

**A nucleus accumbens glukóz-
monitorozó neuronjai a táplálkozás
központi idegrendszeri
szabályozásában**

Ph.D. értekezés

Dr. Papp Szilárd

Témavezető:

Dr. Karádi Zoltán

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Élettani Intézet

Pécs, 2007.

Tartalomjegyzék

<u>TARTALOMJEGYZÉK</u>	2
<u>RÖVIDÍTÉSEK</u>	4
<u>I. ÁLTALÁNOS BEVEZETŐ</u>	6
<u>II. IRODALMI HÁTTÉR</u>	7
1. A táplálkozás központi szabályozása	7
1.1. Főbb struktúrák	7
1.2. Katecholaminergias pályarendszerek	10
2. Kémiai ingermodalitások - ízlelés	11
2.1. Az ízlelés szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában	12
2.2. Központi íz-információ feldolgozás	12
3. Kemoszenzitív neuronok. A központi glukóz-monitorozó idegsejthálózat	13
3.1. Glukóz-érzékelés	14
3.2. STZ	15
4. Nucleus accumbens (NAcc)	16
4.1. Anatómiai kapcsolatok, neurokémiai jellemzők	16
4.2. Az előagy limbikus kör dopaminergias elemei	18
4.3. A NAcc specifikus neurotranszmitter mechanizmusai a táplálkozás központi szabályozásában	19
<u>III. KÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK</u>	20
1. Bevezető	20
2. Kérdésselvetés	21
3. Módszerek	24
3.1. Alanyok	24
3.2. Elektrofiziológiai vizsgálatok	24
3.2.1. Műtét	24
3.2.2. Elektróda	26
3.2.3. Adatgyűjtés, jelfeldolgozás	26
3.2.4. Mikroiontoforézis	27
3.2.5. Neurokémiai vizsgálatok	28
3.2.6. Íz-ingerlés	29
3.3. Metabolikus és magatartási vizsgálatok	29
3.3.1. Műtét	29
3.3.2. Nucleus accumbens mikroinjekciók	30
3.3.3. Metabolikus vizsgálatok	31
3.3.3.1. Vércukorszint mérés, glukóz tolerancia teszt	31
3.3.3.2. Metabolitok plazmaszintjének mérése	32
3.3.4. Magatartási vizsgálatok	32
3.3.4.1. Kondicionált íz-averzió vizsgálata	32
3.3.4.2. Íz-reaktivitás vizsgálata	33
3.4. Szövettan	35
3.5. Adatfeldolgozás, statisztika	36

4. Eredmények.....	37
4.1. Elektrofiziológiai eredmények	37
4.1.1. Glukóz-monitorozó idegsejtek a NAcc-ben.....	37
4.1.2. DA érzékeny neuronok a NAcc-ben	39
4.1.3. Egyéb neurotranszmitter hatások a NAcc-ben	40
4.1.4. Neuronális íz-válaszkészség a NAcc-ben	42
4.2. Metabolikus változások.....	46
4.2.1. Vércukorszint változás cukorterhelési teszt (GTT) során	46
4.2.2. Szérum metabolit eltérések	47
4.3. Íz-percepciós zavarok.....	48
4.3.1. Kondicionált íz-averzió	48
4.3.2. Íz-reaktivitás.....	49
4.4. Szövevény	51
5. Új eredményeink összefoglalása	52
<u>IV. MEGBESZÉLÉS</u>	54
1. "Endogén" kémiai érzékelés /GR, GS/	55
1.1. Glukóz-monitorozó idegsejtek	55
1.2. DA érzékeny idegsejtek	56
1.3. GABA érzékeny idegsejtek.....	57
2. "Exogén" kémiai érzékelés	57
2.1. Elektrofiziológiai-neurokémiai sajátosságok	58
2.2. Íz-információ feldolgozási zavarok.....	59
3. Metabolikus eltérések.....	61
<u>V. ÁLTALÁNOS KÖVETKEZTETÉSEK</u>	63
<u>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</u>	64
<u>AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ SAJÁT PUBLIKÁCIÓK</u>	65
<u>IRODALOMJEGYZÉK</u>	68
<u>FÜGGELÉK</u>	80

Rövidítések

Ach	acetilkolin
AMY	amygdala
AP	antero-posterior
B	bregma
CO	kontroll
DA	dopamin
DM	diabetes mellitus
FFA	szabad zsírsavak (free fatty acids)
GABA	gamma-amino-vajsav
GIS	glukóz-inszenzitív
GLUT	glukóz-transzporter fehérje
GM	glukóz-monitorozó
GMSH	glukóz-monitorozó sejthálózat
GP	globus pallidus
GR	glukóz-receptor
GS	glukóz-szenzitív
GTT	glukóz tolerancia teszt
KIR	központi idegrendszer
KÍA	kondicionált íz-averzió
LC	locus coeruleus
LHA	laterális hypothalamus area
MCLDR	mezokortikolimbikus dopaminergiás rendszer
ML	medio-laterális
MLDR	mezolimbikus dopaminergiás rendszer
mPFC	mediális prefrontális kéreg
MSG	monoszódium-glutamát (umami)
NA	noradrenalin
NAcc	nucleus accumbens
NaCl	nátrium-klorid
NSDR	nigrostriatális dopaminergiás rendszer
NTS	nucleus tractus solitarii

OBF	orbitofrontális kéreg
PFC	prefrontális kéreg
QHCl	kinin-hidroklorid
SN	substantia nigra
STZ	streptozotocin
V	ventrális
VMH	ventromediális hypothalamus mag
VNAR	ventrális noradrenergiás rendszer
VPM	ventroposzteromediális thalamus
VTA	ventrális tegmentalis area

I. Általános bevezető

Világszerte egyre növekvő számban fordulnak elő táplálkozási és anyagcsere megbetegedések. Népegészségügyi jelentőségük okán a kóros soványság és elhízás, az anorexia és bulimia nervosa, valamint a különböző anyagcsere zavarok, mint például a diabetes mellitus vagy az ún. metabolikus szindróma, háttérében álló folyamatok mind jobb megismerése nélkülözhetetlen az eredményes terápiás stratégiák kidolgozásához. Számos adat utal arra, hogy e kórképekben megváltozik a homeosztatisz funkciók központi szabályozása, illetve felvetődött annak lehetősége is, hogy különböző tünetek a reguláció zavarainak nyomán jelennek meg. Mindezek okán alapvetően fontos a homeosztázis központi idegrendszeri szabályozó működéseinek minél teljesebb megismerése. E tekintetben különös jelentősége lehet az előagyban limbikus neuronhálózat meghatározó részeként számon tartott nucleus accumbens idegsejtjeinek. Jelen kísérleteink arra irányultak, hogy e neuronok táplálkozás és anyagcsere regulációs szerepének az eddigieknél jobb megismerését elősegítsük.

II. Irodalmi háttér

A homeosztázis, vagyis a szervezet belső környezeti állandóságának fenntartásában számos, egymással szorosan összefüggő perifériás és centrális idegi, humorális-metabolikus regulációs folyamat vesz részt. Ilyen folyamatok szabályozzák a megfelelő táplálék- és folyadékfelvételt, a plazma cukor és egyéb metabolit összetételét, az anyagcsere megfelelő szinten tartását, és általánosságban ezen folyamatok állnak az energiaforgalom, a testhőmérséklet, a szervezet védekező funkciói, a motivációs, percepciós, valamint tudati működések háttérében is.

A fenti felsorolásból kiemelve a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozását, kutatásainkat az ebben résztvevő agyi struktúrák egyik sajátos képviselőjére, a nucleus accumbens-re (NAcc), és annak specifikus neuronális működéseire összpontosítottuk.

1. A táplálkozás központi szabályozása

1.1. Főbb struktúrák

Táplálkozásszabályozási és testtömegregulációs szerepük alapján számos agyi magot illetve magcsoportot, valamint neurotranszmitterükkel jellemzett rostrendszeret ítélték kiemelt jelentőségűnek az elmúlt több, mint száz év során. A kutatások eredményeként különböző centrum- és pályateóriák születtek. A ma már túlhaladott klasszikus jacksoni felfogáson alapuló dualisztikus centrum-elképzelés szerint a testtömeg fenntartásának központi szabályozásáért alapvetően két agyi terület a felelős. A hypothalamus laterális részén elhelyezkedő laterális hypothalamus area-t (LHA) “éhség-központ”-ként definiálták, melynek roncsolása az ún. “LHA szindrómát” okozza: afágiát, adipenziát, testtömegvesztést, humorális-metabolikus és percepciós-motivációs zavarokat. A hypothalamus alsó-középső részén található ventromediális hypothalamus magot (VMH) ugyanakkor az ún. “jóllakottság-központ”-ként

azonosították, melynek sértése hiperfáigiához és sokrétű anyagcsere zavarok kialakulásához vezet [1-5].

Az elmélet kimondja, hogy a hypothalamus laterális részének a belső és külső környezeti hatásokra létrejövő küszöb feletti ingerlésére kezdődik meg az evés és ivás, míg további ingerek a VMH izgalmához vezetnek, mely a LHA sejtjeit gátolva felfüggeszti a táplálkozást. A centrum-teóriákat egyre több bíráló érte, s már az 1950-es évek második felében felvetődött, hogy a biológiai szempontból adaptív táplálkozás összefüggő neuronkörök, nem "centrumok" függvénye [6,7]. A "centrum"-felfogást ezüstimpregnációs funkcionális morfológiai vizsgálatokkal döntötték meg véglegesen, melyek bizonyították, hogy az LHA sejtjei a mediális előagyi köteg egyik belső magját képviselik [8].

A további kutatások nyomán bebizonyosodott, hogy számos extrahypothalamikus struktúra is fontos szerepet játszik a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában. Közöttük az amygdala magkomplexumot (AMY) szintén a kettős szabályozás jellemzi. Macskákön végzett célzott, bazolaterális amygdalektómia hatására kétszer-háromszor többet ettek az állatok, mint a beavatkozás előtt [9], s kimutatták, hogy az AMY dorzomediális régiójának sértése afáigiához vezet és az instrumentális táplálkozási reakciók megszűnését idézi elő [10].

Az orbitofrontális kéreg (OBF) és a prefrontális kéreg (PFC) más területei is fontos szerepet játszanak a táplálkozás központi szabályozásában. Az OBF sokrétű - olfaktoros, gusztatoros és viscerális, illetve szomatoszenzoros és motoros - bemenetei révén a táplálék hedonikus értékétől függően, a szervezet motivációs állapotának függvényében a percepciót és a motoros kimenetet hangolni tudja [11-19]. A mediális PFC (mPFC) a limbikus rendszer számos területével, többek között az OBF-el is kapcsolatban áll. Kísérletesen igazolták, hogy patkányban a mPFC kétoldali roncsolása megzavarja a táplálékgyűjtési magatartást, továbbá az e kéregrészt az OBF-el összekötő kétirányú pályák sértése akadályozza az íz és tér asszociáció

kialakulását [20]. A mPFC íz-információk feldolgozásában való részvételét bizonyítja az is, hogy léziója gátolja kondicionált íz-averzió kialakulását [21].

