31:14235-42.
- [60] Li Y, Wu XY, Zhu JX, Owyang C. Intestinal serotonin acts as paracrine substance to mediate pancreatic secretion stimulated by luminal factors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281:G916-23.
- [61] Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou 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;104:15069-74.
- [62] Nijjima A. Reflex effects of oral, gastrointestinal and hepatoportal glutamate sensors on vagal nerve activity. *J Nutr.* 2000;130:971S-3S.
- [63] Sclafani A. Sweet taste signaling in the gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2007;104:14887-8.
- [64] Wu SV, Rozengurt N, Yang M, Young SH, Sinnott-Smith J, Rozengurt E. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2002;99:2392-7.
- [65] Bezencon C, le Coutre J, Damak S. Taste-signaling proteins are coexpressed in solitary intestinal epithelial cells. *Chem Senses.* 2007;32:41-9.
- [66] Kondoh T, Tsurugizawa T, Torii K. Brain Functional Changes in Rats Administered with Monosodium L-Glutamate in the Stomach. *International Symposium on Olfaction and Taste: Ann N Y Acad Sci* 2009;1170:77-81.
- [67] Kesner RP, Berman RF, Tardif R. Place and taste aversion learning: role of basal forebrain, parietal cortex, and amygdala. *Brain Res Bull.* 1992;29:345-53.

- [68] Kiefer SW, Orr MR. Taste avoidance, but not aversion, learning in rats lacking gustatory cortex. *Behav Neurosci.* 1992;106:140-6.
- [69] Levin BE. Metabolic sensing neurons and the control of energy homeostasis. *Physiology & behavior.* 2006;89:486-9.
- [70] Rocca AS, Brubaker PL. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology.* 1999;140:1687-94.
- [71] Pannacciulli N, Le DS, Salbe AD, Chen K, Reiman EM, Tataranni PA, et al. Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans. *Neuroimage.* 2007;35:511-7.
- [72] Lyoo IK, Yoon S, Jacobson AM, Hwang J, Musen G, Kim JE, et al. Prefrontal Cortical Deficits in Type 1 Diabetes Mellitus: Brain Correlates of Comorbid Depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1-10.

Publikációs jegyzék

I. Folyóiratcikkek

A. A disszertációhoz kapcsolódó cikkek

Nagy B., Szabó I., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Karádi Z.:
Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
Brain Research 1444:38-44. 2012.
IF: 2.728

Nagy B., Takács G., Szabó I., Lénárd L., Karádi Z.:
Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex
Behavioural Brain Research 234: 228-232. 2012.
IF: 3.417

B. További cikkek

Takács G., Papp Sz., Lukáts B., Szalay Cs., **Nagy B.**, Fotakos D., Karádi Z.: Homeostatic alterations after IL-1 β microinjection into the nucleus accumbens of the rat
Appetite 54: 354-362. 2010.
IF: 2.433

Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Szabó I., Simon D., Berki T., Karádi Z.:
Insulin and leptin plasma levels after the microinjection of interleukin-1 β into the nucleus accumbens of the rat
Acta Physiologica Hungarica 99 (4), 472-478. 2012.
IF: 0.821

II. Konferencia összefoglalók

A. Referált folyóiratban megjelent összefoglalók

Karádi Z., Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Papp Sz., Lukáts B., Lénárd L.: Complex homeostatic attributes of the forebrain glucose-monitoring neurons
Appetite, 51:(2) 376- p., 2008.

Takács G., Lukáts B., Papp Sz., Szalay Cs., **Nagy B.**, Fotakos D., Hanna S. and Karádi Z.:
Interleukin-1b mechanizmusok patkány nucleus accumbensben a homeosztázis szabályozásában
Acta Physiologica Hungarica 96:138, 2009.

Nagy B., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Lukács B., Rábai M., Dimitrios F., Keresztes D., Németh L., Karádi Z.: A mediodorsalis prefrontalis kéreg idegsejtjeinek neurokémiai sajátosságai
Acta Physiologica Hungarica 96:108, 2009.

Szalay Cs., Aradi M., Schwarcz A., Orsi G., **Nagy B.**, Takács G., Lénárd L., Karádi Z.: Brain activation changes following repeated intravenous glucose loads: a primate fMRI study
Diabetes 58 (S1): A398, 2009.