Egy másik, a táplálkozás és anyagcsere központi idegrendszeri szabályozásában igen jelentős extrahypothalamikus struktúra a laterális előagyi kötegből kifejlődött, s mind az extrapiramidális, mind pedig a limbikus rendszernek szerves részét képező globus pallidus (GP). A commissura anterior és a putamen között található GP morfológiai helyzeténél fogva is alkalmas lehet arra, hogy az extrapiramidális és limbikus rendszer együttműködésének lehetőségét megteremtse. Így módon a táplálkozás appetitív és konzummatív fázisa folyamatosan - és szabályozottan - követheti egymást; ezt számosan kísérletesen is igazolták már [22-25]. A pallidum lézióját követően afágia és adipszia alakul ki, melyet a percepció diszfunkción, a szelektív figyelem hiányán és a közvetlen motoros deficiten keresztül a szenzoros-motoros integráció zavara okoz [26]. Pallidum sértés hatására nemcsak afágia és adipszia alakul ki, hanem olyan jellemző humorális-metabolikus és vegetatív működési károsodások is létrejönnek, mint a hiperglikémia, a hipertireózis, valamint a hiperadrenalinémia [27,28].

Az agytörzsi magok - akár mint a periféria és a centrumok közötti információáramlás agyi átkapcsolóhelyei - a táplálkozási folyamatok központi szabályozásában, integrációjában ugyancsak fontos szerepet játszanak. Ezt bizonyítja az is, hogy a decerebrált állatok bonyolult szabályozásra képtelenek, de jóllakottsági jelekre megfelelő választ adnak [29]. A nucleus tractus solitarii (NTS) komplex funkciójú visceroszenzoros mag. Elülső része az íz-információk feldolgozásának első agyi állomása, ugyanakkor a nervus vagus-on keresztül a gasztrointesztinális traktusból érkező ingerületek is itt, e mag hátsó régiójában kapcsolódnak át. Másik fontos agytörzsi mag a nucleus dorsalis nervi vagi (n. X.), mely a nervus vagus visceromotoros magjaként funkcionál. Lézióját obezitás kifejlődése követi, ami ugyancsak igazolja a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában betöltött szerepét. A nucleus

parabrachialis roncsolása szintén kóros testsúlygyarapodáshoz vezet, ennek valószínűsíthető oka az itt fellelhető kolecisztoxinin tartalmú idegsejtek pusztulása, melyek a VMH-ba projiciálnak, és ott a táplálékfelvétel befejezését eredményezik [30,31].

Az eddig ismertett agyi struktúrák mellett az utóbbi évtizedekben számos, neurotranszmitterükkel jellemezett pályarendszert azonosítottak, melyek specifikus roncsolása döntő mértékben befolyásolja a táplálékfelvételi magatartást. Ezen pályarendszereknek a táplálkozás szabályozása szempontjából tán legjelentősebb képviselői a katekolaminergiás pályák.

1.2. Katecholaminergiás pályarendszerek

A dualisztikus centrumteóriákhoz hasonlóan az 1960-1970-es évek neurokémiai kutatásai nyomán megalkotott ún. "pályateória" is kettős szabályozási entitást feltételez.

A locus coeruleus (LC) területéről induló ventrális noradrenergias rendszer (VNAR) a "jóllakottság-pálya" elnevezést kapta, mivel roncsolásával - a VMH-ban végzett léziós kísérletekhez hasonlóan - az állatok elhízása idézhető elő [32]. Az "éhségpályát" az integratív felfogás szerint két másik katekolamin rendszer, a substantia nigra-ból induló ún. nigrostriális dopaminergiás rendszer (NSDR) [33,34], valamint a főként a ventrális tegmentális area-ból eredő mezolimbikus dopaminergiás rendszer (MLDR) együttesen alkotja [26,35]. Ez utóbbi két rendszer - terminálisokat adva - áthalad a LHA-on és a GP-on is [34,35].

Neurokémiai és hisztológiai kísérletek fényt derítettek az AMY kettős katekolamin - noradrenalin (NA) és dopamin (DA) - beidegzésére [33]. Lénárd és mtsai rámutattak arra, hogy a testtömeg szabályozásában a katekolaminok aránya a döntő, nem az abszolút mennyiségük: a relatív DA-hiányt eredményező sértések fogyást, a NA-hiánnyal járó léziók pedig hízást okoznak [36,37].

A NAcc is szoros kapcsolatban áll a katekolaminergiás pályarendszerekkel. Ismert, hogy a MLDR egyik fontos projekciós területe a NAcc [38,39], továbbá kísérletesen bizonyított tény, hogy akár természetesen, akár mesterségesen motivált (stimulált) táplálékfelvétel során a NAcc extracelluláris DA szintje megemelkedik [40,41]. A NAcc területén α és β noradrenergiás receptorok jelenlétét is igazolták [42,43], s kimutatták, hogy az α receptorok által gátlódik, míg a β receptorokon keresztül fokozódik a DA felszabadulás [43].

Az eddig ismertett agyi régiók és a közöttük kapcsolatot teremtő pályarendszerek meghatározóak a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában. E folyamatokban fontos szerepet játszanak a szervezet belső környezetének ún. "endogén" kémiai tényezői mellett a külső környezeti, "exogén" kémiai ingerek is.

2. Kémiai ingermodalitások - ízlelés

A táplálékfelvétel folyamatát két nagy folyamatsorra lehet felosztani, az előkészítő, appetitív és a végrehajtó, konzumatív szakaszra. Az előbbi során először megjelenik az éhségérzet mint specifikus motiváció, mely az állatot kereső magatartásra, a táplálék felkutatására sarkallja. Ezt követően kezdődik az iniciatív fázis, amit a táplálék látványa, illata, majd íze, valamint az ezekre bekövetkező élettani változások vezérelnek. A konzumatív szakasz során az állat megragadja, megrágja és lenyeli a táplálékot.

Az egymással reprezentációs területeik (pl. az NTS, LH, AMY, OBF) átfedése miatt is szoros kapcsolatban álló két kémiai ingermodalitás, az ízlelés és a szaglás e működésekben játszott sokrétű szerepét széles irodalom tárgyalja. A jelen disszertáció keretei között az ízlelésnek szentelünk megkülönböztetett figyelmet.

2.1. Az ízlelés szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában

A közvetlen kemorecepciót megvalósító íz-érzékelés alapvető jelentőségű az élőlények túlélése szempontjából: nagyrészt az íz-információk gyors feldolgozásával döntenek az egyes táplálékok elfogyasztásáról vagy elutasításáról. Az ehetőt a mérgezőtől megkülönböztető ízlelés döntően befolyásolja a táplálék és a folyadék kiválasztásának folyamatát, mely során az egyed felhasználja az egyes összetevőkről, íz-komponensekről elraktározott emlékeit is [18].

Kutatásaink egyik fontos célkitűzése volt a NAcc-ben található neuronok íz-válaszkészségének feltárása.

2.2. Központi íz-információ feldolgozás

A centrális íz-pályák egyes átkapcsoló állomásai rágcsálókban és főemlősökben jelentős átfedést mutatnak. A nyelv különböző területeiről és a lágyszájpadról a VII. és a IX. agyideg, a garat hátsó szakaszáról és a gégetájékról ill. a nyelőcső legfelső szakaszáról pedig a X. agyideg nervus laryngeus superior ága továbbítja az íz-információt az első KIR-i feldolgozó állomásként funkcionáló NTS elülső régiójába [44-46].

Rágcsálókban az íz-rostok innen a hídbeli központba, a parabrachialis mag mediális területére koncentrálódó, de laterálisabb részét is érintő ún. "pontin íz-érző area-ba" projiciálnak [44,45,47], majd az információk a ventropozsteromediális thalamus mag (VPM) közvetítésével érik el az agranuláris és diszgranuláris insulában lokalizált elsődleges és másodlagos íz-kérget [48,49]. Létezik egy ún. "ventrális íz-projekció" is, melynek rostjai a hátsó agytörzs és az előagy (LHA, AMY, a stria terminalis bed nucleus-a és a GP) között létesítenek reciprok kapcsolatokat [50-56].

Főemlősökben az íz-információk folyamatos láncolatban a NTS-VPM-elsődleges íz-kéreg (frontális operculum, elülső insula) [44,46,57,58] útvonalon az OBF kaudolaterális

részében elhelyezkedő másodlagos kérgi íz-reprezentációhoz jutnak [16,19,46,59,60]. A központi íz-inger feldolgozás további állomásai az insuláris-orbitofrontális területekkel szoros kapcsolatban álló AMY centrális magcsoportja [46,61-64], illetve a mindezen struktúrákkal közvetlenül is reciprok összeköttetéssel rendelkező LHA és GP [61,62,65-69].

E fenti, igen szerteágazó ismeretanyag ellenére gyakorlatilag nem áll rendelkezésre szisztematikusan feldolgozott adatbázis arra vonatkozóan, hogy a NAcc neuronjai résztvesznek-e, s ha igen, miként, az íz-információk központi feldolgozásában.

3. Kemoszenzitív neuronok. A központi glukóz-monitorozó idegsejthálózat

A szervezet tápanyagszükségletét, pillanatnyi energetikai állapotát híven tükrözi a vérben keringő metabolitok minősége és mennyisége. A táplálékfelvétel regulációjában kiemelkedő szerepe van a mind a periférián, mind pedig a központi idegrendszerben megvalósuló glukorecepciónak [70]. A vér glukóz tartalmának változását követő agyi extracelluláris tér glukóz koncentráció eltolódást egy különleges idegsejtcsoport elemei, az ún. glukóz-monitorozó (GM) neuronok képesek érzékelni [1,71-74]. Az utóbbi évtizedekben egyre több adat áll rendelkezésre ezen kemoszenzitív idegsejtek funkcionális jellemzőiről, topográfiai elhelyezkedéséről [67,68,75,76]. A hypothalamus mellett bizonyított jelenlétük a NTS-ban, az area postrema-ban és az AMY-ban, újabban pedig a Lénárd professzor vezette pécsi Élettani Intézetben folytatott kísérletek igazolták azt, hogy megtalálhatók a globus pallidus-ban és a prefrontális-orbitofrontális kéregben is [1,19,65,66,68,71,73-86]. E sokrétű feladatok elvégzésére specializálódott kemoszenzitív idegsejtek képesek felismerni a belső környezet aktuális humorális (glukóz, metabolitok, hormonok, neurotranszmitterek, stb. koncentrációjának) változásait [1,75,86-90], továbbá részt vesznek a táplálékfelvétellel

összefüggő szenzoros-motoros, percepció-motivációs integrációban, illetve tanulási és emlékezési működésekben is [19,61-63,66-68,73,91-95].

A GM neuronok morfológiai és funkcionális jellegzetességeinek megismerése során kiderült, hogy két típusuk van: a glukóz hatására serkentődő, ún. glukóz-receptor (GR) sejtek nagyméretű, multipoláris neuronok, míg a glukóz hatására gátlódó, ún. glukóz-szenzitív (GS) sejtek kisebbek, alakjuk megnyúlt, multi-, illetve részben bipolárisak. A glukóz tekintetében inszenzitív (GIS) neuronok a glukózt csak metabolizmusuk során használják fel, de a cukor ezen sejtek esetében nem játszik szerepet a neurális információ közvetítésben [1].

Kísérleti adatok egyes agyterületeken a fenti sejtípusok sajátos aránybeli megoszlására is rámutatnak: a VMH-ban a neuronok egyharmada GR, míg a LHA-ban megközelítően azonos hányaduk GS típusú [1,67].

A GM neuronokat tartalmazó agyi struktúrák szoros kapcsolata az előagyi limbikus rendszer elemeként számoltartott, és különféle regulációs folyamatokban, így többek között a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában is fontos szerepet játszó NAcc-szel [40,41,96-104] joggal veti fel az itt található idegsejtek komplex kemoszenzitivitásának lehetőségét. Ezirányú vizsgálataink jelen disszertáció központi kérdésköréeként kísérleti munkánk meghatározó részét képezték.

3.1. Glukóz-érzékelés

A táplálékfelvételi magatartás szabályozásában fontos szerepet játszó perifériás szervek és központi idegrendszeri struktúrák kemoszenzoros idegsejtjei az extracelluláris szénhidrát koncentráció érzékelése szempontjából több tekintetben jelentős hasonlóságot mutatnak. Ma már ismert, hogy a pancreas inzulin-termelő β -sejtjeinek glukokináz aktivitása a perifériás cukor-érzékelés döntő tényezője [105]. Bebizonyosodott, hogy a pancreatikussal lényegében azonos hexokináz specifikus KIR-i neuronokban is megtalálható, és lokalizációja megegyezik

az agyi GM neuronok egyik csoportjával [106,107]. A β -sejt aktiváció meghatározó lépése az ATP-szenzitív K-csatornák (K_{ATP}) záródása. Számos szerző által igazolt tény, hogy a K_{ATP} agyi lokalizációja szintén átfedést mutat a hypothalamus GM idegsejtjeinek topográfiai elrendeződésével, sőt, a K_{ATP} funkcionális jelenléte e neuronokon ugyancsak bizonyított már [108-110]. A hasnyálmirigyben a glukóz hatására felszabaduló inzulin fokozza a szövetekben a glukóz felhasználást és tárolást, serkenti a szervezet anabolikus folyamatait. A glukóz szöveti hasznosulásának elengedhetetlen feltétele az inzulin determinálta sztereospecifikus glukóztranszport, melyhez a szövetenként némileg eltérő glukóztranszporter fehérjék (GLUT) aktiválása, és a citoplazma raktárakból a sejtmembránba illesztése szükséges [111-113]. A hasnyálmirigy inzulin-termelő β -sejtjeibe a glukózt az ún. 2-es típusú cukorszállító protein, a GLUT2 juttatja be. Korábban úgy tartották, hogy az agyban csak GLUT1 és GLUT3 reprezentálódik [114-116], azonban az újabb vizsgálatok eredményeként igazolódott a GLUT2 (és GLUT4) jelenléte a KIR-ben [117-119]. Kiderült az is, hogy neuronális expressziójuk a hypothalamus (és, többek között, az OBF) GM idegsejteket nagy számban tartalmazó területein figyelhető meg [120-122].

Ezen hasonlóság alapján felvetődött, hogy a hasnyálmirigy β -sejtjeit specifikusan károsító anyag saját kísérleteinkben a GM sejtek szelektív elpusztítására is hasznosítható lehet.

3.2. STZ

A glukózhoz igen nagymértékben hasonló molekulaszervezetű, a *Streptomyces achromogenes* gombafaj által termelt streptozotocin (STZ) kezdetben széles spektrumú antibiotikumként szolgált a mindennapi gyógyászatban, azonban súlyos mellékhatásai miatt terápiás alkalmazása egyre inkább a hasnyálmirigy daganatok egy sajátos csoportja, a primér inzulinómák (β -sejtes daganatok) oki kezelésére korlátozódott. Ennek alapja az volt, hogy a STZ szelektíven képes elpusztítani a β -sejteket, mely tulajdonsága miatt később az 1-es típusú diabetes mellitus állatkísérletes modelljének létrehozására is alkalmasnak bizonyult [123,124]. A STZ hatásmechanizmusa pontosan még nem ismert, DNS-lánctörést, oxidatív stresszt, szabadgyök-képződést, nitrogén monoxid (NO)-termelődést indukáló szerepét tartják a

legfontosabbnak [125-128]. A STZ centrális, KIR-i hatását intracerebroventrikuláris injekciók segítségével tanulmányozták. Kiderült, hogy csökkenti az agyi glukóz felhasználást, hatására megváltoznak a glikolitikus és glikogenolitikus folyamatok, továbbá az Alzheimer-kórban is tapasztalható lokális metabolikus deficit mellett sérül a monoaminergiás neurotranszmisszió is [129-132]. Munkacsoportunk korábbi, több agyterületen (VMH, OBF) végzett egysejtelvezetéses elektrofiziológiai vizsgálatai rávilágítottak az agyi STZ mikroinjekció szelektív GM idegsejt toxicitására [76,133]. A mikroelektroforetikusan, ismételt adagokban, közvetlenül az idegsejtekhez juttatott STZ hatására a GIS sejtek működése nem változott meg, a GM neuronok aktivitása azonban véglegesen megszűnt.

Mindezek alapján a STZ alkalmas arra, hogy kis térfogatú mikroinjekció segítségével egy adott agyterületbe adva, ott szelektíven elpusztítsa a glukóz-monitorozó idegsejteket.

4. Nucleus accumbens (NAcc)

4.1. Anatómiai kapcsolatok, neurokémiai jellemzők

A NAcc lokalizációját tekintve bazális előagyi struktúra, a striatopallidális rendszer integráló magja. Neuroanatómiai szempontból három fő részre osztható: az ún. shell vagy “héj”, a core vagy “mag”, és az ezektől elkülöníthető, ún rostrális (elülső) régióra [102,134].

A NAcc különböző sejtípusokat tartalmaz. A neuronok 90%-át a közepes nagyságú, tövises, GABA-erg idegsejtek teszik ki [135]. A maradék 10%-ot képező tövis nélküli neuronok csoportja tovább osztható a nagy méretű kolinergiás, illetve a közepes méretű GABA és szomatosztatin tartalmú interneuronokra [136].

A NAcc sejtjei receptor denzitásuk és neurotranszmitter tartalmuk alapján ún. strioszómákba és mátrixállományba csoportosulnak [137-142]. Számos kísérlet során igazolódott, hogy a struktúra efferenciáját közepes nagyságú tövises idegsejtek képezik

[143,144], melyek jellemző modulátoroknak (enkefalin, P anyag, dynorphin és neurotensin) megfelelően négy fő, eltérő projekciós rendszert alkotnak [140].

A NAcc shell régiójából afferensek indulnak a ventrális pallidumba, a nucleus preopticus lateralis-ba, a LHA-ba, a VTA-ba, valamint a substantia grisea periaqueductalis centralis-ba, az agytörzsi magokba és a nyaki gerincvelőbe [102-104,145], s a felsorolt területekről efferensek is érkeznek vissza ide. A NAcc és a LHA közti kapcsolat fontosságát többek között az adja, hogy lehetővé teszi a neuroendokrin működések és az ingerztív magatartás megfelelő, integratív szabályozását.

A NAcc core részéből induló rostok főként a ventrális pallidum dorzolaterális részébe, a nucleus entopeduncularis, a SN és a nucleus subthalamicus mediális területébe projiciálnak [102]. Fontos eltérés, hogy a LHA szegényebb beidegzést kap a core régióból, mint a shell-ből [145].

A harmadik (többek által vitatott) szubrégióból, a rostrális részből induló rostok célállomásai lényegében megegyeznek a “héj” és a “mag” területek afferenseinek végződéseivel [102,145].

A NAcc glutamát, noradrenalin, dopamin, szerotonin, opiát és hisztamin beidegzéssel rendelkezik. A legfontosabb excitátoros (glutamát) efferenseit a nucleus mediodorsalis thalami (MD), a prefrontális cortex, a bazolaterális amygdala és a hippocampus területéről kapja [146,147]. DA-ergias rostok igen bőségesen a VTA területéről érkeznek ide [148,149]. A NAcc a locus coeruleus felől noradrenergias [43], a nucleus raphe területéről szerotoningias [150], a nucleus tuberomamillaris-ból pedig hisztamingias beidegzést kap [151].

A NAcc az előagyi limbikus kör fontos eleme. A limbikus struktúrák közti kapcsolatok fenntartásában alapvető szerepet játszanak a dopamingias pályák.

4.2. Az előagy limbikus kör dopaminergias elemei

DA tartalmú idegsejteket először 1960-as években mutatott ki a központi idegrendszerből Dahlström, Fuxe és Carlsson [152,153]. Ezt követően széles körű kutatás derített fényt a dopaminergias neuronok és kapcsolataik anatómiájára [33]. A DA neuronok több szempont szerint számos csoportba sorolhatók. A mesencephalon tegmentális területén nagy számban fordulnak elő, elsősorban a SN-ban, és a VTA-ban. A supralemniscalis régióban is kimutattak DA tartalmú neuronokat, valamint a retinában, a bulbus olfactorius-ban, a diencephalon területéhez tartozó zona incertában, a tractus mamillothalamicus körül és a hypothalamus rostrális területén. Ezen kívül további dopaminergias sejteket lokalizáltak a substantia grisea periaqueductalis, a nucleus dorsalis nervi vagi, a LC, az area postrema és a nucleus raphe dorzális területén [39,154].

A mesencephalon DA-ergias sejtjeiből gazdag aszcendáló és deszcendáló rostokat tartalmazó projekciós rendszer indul ki: a SN-ból kiinduló felszálló nigrostriatális és a VTA-ból, illetve a SN-tól laterálisan és dorzálisan elhelyezkedő neuronokból eredő DA pályák [26,33]. A felszálló kötegek a hypothalamus magasságában, az amygdala, a hippocampus, a striatum és a cortex felé radiációkra oszlanak. A beidegzett területek alapján e rostkötegeket két nagy csoportba osztjuk: a mezostriatális mezolimbikus (MLDR) és a mezokortikális /mezokortikolimbikus/ (MCLDR) pályákra [38,39,155].

A MLDR főbb projekciós területei a NAcc, az amygdala centrális és bazális magja, a hippocampus, gyrus dentatus, nucleus interstitialis stria terminalis és a habenula laterális része [38,39,155].

A MCLDR archikortikális, valamint neokortikális területek felé projiciál, de a legfontosabb innervációs területe a limbikus rendszer kérgi reprezentációja, a PFC [156].

4.3. A NAcc specifikus neurotranszmitter mechanizmusai a táplálkozás központi szabályozásában

A NAcc éhség motiválta magatartás regulációjában játszott sokrétű szerepének háttérében számos neurotranszmitter (DA, NA, Ach, glutamát, ópiátok, hisztamin) mediálta mechanizmust feltételeznek [96,97].

Irodalmi adatok szerint a táplálékfelvétel szabályozásában a NAcc két szubdivíziója eltérő szerepet tölt be. A shell régió gátlása vagy roncsolása erőteljes táplálékfelvételt és testsúlynövekedést indukál [96,157], ugyanakkor a core régió léziója a táplálékfelvételi motiváció, valamint ennek következményeként a testsúly csökkenését eredményezi [96,158]. Az íz-asszociált motivációs és tanulási folyamatokban mindkét terület érintettségére ugyancsak rámutattak már [97].