Nagy B., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Hideg B., Faragó B., Németh L., Csulak T., Hanna S., Karádi Z.: Complex Chemosensitivity of neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
Obesitologia Hungarica 10, (S1), p.:42, 2009.

Cs. Szalay, M. Aradi, A. Schwarcz, G. Orsi, **B. Nagy**, G. Takács, L. Lénárd, Z. Karádi: Repeated intravenous glucose loads elicit brain activation changes in the rhesus monkey: an fMRI study
Obesitologia Hungarica 10, Suppl. 1; p.:42, 2009.

G. Takács, Cs. Szalay, **B. Nagy**, B. Hideg, T. Csulak, S. Hanna, D. Keresztes, B. Faragó, L. Németh, Z. Karádi: Pyrogenic but not anorexigenic and adipogenic effects of interleukin-1 beta is mediated by cyclooxygenases in the nucleus accumbens of the rat
Obesitologia Hungarica 10, Suppl. 1; p.:43, 2009.

Nagy B., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Hideg B., Faragó B., Németh L., Csulak T., Hanna S. és Karádi Z.: Taste responsiveness of glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
Acta Physiologica Hungarica 97, p.: 125, 2010.

Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Hideg B., Csulak T., Hanna S., Keresztes D., Faragó B., Németh L. és Karádi Z.: Differential mechanisms of the interleukin-1 beta induced homeostatic process in the nucleus accumbens of the rat
Acta Physiologica Hungarica 97, p.: 142, 2010.

Karádi Z., **Nagy B.**, Takács G., Szalay Cs., Papp Sz., Lukács B., Fotakos D., Keresztes D., Hideg B., Faragó B., Lénárd L.: Előagyi glukóz-monitorozó idegsejtek a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásában
Obesitologia Hungarica 11, Suppl. 1; S19, 2010.

Nagy B., Szabó I., Takács G., Szalay Cs., Faragó B., Keresztes D., Fotakos D., Karádi Z.: Intragastrikus és intraorális kémiai stimuláció hatása a mediodorsalis prefrontalis kéreg neuronjaira
Acta Physiologica Hungarica 97, p.: 463. 2010.

Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Szabó I., Fotakos D., Csulak T., Németh L., Keresztes D., Hanna S., Hideg B., Faragó B., Csulak E., Karádi Z.: Íz-percepció változások a limbikus előagyi interleukin-1 β mediálta anorexia hátterében
Acta Physiologica Hungarica 97, p.: 480. 2010.

Z. Karádi, **B. Nagy**, I. Szabó, D. Fotakos, D. Keresztes, B. Hideg, B. Faragó: Responsiveness of Forebrain Glucose-Monitoring Neurons to Intraorally and Intra-gastrically Delivered Monosodium Glutamate
Chem.Senses 36: E10, 2011.
Doi: 10.1093/chemse/bjq126

Nagy B., Szabó I., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Faragó B., Hideg B., Bajnok-Góré M., Karádi Z.
Characteristic dopamine sensitivity pattern and chemical information processing of glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
Acta Physiologica Volume 202, Supplement 684, p.: 85. 2011.

Karádi Z., **Nagy B.**, Szabó I., Szalay Cs., Takács G., Keresztes D., Hideg B., Faragó B., Bajnok-Góré M., Lénárd L.
Complex functional attributes of forebrain glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis
Acta Physiologica Volume 202, Supplement 684, p.: 49. 2011.

Szabó I., **Nagy B.**, Takács G., Szalay Cs., Papp S., Hideg B., Faragó B., Bajnok-Góré M., Keresztes D., Karádi Z.
Glucose-monitoring neurons: endogenous and exogenous chemical sensitivity in the nucleus accumbens
Acta Physiologica Volume 202, Supplement 684, p.: 112. 2011.

Nagy B., Szabó I., Keresztes D., Faragó B., Hideg B., Góré MB, Karádi Z: Electrophysiological characteristics of feeding associated mdPFC neurons
Clinical neuroscience (Idegyógyászati szemle) 65(S1): 47. 2012.

Szabó I, **Nagy B.**, Hideg B, Faragó B, Góré MB, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical responsiveness of umami sensitive neurons in the nucleus accumbens
Clinical neuroscience (Idegyógyászati szemle) 65(S1): 62. 2012.