Kísérletesen bizonyították, hogy táplálékfelvétel során az extracelluláris DA szint megemelkedik a NAcc területén. A feltételezések szerint ez a megnövekedett DA aktivitás jutalmazó értékű [40,41].

Vizsgálatok tanúsága szerint a NAcc Ach szintjének változása szintén szereppel bír az éhség motiválta magatartás szabályozásában. Kondicionált íz-averziós kísérletek során bizonyították, hogy a feltétlen és a feltételes inger is Ach szint emelkedéshez vezet, mialatt a struktúra DA szintje csökken. Valószínű, hogy a NAcc területén az Ach a táplálkozási magatartás gátlásában játszik szerepet [98].

A szakirodalomban jelenleg uralkodó nézet szerint a NAcc DA szintjének emelkedése a megerősítés jele [40,41,159,160]. E folyamatok igen bonyolult neurokémiai szabályozás alatt állnak, hiszen a DA felszabadulását számos neurotranszmitter és neuropeptid befolyásolja. A noradrenergiás rendszer dorzális kötege például receptorfüggő módon serkenti (β -receptor) illetve gátolni (α -receptor) is képes a DA szintjét [43]. A NAcc-ben hisztamin 1-es típusú

receptoriális hatások pedig ugyancsak bizonyítottan megváltoztatják a DA transzmissziót [161].

Mindezen szerteágazó ismeretek eddigieknél egységesebb keretbe foglalása igen nagy kihívást jelentett számunkra. A jelen disszertáció alapjául szolgáló kísérletek tervezése során a NAcc táplálkozás központi szabályozásában betöltött szerepét meghatározó neuronális működési jellemzők további feltárását tűztük ki célul.

III. Kísérletes vizsgálatok

1. Bevezető

A homeosztázis, a szervezet belső egyensúlyának - állandóan változó környezeti feltételek közötti - egyenletes és biztonságos fenntartása nélkülözhetetlen az élőlények életben maradása szempontjából. E dinamikus egyensúlyi állapot megőrzésében számos, egymással összefüggő működés szerepel, melyek közül - népegészségügyi vonatkozásai miatt is - kiemelkedik a szervezet megfelelő energiaforgalmát biztosító, táplálékfelvételt szabályozó mechanizmusok jelentősége.

A ventrális striatum részeként számontartott NAcc az előagyi limbikus rendszer kulcsfontosságú alkotóeleme [162]. Bizonyított, hogy a NAcc anatómiai szempontból heterogén agyi struktúra: legalább két, funkció tekintetében is eltérő szubdivízióra osztható, a főként rostrális-medioventrális elhelyezkedésű shell-re és a kaudális-dorzolaterális core-ra [163]. Jól ismert, hogy a NAcc különböző regulációs folyamatokban, többek között a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában is fontos szerepet játszik [96,99,100]. Ezen összetett feladatok ellátását, valamint a limbikus és a motoros rendszer közötti összekötő kapocs szerepének betöltését [164] különösen elősegíti, hogy a NAcc szoros kölcsönkapcsolatban áll

limbikus és extrapiramidális struktúrákkal, úgymint a hypothalamus-szal, amygdala-val, globus pallidus-szal, valamint a prefrontális-orbitofrontális kéreggel [102-104]. Ezen agyterületekről beigazolódott, hogy fontos szerepet játszanak a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozásában [1,165], s ismert továbbá az is, hogy a fenti struktúrák mindegyikében GM neuronok találhatók [1,68,73,75,76].

Ezek a speciális, kemoszenzoros idegsejtek a táplálék és folyadékbevitel szabályozásában mélyen érintettek, sokrétű, a homeosztázis szempontjából releváns információ integrálását végzik (endogén és exogén kémiai ingerekét, szenzoros-motoros, percepció-s-motivációs mechanizmusokét, megerősítési, tanulási és memória folyamatokét) [67,68,91]. A vér glukóz koncentrációjának emelkedésére vagy lokálisan, mikroelektroforetikusan adott glukóz hatására serkentődő, glukóz-receptor, illetve gátlódó, glukóz-szenzitív sejtek a neuraxison végigfutó, komplex hálózatot alkotnak [1,72,76,77].

A fentiek alapján joggal vetődik fel annak lehetősége, hogy a NAcc területén is vannak eme szabályozási folyamatok szempontjából releváns, endogén és exogén kémiai érzékenységgű GM idegsejtek, azaz, valószínűsíthető, hogy a NAcc az előagyi glukóz monitorozó neuronhálózat nélkülözhetetlen részeként tölti be sokrétű, integratív szerepét. Ezen feltételezés bizonyítására wolframszálas multibarrel üveg mikroelektrodával a NAcc extracelluláris egysejttevékenységét vezettük el mikroelektroforetikus glukóz adások során laboratóriumi patkányban és rhesus majomban. A feltételezett GM neuronok homeosztatiszikus funkcióinak megvilágítására metabolikus és magatartási patkány-kísérleteket végeztünk.

2. Kérdésfelvetés

Az értekezés témaköréhez illeszkedő kutatásaink két fő irányban haladtak. Egyrészt wolframszálas multibarrel üveg mikroelektrodával extracelluláris egysejttevéteztéseket

végeztünk, melyek során a nucleus accumbens idegsejtjeinek glukóz érzékenységét tanulmányoztuk felnőtt, altatott Wistar patkányokban és éber rhesus majomban. Vizsgáltuk ezen neuronok különböző neurotranszmitterekkel és neuromodulátorokkal szemben mutatott ún. endogén, valamint ízekkel szemben tanúsított, ún. exogén kémiai érzékenységét is.

Kísérletsorozataink másik része patkány nucleus accumbens glukóz-monitorozó idegsejtjei magatartási és anyagcsere folyamatokra gyakorolt hatásainak tisztázására irányult. Ezen kemoszenzitív neuronok homeosztatis jelentőségét szelektív elpusztításuk következményeinek feltárásával kívántuk igazolni. E célból az irodalmi adatok, valamint saját előkísérleti eredményeink alapján alkalmasnak mutatkozó STZ-t injektáltunk laboratóriumi patkányok nucleus accumbensébe, majd vizsgáltuk e mikroinjekció vércukorszintre (ún. glukóz tolerancia teszt /GTT/ során), valamint plazma össz-koleszterin, HDL, LDL, triglicerid és húgysav szintekre gyakorolt hatását. A nucleus accumbensbe juttatott STZ táplálék- és folyadékfelvétellel összefüggő magatartási hatását kondicionált íz-averziós, továbbá íz-reaktivitási paradigmában tanulmányoztuk.

Jelen kutatásainkban az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

I. Rágcsálókban ill. főemlősben végzett elektrofiziológiai kísérletekben, a multibarrel mikroelektroforetikus technika segítségével vizsgáltuk, hogy:

1. A nucleus accumbens idegsejtjei D-glukóz mikroelektroozmotikus adására megváltoztatják-e működésüket, azaz, azt kívántuk eldönteni, azonosíthatók-e GM neuronok ezen limbikus előagyi struktúrában?

2. A glukózra válaszkészséget mutató idegsejtek működését befolyásolják-e különböző, a nucleus accumbensben többségükben természetes körülmények között is széles

körben jelenlévő neurotranszmitterek és neuromodulátorok (DA, GABA, Ach, DA-antagonisták), illetve a korábbi vizsgálatokban a GM neuronokra toxikusnak bizonyult STZ?

3. A táplálék- és folyadékfelvételben alapvető jelentőségű íz-ingerek megváltoztatják-e a nucleus accumbens kemoszenzitív (GM) neuronjainak aktivitását?

II.a. Laboratóriumi patkányokkal folytatott magatartási-biokémiai kísérletekben, a nucleus accumbensbe adott STZ mikroinjekció metabolikus hatásainak megállapítására irányuló vizsgálatokban kívántuk feltárni, hogy:

1. A GM idegsejtek szelektív elpusztítása befolyásolja-e a szénhidrát-anyagcserét, okoz-e változást az állatok glukóz-toleranciájában?

2. A kemoszenzitív neuronok specifikus léziója gyakorol-e hatást a homeosztázis humorális egyensúlya szempontjából releváns metabolitok (össz-koleszterin, HDL, LDL, trigliceridek, húgysav) plazmaszintjeire?

II.b. Ugyancsak magatartási kísérletekben, a nucleus accumbensbe adott STZ mikroinjekció íz-érzékelési működésekre kifejtett hatásait feltárandó, vizsgáltuk, hogy a GM neuronok szelektív pusztulása nyomán:

1. Módosul-e az állatok íz-információkat hasznosító averzív tanulási képessége?

2. Íz-reaktivitási tesztekben tapasztalható-e eltérés a patkányok íz-percepciójában?

3. Módszerek

3.1. Alanyok

Kísérleteink során összesen 136 felnőtt, mindkét nembeli Wistar patkányt használtunk, melyek átlagos testtömege a vizsgálatok kezdetén 293 ± 36 g volt. Az elektrofiziológiai kísérletsorozatban egy hím rhesus majommal (*Macaca mulatta*) is dolgoztunk. Mind a rágsálókat, mind a főemlőst külön, egyedi ketrecekben tartottuk. Táplálékot és folyadékot (csapvizet) korlátozás nélkül vehettek magukhoz. A patkányszobában a természetes fényfel közel egyező hullámhossz tartományú mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, 12-12 órás sötét-világos (éjszaka-nappal) periódusokkal. A majomszobában a természetes megvilágítást a 12 órás nappali periódus során a természetes fényhez közeli hullámhossz spektrumú fényforrással egészítettük ki. A szobák hőmérsékletét (23-25 °C) és páratartalmát (55-65%) állandó tartományban biztosítottuk. Az állatokat a nemzetközi (European Community Council Directive 86/609/EEC; Strasbourg, 1998, 2006; NIH Guidelines, 1997) és a hazai törvényi rendelkezéseknek (XXVIII. trv., 1998) megfelelő körülmények között tartottuk, a kísérleteket a MÁB engedélyével végeztük.

3.2. Elektrofiziológiai vizsgálatok

3.2.1. Műtét

A patkányokat ketamin (Calypsol, Richter Gedeon Rt., Magyarország: 0.2 ml/100 tsg) vagy uretán (Sigma, Magyarország: 0.5 ml/100 tsg, 25% friss oldat) anesztéziában operáltuk meg. Fejüket sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd a koponyafelszínről a bőrt, izmot és a kötőszövetet eltávolítottuk. Hidrogén-peroxidot és adrenalin oldatot használtunk lokálisan

fertőtlenítés és vérzéscsillapítás céljára. Speciális mikromanipulátor (MN-33, Narishige, Japán) segítségével megjelöltük a csontfúrás pontos helyét, majd operációs mikroszkóp alatt fogászati fúró segítségével 3-5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk és a dura felszínét megtisztítottuk. Ezt követően a mikromanipulátor segítségével pozicionáltuk az elektródát, amelyet hidraulikus mikrotovábbító rendszerrel (MO-10, Narishige, Japán) juttattunk a vizsgálni kívánt agyterületre. Az elvezetések sztereotaxiás koordinátái az alábbiak voltak: antero-posterior (AP), Bregma (B) + 3.2-3.7 mm; medio-laterális (ML), 1.2-1.6 mm; ventrális (V, az agyfelszíntől), 5.6-7.6 mm [166].

Mivel rendszerünk az elvezetés során az EKG és a légzés egyidejű regisztrálását is lehetővé teszi, ezért az elvezetés megkezdése előtt az ehhez szükséges végtagi elektródákat is felhelyeztük az állatokra.

A majomban történő egysejttevékenység elvezetése alatt az éber állat egy speciális, ún. majomszékben ült. A kísérleti környezethez történő szoktatási periódust követően aseptikus műtétet végeztünk ketaminnal (Calypsol, Richter Gedeon Rt., Magyarország) bevezetett (dózis: 80 mg/tskg, 2 ml/tskg térfogatban) nátrium-pentobarbitál (Nembutal, 40 mg/tskg) altatásban. Sztereotaxiás technikával egy U-alakú plexiüveg-lapot rögzítettünk fogászati akriláttal a majom koponyájához, ezt követően az akrilát fejrész ("korona") mentén zártuk a sebszéleket. A fertőzések kivédése érdekében lokális és szisztémás antibiotikum profilaxist és utókezelést alkalmaztunk. Az operáció után kéthetes felépülési periódus következett, majd felületes ketamin anesztéziában az akrilát koronába vezetett befogó tüskék segítségével sztereotaxiásan rögzítettük az állat fejét, hogy a mikroelektródák későbbi levezetésének helyén lyukat fúrassunk a koponyáján. Az elektróda levezetését a patkányoknál leírt módon, de a majom esetében éber állapotban, lidocain profilaxisban végeztük. A sztereotaxiás koordináták meghatározásához a korábbi szubkortikális elvezetések [68,75] során alkalmazott majom agyatlaszt [167], valamint az agykoponya specifikus viszonyítási pontjait (szfenoid, vertex)

használtuk, melyeket a műtét előtt készült CT és MRI felvételeken ellenőriztünk és kalibráltunk. A sztereotaxiás koordináták a következők voltak: AP, 19.75-25.35 mm; ML, 1.35-3.8 mm; V: 27.2-30.2 mm. A kísérletek végén a majom fejről készült kétirányú RTG felvételen visszamértük az elektródák tényleges lokalizációját.

3.2.2. Elektróda

Az extracelluláris egysejttevékenység felvételére a munkacsoportunk által kifejlesztett és előállított wolfram-szál as multibarrel üveg mikroelektródát használtuk, melynek fényképe és hegyének sémás ábrája két nézetből látható a Függelék 1. ábráján. A kék színű ún. központi csőből a 10 μm átmérőjű wolframszál 5-20 μm -nyi hosszúságban nyúlik ki. A központi cső körül helyezkednek el a sárgával jelölt kis üvegapillárisok (8-10 db), mely környéki csövecskék hegyátmérője 0.1-0.3 μm . Ezen kis üvegapillárisok tartalmazzák a mikroelektroforézissel a neuronokhoz juttatandó anyagokat. Egyikük minden esetben fiz. NaCl oldatot tartalmaz, ún. "balance" csatornaként funkcionál. A kísérletek során impedanciamérővel mindvégig kontrollálhattuk a mikroelektróda elvezető, központi csöve hegyének impedanciáját, mely optimálisan 1-8 $\text{M}\Omega$ közötti volt.

3.2.3. Adatgyűjtés, jelfeldolgozás

Vizsgálatainkban a jelfeldolgozás igen bonyolult, többkomponensű elvezetési rendszerbe ágyazottan történik. Az elektródával extracellulárisan felvett akciós potenciálok először előerősítőn keresztül egy ún. főerősítőbe kerülnek, majd szűrést követően jutnak a komparátorba, melyből két párhuzamos úton haladnak tovább. Egyrészt egy ún. A/D konverterbe (CED1401+, Spike2 szoftvercsomag, Anglia) vezet az útjuk. E mikroprocesszor

vezérelt berendezés az analóg jelek digitalizálásával számítógép számára értelmezhetővé teszi azokat. Az adatvételezés, továbbá a jelek valós idejű és utólagos feldolgozása számítógépen történik. A másik - párhuzamos - úton, a beállított paramétereknek megfelelően, ablak-diszkriminátor segítségével az akciós potenciálnak minősülő jelek impulzusokká való átalakítása folyik. Az impulzusok frekvencia-hisztogram formájában egy másik PC monitorán is megjelennek. Az elvezetés alatt mind az akciós potenciálok, mind az impulzusok oszcilloszkópokon (HAMEG HM-2035 és -2037, Németország) is láthatók. A mintavételezés befejeztével merev lemezen ill. CD-n archiváljuk az adatokat. Az egysejttevékenységen túl rendszerünk módot nyújt az EKG és a légzés egyidejű monitorozására és rögzítésére is (ld. a Függelék 2. ábráját).

Az elvezetések során csak a spontán tüzelő, jól izolált idegsejtek aktivitását rögzítettük. Azon neuronokat, melyek nem specifikus áramhatásra (Na^+ vagy Cl^- iontoforézis) is megváltoztatták a működésüket, kizártuk az elemzésből. Bár az elektródák hegyének pontos pozicionálásához sztereotaxiás készüléket használtunk, az elvezetések végeztével szövettani vizsgálattal győződünk meg arról, hogy a célterületek elhelyezkedése megfelel-e a koordináták által meghatározottnak. Ahhoz, hogy a szövettani analízis során az elvezetési területek jól azonosíthatóak legyenek, a kísérleti ülések végeztével, ún. elgiloy mikroelektróda segítségével, az alkalmazott koordinátáknak megfelelően mikroléziókat ejtettünk.

3.2.4. Mikroiontoforézis

Az ionok (töltéssel bíró részecskék) jellemzője, hogy elektromos potenciál grádiens hatására töltésüknek és e grádiensnek megfelelően elmozdulnak. A mikroiontoforetikus technika ezen fizikai törvényszerűségeen alapul. A kísérletek során az iontoforézishes szükséges potenciál grádiens az agyi (extracelluláris) víztér és a multibarrel mikroelektróda környéki

csövecskéit kitöltő, és az ejekciós áram hatása alá kerülő oldatok között jön létre. E potenciál grádiens hatására ionáramlás indul meg a mikroelektrodából az agyállományba [168-171]. Az iontoforézis során az adott anyag fizikokémiai tulajdonságainak megfelelően a mikroelektrodából történő felszabadulást alapvetően 4 tényező határozza meg: az ejekciós áram nagysága, a diffúzió, a hidrosztatikus nyomásgrádiens és végül az elektrooszmózis. Emellett természetesen nagy fontosságú a mikroelektroda hegyének geometriája, valamint az elektróda üvegének számos egyéb fizikokémiai jellemzője is.

3.2.5. Neurokémiai vizsgálatok

Elvezetéseink során a wolfram-szálas multibarrel üveg mikroelektroda környéki csövecskéi a következő oldatokat tartalmazták: 0.5 M D-glukóz (0.15 M NaCl-ban oldva), 0.5 M dopamin HCl (DA; 1 %-os aszkorbinsav oldatban, pH=6), 0.01 M SCH-23390 (D1-receptor antagonist), 0.01 M szulpirid (SULP; D2-receptor blokkoló), 0.5 M acetilkolin HCl (Ach; pH=5.5), 0.5 M γ -amino-vajsav (GABA; pH=7), 0.0037 M STZ (pH 6.5-6.8), 0.15 M NaCl (balansz csatorna), valamint 0.5 M monoszódium L-glutamát (pH=7-8). A glutamátot az elektróda hegy és a vizsgált sejt közötti távolság megítélése céljából (is) használtuk.

Többcsatornás áramgenerátorral (NeuroPhore B-2, USA) konstans, az adott anyagtól függő polaritású egyenáramot (10-95 nA) alkalmazva az elvezetés során az elektróda környéki csöveiben lévő vegyületeket az idegsejtekhez juttattuk. Az ún. "balansz-csatorna" mindenkor automatikusan biztosította a nem-kívánatos áramfolyások elkerülését.

3.2.6. Íz-ingerlés

Íz-ingerlések során a Függelék 3. ábráján feltüntetett módon az öt alapíz (édes, sós, savanyú, keserű és az ún. “umami”), valamint narancslé kétféle koncentrációjú oldatát fecskendeztük be mikroinfúziós pumpa (Gép és Gépelem Kft., Magyarország) segítségével 1.2-1.5 ml térfogatban 4-7 másodperc alatt az altatott patkány szájához vezetett műanyag kanül segítségével. Minden íz-adást követően a rendszert vízzel mostuk át, majd levegő átfúvásával tisztítottuk meg az előzőleg alkalmazott oldattól. Ezután került sor ugyanazon íz másik koncentrációjának vagy másik íz oldatának az adására. Az íz-ingerlő rendszer a folyadékok szájüregből történő spontán eltávozását ugyan lehetővé tette, azonban időről-időre a hátsó garatkapuhoz vezetett szilikoncső segítségével leszívást is alkalmaztunk.

3.3. Metabolikus és magatartási vizsgálatok

3.3.1. Műtét

Az egyedi ketrecekben szoktatott patkányokon mintegy 7-10 napos adaptációt követően végeztük el a műtétet, melynek során a későbbi mikroinjekciók céljára szolgáló agyi vezetőkánulákat ültettük be. Az operációkat ketamin (Calypsol /50 mg/ml/, Richter Gedeon Rt., Magyarország; 0.2 ml/100 tsg) anesztéziában végeztük.

Az állatok fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd a koponyafelszínről a bőrt, izmot és a kötőszövetet eltávolítottuk. Hidrogén-peroxidot és adrenalin oldatot használtunk lokálisan fertőtlenítés és vérzéscsillapítás céljára. Speciális mikromanipulátor (MN-33, Narishige, Japán) segítségével, patkány agyatlaszban [166] azonosított koordinátáknak megfelelően kijelöltük a csontfúrás pontos helyét (AP, Bregma + 3.6 mm), majd operációs

mikroszkóp alatt fogászati fúró segítségével 4-5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk, s a dura felszínét megtisztítottuk.

Ezt követően a mikromanipulátor felhasználásával 23 G-s rozsdamentes acél injekciós tűből általunk elkészített vezetőkánül-párost helyeztünk el bilaterálisan a dura felszínén a NAcc sztereotaxiás koordinátáinak megfelelően (AP, B + 3.6 mm; ML, 1.3 mm), majd a kanüloket fogászati akriláttal a koponyacsontozhoz rögzítettük. A műtétek végén profilaxis céljából antiszeptikus hintóporral (Tetran, Richter Gedeon Rt.) kezeltük a sebet a kapsokkal történő zárás előtt és után is.

Íz-kanül beültetés

Az íz-reaktivitási vizsgálatok elvégzéséhez az agyi kanülok beültetésén túl szükség volt polietilén (PE) csőből (HIBIKI, Japán; külső átmérő 1.4 mm) készített, s az intraorális íz-ingerlések céljára szolgáló, ún. íz-kanülok beültetésére is. Az állatok műtéti megterhelésének csökkentése céljából az intraorális íz-kanülok és az agyi kanülok beültetése egyszeri altatással, egy ülésben történt. A PE csövet buccális behatolásból, az állatok pofabőre alatt vezettük ki a fejtetőre. A kanül előzetesen láng felett kissé kiszélesített szájüregi vége a felső molárisok mellett végződött, míg a másik vége a fejtetőn, a behatolási oldalnak megfelelő fültől körülbelül 1 cm távolságban. Az íz-kanült öltéssel és fogászati akriláttal rögzítettük a skalphoz. Ehhez a kanülvéghez csatlakoztattuk az íz-reaktivitási tesztek során a különböző íz-oldatokat tartalmazó fecskendők összekötő polietilén csövecskéit.