B. Egyéb konferencia összefoglalók

G. Takács, **B. Nagy**, Cs. Szalay, D. Fotakosz, Sz. Hanna, M. Mizuno, K. Narikiyo and Z. Karádi: Taste perception deficit after interleukin-1 β microinjection into the nucleus accumbens of the rat
IBRO Workshop Debrecen, 2008.

Takács G, Lukáts B, Papp Sz, Szalay Cs, **Nagy B**, Fotacos D, Hanna S and Karádi Z:
Nucleus accumbens interleukin-1beta mechanisms in the control of homeostasis
FENS Forum Genf, Abstract, Vol: 4, 094.13, p.: 280. 2008.

Szalay, Cs., Aradi, M., Auer, T., Schwarcz, A., Kotek, Gy., **Nagy, B.**, Takács, G., Lénárd, L. and Karádi, Z.: Intravenous glucose load elicited brain activation changes in the monkey: an fMRI study
FENS Forum Genf, Abstract, Vol: 4, 130.17, p.: 376. 2008.

Szalay Cs., Aradi M., Auer T., Schwarcz A., Hanna S., Németh L., **Nagy B.**, Takács G., Lénárd L. és Karádi Z.: A funkcionális MR alkalmazása táplálkozási és metabolikus betegségek központi szabályozási zavarainak megértésében: bevezető kísérletek A Magyar Neuroradiológus Társaság 17. Konferenciája Pécs, 2008.

Takács G., Papp Sz., Szalay Cs., **Nagy B.**, Hanna S., Dimitrios F., Németh L., Csulak T., Hideg B., Faragó B., Keresztes D. and Karádi Z.: Interleukin-1beta Mediated Homeostatic Processes in the Nucleus Accumbens of the Rat
12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Budapest, 2009.

Nagy B., Papp Sz., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Németh L., Hideg B., Faragó B., Csulak T., Rábai M. and Karádi Z.: Endogenous and Exogenous Chemosensitivity of Neurons in the Mediodorsal Prefrontal Cortex
12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Budapest, 2009.

Szalay Cs., Aradi M., Auer T., Orsi G., Schwarcz A., Hanna S., Németh L., **Nagy B.**, Takács G., Lénárd L. and Karádi Z.: Human and Monkey fMRI Pilot Experiments in the Understanding of Central Regulatory Disturbances of Feeding and Metabolism
12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Budapest, 2009.

Keresztes D., Németh L., Hideg B., Faragó B., Csulak T., Hanna S., Fotakos D. and **Nagy B.:** Neurochemical attributes and taste responsiveness of neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
Young Scientists and Students Conference of ISMA, 2009.

Nagy B., Takács G., Szalay Cs., Szabó I., Keresztes D., Hideg B., Fotakos D. és Karádi Z.: A mediodorzális prefrontális kéreg idegsejtjeinek endogén és exogén kémiai érzékenysége
Biológus doktoranduszok konferenciája Pécs, 2009.

Szalay Cs., Aradi M., Schwarcz A., Hanna S., Németh L., **Nagy B.**, Takács G., Lénárd L., Karádi Z.: Funkcionális MR alkalmazása táplálkozási és anyagcsere betegségek központi szabályozási zavarainak megértésében
Biológus doktoranduszok konferenciája Pécs, 2009.

Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Fotakos D., Keresztes D., Németh L., Hanna S., Hideg B., Csulak T., Faragó B., Karádi Z.: A nucleusnaccumbensbe adott interleukin-1 beta szerepe a homeosztázis központi szabályozásában
Biológus doktoranduszok konferenciája Pécs, 2009.

Nagy B., Szabó I., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Hideg B., Fotakos D., Faragó B., Karádi Z.: Neurochemical attributes and taste responsiveness of neurons in the mediodorsal prefrontal cortex
IBRO International Workshop Pécs, 2010.

Fotakos D., Hideg B., Szabó I., Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Karádi Z.: The effect of intraoral and intragastric administrations of chemicals on glucose monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat
IBRO International Workshop Pécs, 2010.

Takács G., Szalay Cs., **Nagy B.**, Fotakos D., Szabó I., Keresztes D., Németh L., Hanna S., Csulak T., Hideg B., Faragó B., Karádi Z.: Feeding and taste perception alterations after IL-1 beta microinjection into the nucleus accumbens
IBRO International Workshop Pécs, 2010.