3.3.2. Nucleus accumbens mikroinjekciók

Az operációt követő 8. napon, éber, kézben tartott, a protokollhoz szoktatott állatokban került sor a nucleus accumbens mikroinjekciókra. A beadókanül 0.3 mm külső átmérőjű

rozsdamentes acélcsőből készült, melyet a műtétek során beültetett vezetőkanülökön keresztül vezettünk le a NAcc-be (AP, B + 3.6 mm; ML 1.3 mm; V 5.75 mm). Az anyagbeadás technikai elrendezését a Függelék 4. ábráján demonstráljuk. A beadókanült egy 12-15 cm hosszúságú polietilén csővel csatlakoztattuk az ún. Hamilton-mikrofecskendőhöz.

A Hamilton-fecskendőket az egyik állatcsoport esetében (n=31) előzetesen ultrafilteren (Minisart-plus, Sartorius AG, Németország) átszűrt STZ oldattal töltöttük meg (1 µl/oldal, 0.0037 M pH 6.5-6.8). A másik patkánycsoport (n=30) kontrollként szolgált, ezekben az állatokban azonos térfogatú fiziológiás só-oldat (0.15 M NaCl) agyi mikroinjekciójára került sor. A fecskendőket mikroinfúziós pumpa (Model 101, Stoelting Co., USA) segítségével működtettük. A bilaterálisan beadásra szánt 1-1 µl oldatot 60 másodperc alatt juttattuk a vizsgált agyterületre. A mikroinjekciók befejezése után a beadókanüloket további 60 másodpercig a helyükön hagytuk, hogy elősegítsük az oldat csőből való egyenletes és teljes diffúzióját, valamint hogy megakadályozzuk a kanüloek eltávolításakor fellépő szívóerő miatti oldat visszaáramlást.

3.3.3. Metabolikus vizsgálatok

Metabolikus kísérleteink során a Nacc-be juttatott STZ mikroinjekciónak a szénhidrát, zsír és fehérje anyagcserére gyakorolt hatását vizsgáltuk.

3.3.3.1. Vércukorszint mérés, glukóz tolerancia teszt

A nemzetközi standardoknak megfelelően intraperitoneálisan beadott D-glukóz oldattal (0.75 g/100 tsg/ml) végzett glukóz tolerancia teszt (GTT) során a vércukorszint változásokat az agyi mikroinjekciót követő akut illetve szubakut (4 héttel az anyagbeadás után) időszakokban

mértük. A GTT elvégzésére 12 órás táplálék megvonás után került sor. Az akut GTT alkalmával a glukózterhelés a NAcc-be juttatott mikroinjekciót követő 15-20 perc között történt, míg a későbbi vizsgálatot az anyagbeadást követő 4. héten végeztük. Az állatok farokvénájából vettük a vérmintákat, melyek glukóz koncentrációját szemiautomatikus kézi glukométerrel (Glucotrend, Boehringer-Mannheim, Németország), enzimatikus-fotometriás módszerrel határoztuk meg. A méréseket a glukózterhelést megelőzően (0. perc, ún. éhomi vércukor), illetve a glukózterhelést követően a 9., 18., 30., 60. és 120. percben végeztük el.

3.3.3.2. Metabolitok plazmaszintjének mérése

A szervezet metabolikus állapotáról információt nyújtó plazma összetevők (összkoleszterin, HDL, LDL, trigliceridek, húgysav) plazmaszintjének meghatározása vérplazmából történt hidegkémiás fotométer segítségével (Spotchem EZ SP4430, Arkray, Japán). A metabolit-mérésekhez szükséges vérmintákat az állatok dekapitálását követő elvéreztetés során gyűjtöttük, az STZ ill. a vehikulum mikroinjekció utáni 30. percben. Ezen vizsgálatokra szintén az állatok 12 órás táplálék megvonása után került sor.

3.3.4. Magatartási vizsgálatok

Az intracerebrális STZ kezelések íz-percepciók működésekre, ill. az íz-információkat felhasználó tanulási képességre gyakorolt hatását kétféle paradigmában tanulmányoztuk.

3.3.4.1. Kondicionált íz-averzió vizsgálata

A kondicionált íz-averzió (KÍA) akkor alakul ki, ha egy jellegzetes ízű folyadék vagy szilárd táplálék elfogyasztását követően gasztrointesztinális diszkomfortérzés jön létre (nausea,

intesztinális spazmus, diarrhoea, stb.). A KÍA a klasszikus kondicionálás jó példája lehetne a kialakulás mechanizmusát tekintve, azonban jelentős eltéréseket is mutat attól. Jelen esetben az íz a feltételes inger, mely párosul a feltétlen ingerrel, a betegséggel. A klasszikus kondicionálással ellentétben a KÍA kialakulásához egyszeri társítás is elegendő, igen gyorsan, már az első társítást követően létrejön, még akkor is, ha a feltételes és feltétlen inger között órák telnek el.

Az agyi beavatkozásokat megelőzően az állatoknak megtanítottuk, hogy a napi folyadékszükségletük bevitelére de. 10 és fél 11 között fél óra áll a rendelkezésükre. A betanítás ideje alatt a patkányok több alkalommal szacharin oldatot (0.1 %) kaptak, hogy hozzászokjanak a későbbiekben feltételes ingerként alkalmazott ízhez. A kísérlet napján a fél órás ivási periódusban az állatok a számukra már nem ismeretlen szacharin oldatot kapták, majd a gasztrointesztinális diszkomfort érzés kiváltása céljából LiCl-oldatot (0.15 M, 20 ml/tskg) fecskendeztünk be intraperitoneálisan mind a STZ-nal kezelt, mind a kontroll csoport egyedeinek. A következő napon víz *ad lib* állt a patkányok rendelkezésére, majd két napig újra fél-fél órájuk volt a szükséges folyadékmennyiség bevitelére. Ezt követően, az ún. "teszt"-napon, újból szacharin oldatot kaptak fél óráig. Az értékelés során a LiCl adást közvetlenül megelőző és a teszt-napi szacharin fogyasztási adatok csoportok közötti összehasonlítását végeztük el.

3.3.4.2. Íz-reaktivitás vizsgálata

Minden állat számára léteznek kellemes és kellemetlen ízek. A különféle szilárd és folyékony táplálékok íz-összetevői az egyed számára kellemes illetve kellemetlen voltak függvényében karakterisztikus, mimikai, poszturális, és lokomotoros mozgásmintákat válthatnak ki. Hedonikus jellemzőik alapján az igen sokrétű "íz-világot" reprezentáló 5 alapíz

oldatai két csoportra oszthatók: a) kellemes ízek; szukróz – édes, NaCl – sós, és umami (MSG=mono-sodium-glutamát) – a keleti gasztronómiában ízesítésre használt anyag (az ötödik alapíz); b) kellemetlen ízek; HCl – savanyú, QHCl (quinin-hidrochlorid) – keserű. Az irodalomban elfogadott hedonikus klasszifikációnak megfelelően a NaCl és a MSG magasabb koncentrációjú oldata “kellemetlen” íz-ingerként szolgált [172,173].

A különböző ízekre adott magatartási mintázatok fajspecifikusak, egy faj egyedei ugyanazokkal a mozgásformákkal válaszolnak ugyanarra az ingerre, de különböző fajok között is találunk hasonló reakciókat. *Ingesztív* –elfogadó-, és *averzív* – visszautasító – válaszokat különböztetünk meg (ld. Függelék 5. ábra). Ingesztív komponensek: mancsnyalás, ritmikus szájmozgás, szabályos középvonali, valamint oldalsó nyelvöltés. Averzív komponensek: szájtátás, álldörzsölés, fejrázás, arcmosás, mancsrázás, és komplex lokomotoros mozgássor.

Az íz-reaktivitási teszt során Grill és Norgren paradigmájának [174] adaptált, laboratóriumunkban módosított változatát alkalmaztuk. A tesztelés során az állatokat egy 30 cm átmérőjű és 30 cm magas üvegcilinderben helyeztük el. A henger alá 45 fokos szögben megdöntött tükörlapot raktunk, így lehetővé vált a viselkedő állatok szájkörüli régiójának pontos megfigyelése, nemcsak oldalról, hanem a szájmozgásuk jobb nyomon követhetősége érdekében alulról is. A laboratóriumi patkányok mozgását az utólagos, kockáról-kockára (40 msec/képkocka) történő elemzés céljából videószalagra rögzítettük (Panasonic VHS-C videokamera, NV-RX22EG, Panasonic videomagnetofon, NV-SD437EE, Japán).

A műtét során a szájüregbe ültetett s az állat koponyáján rögzített íz-kanül fejtetői végéhez egy 2.25 m hosszú, szorosan illeszkedő (külső átmérő 3 mm) polietilén csövet csatlakoztattunk, melyhez a megfelelő oldatot tartalmazó fecskendőket illesztettük.

Az íz-oldatokat Mantoux-fecskendőkbe töltöttük, melyeket állandó áramlási paramétereket biztosító pneumatikus rendszerű infúziós pumpába (Gép és Gépelem Kft., Magyarország) helyezve történtek a beadások. Íz-ingerlések során az 5 alapíz két-két

koncentrációját (szukróz 0.05 M, 0.5 M, NaCl 0.05 M, 0.5 M, MSG 0.05 M, 0.5 M, HCl 0.03 M, 0.3 M, QHCl 0.03 mM, 3.0 mM) fecskendeztük be 1.0 ml térfogatban (0.4 ml/perc áramlási sebességgel) az állatok szájüregébe. A kanüloket minden íz-ingerlést követően desztillált vízzel mostuk át, miközben arról is meggyőződünk, hogy az intraorális kanül átjárható-e. Az atmoszt követően levegő befúvásával távolítottuk el a rendszerből a desztillált víz maradékát.

A videófelvétel elemzésekor minden állat esetében rangsorskálát alakítottunk ki az ingerstív és averzív mimikai reakciók, mozgásmintázatok alapján. A magatartási reakciókat mind az ingerstív, mind az averzív mintázatok szempontjából 0-3 pontig terjedő arbitrális skálán értékeltük. Minél több összetevőből állt, illetve minél hosszabb ideig tartott egy adott reakciósor, annál magasabb pontszámot adtunk a patkány viselkedésére. Így mindegyik állat mindegyik íz-oldatra adott válaszának ingerstívitását, illetve averzivitását egy-egy számmal jelöltük. Az elemzést legalább 3, független és gyakorlott bíráló végezte úgy, hogy nem ismerték az állatok csoportbeosztását. A bírálók által adott értékeket az elemzés végén átlagoltuk. A teljes mintázathoz (100%) viszonyított eredményeket, az ízek kellemes vagy kellemetlen volta, illetve a reakciósor típusa – ingerstív vagy averzív - alapján összegeztük, átlagoltuk, és statisztikailag elemeztük.

3.4. Szövettan

A patkányokban végzett elektrofiziológiai vagy magatartási vizsgálatokat követően az elektróda hegyének, illetve a NAcc-be juttatott mikroinjekció pontos helyének meghatározására szövettani vizsgálatokat végeztünk. Az elektrofiziológiai kísérletek végén kis elektrolitikus mikroléziókat ejtettünk (15-25 μ A anód-áram, 10-20 másodperc) abból a célból, hogy a szövettani vizsgálat során könnyebben ellenőrizni tudjuk a célzásunk pontosságát. A mikroinjekciós kísérleteket követően a beadókanül nyomok azonosítását végeztük el. Mind az

elektrofiziológiai, mind a magatartási vizsgálatok esetében az állatokat elaltattuk, majd transzkardiálisan perfundáltuk őket (150-250 ml 0.15 M NaCl, azután 300-400 ml 10 %-os formalin oldat). Az agyakat 40 µm-es szeletekre metszettük, végül krezil-violával (Nyssl-festés) festettük. Abban az esetben, ha a mikroszkópos elemzés során a célzott területtől eltérő helyen tapasztaltunk mikroinjekciós illetve elvezetési pontot, vagy a beavatkozás területén kiterjedt szövetroncsolás volt látható, az adott állat eredményeit nem vettük figyelembe az adatfeldolgozás során.

3.5. Adatfeldolgozás, statisztika

Az elektrofiziológiai kísérleteink eredményeinek statisztikai értékeléséhez Student-féle t - és χ^2 -próbát alkalmaztunk. Az adatfeldolgozás során t -próbát végeztünk, illetve a nemzetközi irodalomban elfogadott szabályoknak megfelelően [60,67,175] az alábbi kritériumokat érvényesítettük egy sejtműködés változás hatásként való értékelésekor: 1) 30%-kal csökkenő vagy növekvő aktivitás, vagy az átlagos, spontán kisülési frekvenciától ± 2 SD-val való eltérés; 2) dóziszfüggőség, azaz emelkedő intenzitású injekciós áram hatására növekvő mértékű aktivitásváltozás; 3) a hatás az adott kísérlet során ismételhető volt. A neuroncsoportok válaszkészségének összehasonlítására χ^2 -próbát végeztünk.

A magatartási és metabolikus vizsgálati eredményeinket az átlag \pm SEM formájában tüntettük fel. Az elemzésekhez az SPSS programcsomagot használtuk. Adatainkat többszemponos varianciaanalízissel (ANOVA) és Student-féle t -próbával vizsgáltuk. Post hoc analízisként a Tukey-féle tesztet alkalmaztuk. A szignifikancia szintjét $p < 0.05$ -ban állapítottuk meg.

4. Eredmények

4.1. Elektrofiziológiai eredmények

Wolframszálas multibarrel üveg mikroelektróda segítségével összesen 158 neuron egysejttevékenységét vezettük el patkány (143) illetve rhesus majom (15) NAcc-ben. Az idegsejtek átlagos tüzelési frekvenciája patkányok esetében 6.4 ± 5.5 Hz, főemlősben 7.1 ± 5.9 Hz volt. Minthogy a neuronok elektrofiziológiai tulajdonságai alapvetően azonosnak mutatkoztak a két fajban, illetve az altatott és éber állapotok között sem volt jelentős különbség, a feldolgozás során összesített adatokkal dolgoztunk.

4.1.1. Glukóz-monitorozó idegsejtek a NAcc-ben

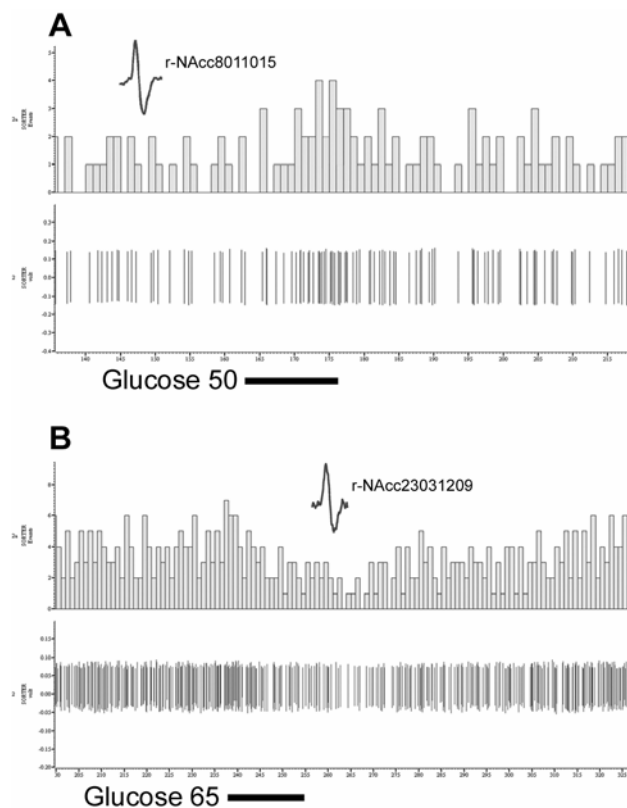
A NAcc-ben vizsgált 143 idegsejt 48%-a (69 neuron) a core, míg 52%-a (74 neuron) a shell régióban helyezkedett el. Glukóz mikroelektroforetikus adására patkányban összesen 117 idegsejt esetében került sor, közülük 58 (49.6%) a core, míg 59 (50.4%) a shell régióhoz tartozott (I. táblázat)

	NAcc shell	NAcc core	ÖSSZES
GR	3	14*	17
GS	8*	3	11
GIS	48	41	89
ÖSSZES	59	58	117

I. táblázat GR - glukóz-receptor neuron; GS - glukóz-szenzitív neuron; GIS - glukóz-inszenzitív neuron; * $p < 0.05$, χ^2 -teszt

A vizsgált idegsejtek közül minden negyedik megváltoztatta, fokozta vagy éppen csökkentette a tüzelési frekvenciáját a mikroelektroforetikusán a sejthez juttatott glukóz hatására. A shell régióban az 59 sejt közül 11 (19%), míg a core-ban az 58 neuron közül 17 (29%) mutatott válaszkészséget glukózra. A 11 shell régióbeli GM neuron közül 3 (27%) GR, míg 8 (73%) GS sejtnek bizonyult. A core szubdivízióban ezzel ellentétes tendencia volt megfigyelhető, 14 (82%) GR és 3 (18%) GS sejtet azonosítottunk. A két GM neuron típus működésváltozásának egy-egy példáját szemléltetjük az 1. ábrán.

Éber rhesus majomban 14 sejt esetében vizsgáltuk a mikroelektroforetikusán adott glukóz hatását. Összesen 4 neuron (29%) mutatott válaszkészséget, közülük 2-2 bizonyult GS, illetve GR típusúnak.



1. ábra Glukóz mikroelektroforézis hatására bekövetkező egységtevékenység változások patkány NAcc-ben. (A), core régió, GR neuron tüzelési frekvencia fokozódása, (B), shell régió, gátlódó GS sejt. „Spike” inzerterek – karakterisztikus extracelluláris akciós potenciálok. Vastag, vízszintes vonal – mikroelektroforézis időtartama; szám – injektált glukóz koncentráció nM-ben. Abszcissza – időskála másodpercben; ordináta – tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben illetve potenciál mV-ban.

4.1.2. DA érzékeny neuronok a NAcc-ben

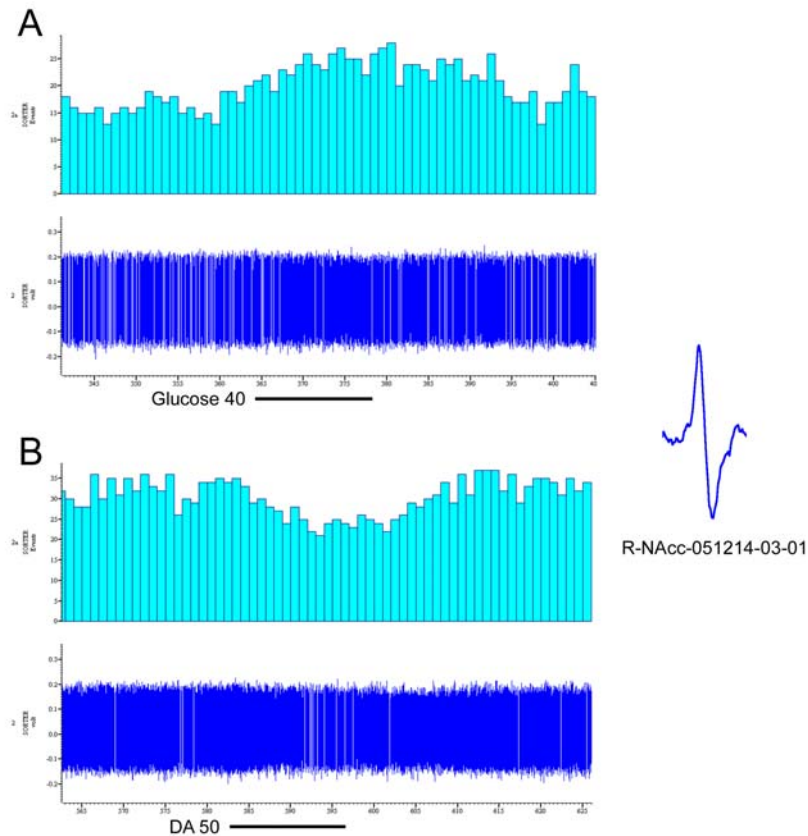
A NAcc neuronok glukóz érzékenységén túl tanulmányoztuk ezen idegsejtek neurotranszmitterek és neuromodulátorok mikroelektroforetikus adására bekövetkező működésváltozását is.

Összesen 94 accumbens neuron esetében vizsgáltuk meg a DA érzékenységet (II. táblázat).

	NAcc shell	NAcc core	ÖSSZES
DA ↑	3	15	18
DA ↓	23	13	36
DA ∅	27	13	40
ÖSSZES	53	41	94

II. táblázat DA↑ - DA hatására serkentődő neuron; DA↓ - DA hatására gátlódó neuron; DA∅ - DA-ra nem érzékeny neuron.

A vizsgált idegsejtek közül 54 (57%) változtatta meg tüzelési frekvenciáját a mikroelektroforetikus adott DA hatására. A shell régióban 26 (49%), a core-ban 28 (68%) neuron bizonyult DA érzékenynek. Érdekes módon az accumbens shell régiójában a katecholamin dominánsan (89%-ban) gátló hatású volt, ezzel szemben a core szubdivízióban a DA közel azonos arányban indukált serkentő, illetve gátló aktivitásváltozást (54%-ban gátló, 46%-ban serkentő). Egy DA érzékeny accumbens-beli GM idegsejt működésváltozásait demonstrálja a 2. ábra.