Nagy B., Szabó I., Takács G., Szalay Cs., Keresztes D., Hideg B., Fotakos D., Faragó B. And Karádi Z.: Mediodorsal prefrontal cortex glucose-monitoring neurons change in activity in response to intraorally and intragastrically delivered chemical stimuli
7th FENS Forum of European Neuroscience. Abstract, 144.5, p.: 195. Amsterdam, 2010.

Fotakos D, Hideg B, Szabo I, Szalay C, Takacs G, **Nagy B**, Karadi Z: The effect of gustatory and intragastric chemical stimulation on glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat
7th FENS Forum of European Neuroscience. Abstract, 144.2, p.: 195. Amsterdam, 2010.

Takacs G, Szalay C, **Nagy B**, Fotakos D, Szabó I, Keresztes D, Németh L, Hanna S, Csulak T, Hideg B, Faragó B, Karádi Z
Involvement of interleukin-1beta in the control of feeding and taste perception in the nucleus accumbens
7th FENS Forum of European Neuroscience. Abstract, 175.5, p.: 217. Amsterdam, 2010.

Karádi Z, **Nagy B**, Szabó I, Fotakos D, Keresztes D, Hideg B, Faragó B
Responsiveness of forebrain glucose-monitoring neurons to intraorally and intragastrically delivered monosodium glutamate
7th FENS Forum of European Neuroscience. Amsterdam, 2010.

Szabó I, **Nagy B**, Takács G, Szalay C, Papp S, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Keresztes D, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical sensitivity of glucose monitoring neurons in the nucleus accumbens
13th Conference of Hungarian Neuroscience Society. Budapest, 2011.

Nagy B., Szabó I., Papp S., Takács G., Szalay C., Keresztes D., Faragó B., Hideg B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex: responsiveness to dopamine and exogenous chemical stimuli
DA and exogenous chemical sensitivity of glucose monitoring neurons in the mdPFC
13th Conference of Hungarian Neuroscience Society. Budapest, 2011.

Szabó I., **Nagy B.**, Ábrahám I., Lénárd L., Karádi Z.: Ösztrogén hatása a nucleus basalis magnocellularis idegsejtjeinek neurokémiai excitabilitására egérben in vivo
A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012.

Csetényi B., Hormay E., Szabó I., **Nagy B.**, Hideg B., Faragó B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Endogén és exogén kémiai ingerek hatása az umami-érzékeny idegsejtekre patkány cinguláris kérgében
A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012.

Hormay E., Csetényi B., Szabó I., **Nagy B.**, Faragó B., Hideg B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Patkány cinguláris kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek exogén és endogén kémiai érzékenysége
A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012.

Nagy B., Szabó I., Takács G., Faragó B., Hideg B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: A prefrontális kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek szerepe az íz-reaktivitási mintázatok kialakulásában
A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012.

Nagy B., Takács G., Szabó I., Szalay C., Keresztes D., Faragó B., Hideg B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Taste reactivity deficit after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex
8th FENS Forum of Neuroscience. Barcelona, 2012.

Szabó I., **Nagy B.**, Takács G., Papp S., Hideg B., Faragó B., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Endogenous and exogenous chemical sensitivity of glucose-monitoring and glutamate sensitive neurons in the nucleus accumbens
8th FENS Forum of Neuroscience. Barcelona, 2012.

Csetényi B., Hormay E., **Nagy B.**, Szabó I., Bajnok Góré M., Hideg B., Karádi Z.: Homeostatic alterations after IL-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat
XIVth Conference of the Hungarian Neuroscience Society. Budapest, 2013.

Hormay E., Csetényi B., Szabó I., **Nagy B.**, Hideg B., Bajnok Góré M., Karádi Z.:
Catecholamine responsiveness of glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the
rat
XIVth Conference of the Hungarian Neuroscience Society. Budapest, 2013.

Szabó I., **Nagy B.**, Csetényi B., Hormay E., Bajnok Góré M., Karádi Z.: Endogenous and
exogenous chemical responsiveness in the medial orbitofrontal cortex
XIVth Conference of the Hungarian Neuroscience Society. Budapest, 2013.