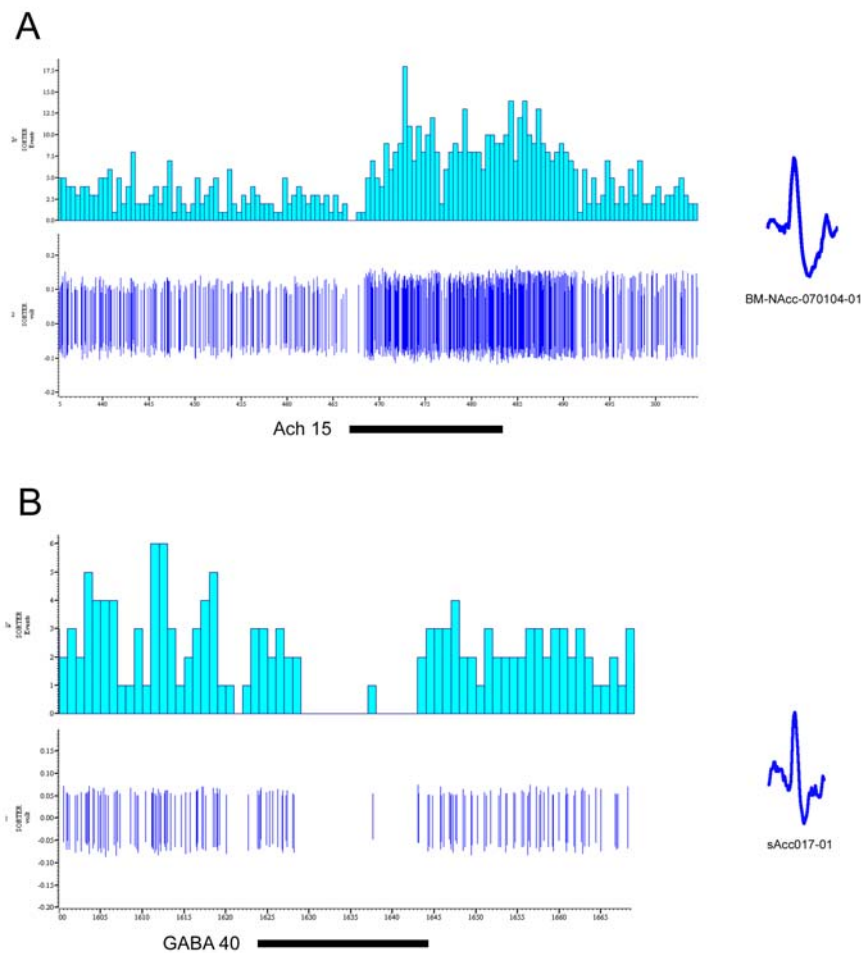


2. ábra Glukóz (A) és dopamin (B) mikroelektroforetikus adására bekövetkező egysejttevékenység változások patkány NAcc-ben. (A jelölések, rövidítések megegyeznek az 1. ábráival.)

4.1.3. Egyéb neurotranszmitter hatások a NAcc-ben

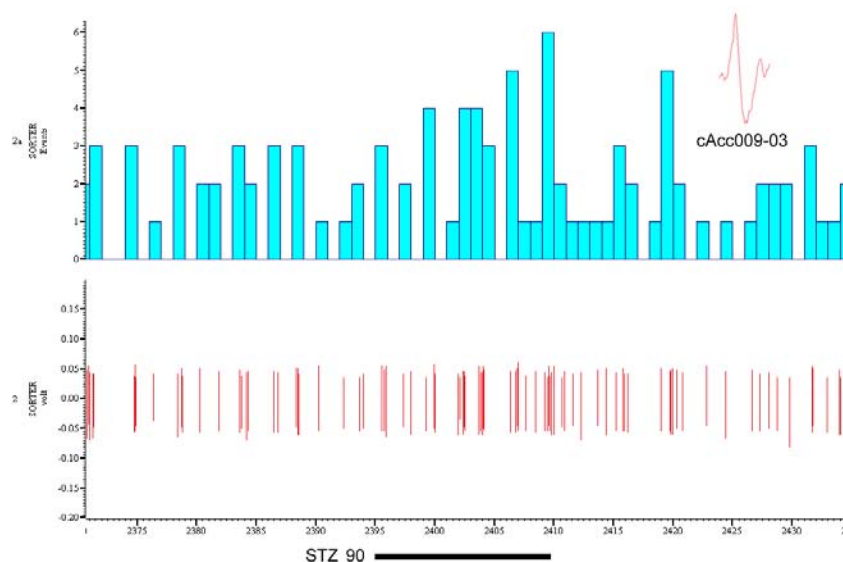
Másik két 'klasszikus' neurotranszmitter, a GABA és az Ach accumbens neuronokra gyakorolt hatását is tanulmányoztuk. Összesen 74 idegsejt esetében vizsgáltuk a GABA-érzékenységet (45 shell; 29 core). Közülük 35 (47%) változtatta meg működését GABA mikroelektroforetikus adására. A GABA kizárólag gátló hatást fejtett ki, serkentést egy esetben sem tapasztaltunk. A két szubdivízió neuronjainak GABA-válaszkészsége jelentős eltérést mutatott. Míg a shell idegsejtjeinek 38%-a (17 neuron), addig a core-sejtek 74%-a (21 neuron) mutatott GABA érzékenységet.

Az accumbens neuronok Ach-al szembeni válaszkészségét 29 esetben vizsgáltuk. Az Ach-nal kapcsolatban is regionális eltérést figyeltünk meg, a neurotranszmitter hatékonysága jelentősen különbözött a NAcc két alrégiójában. A shell-ben 15-ből 7, ugyanakkor a core-ban 14-ből mindössze 3 neuron változtatta meg tüzelési frekvenciáját Ach mikroelektroforetikus adására. A GABA és Ach neuronális hatásának egy-egy példája látható a 3. ábrán.



3. ábra (A) Ach hatására létrejövő neuronális facilitáció majom NAcc-ben; (B) GABA adására bekövetkező gátlás patkány NAcc-ben. (A jelölések, rövidítések megegyeznek az 1. ábráival.)

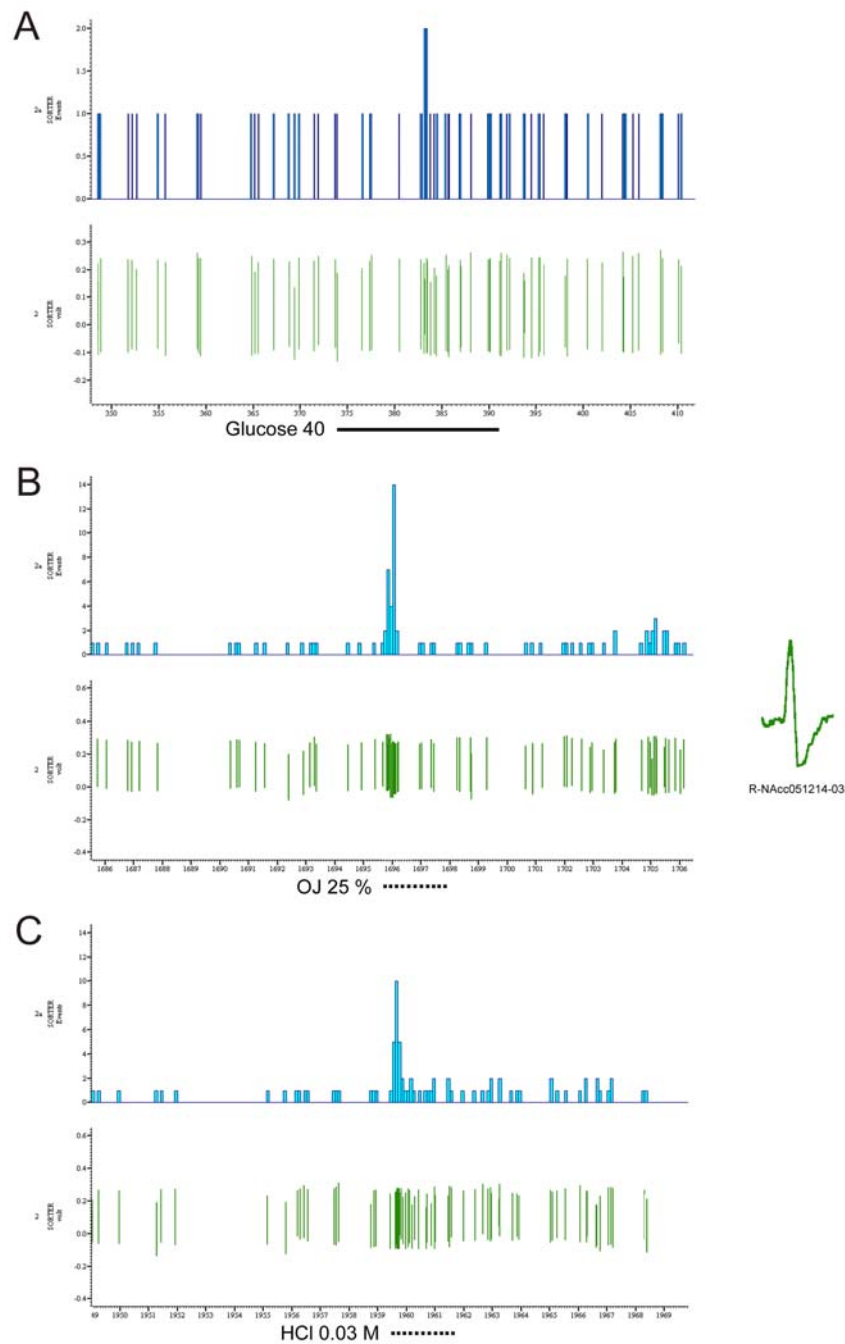
Elektrofiziológiai kísérleteink során 21 idegsejt esetében vizsgáltuk a mikroelektroforetikus adott STZ neuronális hatását. Közülük 6 mutatott STZ érzékenységet. Akár serkentő, akár gátló választ regisztráltunk, mindegyik esetben a többször ismételt mikroelektroforetikus STZ adásra e neuronok aktivitása irreverzibilisen megszűnt. A STZ által befolyásolt neuronok mindegyike GM sejtnek bizonyult, ugyanakkor a STZ-ra nem válaszolók mind GIS unitok voltak. A STZ NAcc-ben kifejtett közvetlen neuronális hatására szolgál példával a 4. ábra.



4. ábra STZ hatására serkentődő idegsejt patkány NAcc-ben. (A jelölések, rövidítések megegyeznek az 1. ábráival.)

4.1.4. Neuronális íz-válaszkészség a NAcc-ben

A NAcc-ben az endogén kémiai ingerek (neuromodulátorok) hatásai mellett összesen 85 neuron esetében az exogén, íz-ingerlésre mutatott kémiai érzékenységet is vizsgáltuk. A 85 idegsejt közül összesen 54 (64%) mutatott íz-válaszkészséget, melyre példát az 5. ábra demonstrál.



5. ábra (A) Glukóz mikroelektroforetikus adására, illetve (B) narancslé (OJ) és (C) HCl intraorális adására bekövetkező egysejttevékenység változások patkány NAcc-ben. Szaggatott vonal – az íz-ingerlés időtartama. (Egyéb jelölések, rövidítések megegyeznek az 1. ábráival.)

Míg a GM neuronok között az ízre válaszoló unitok aránya 76% volt (21 közül 16), addig a GIS sejtek alig több, mint a fele változtatta meg tüzelési frekvenciáját íz-ingerlés hatására (III. táblázat).

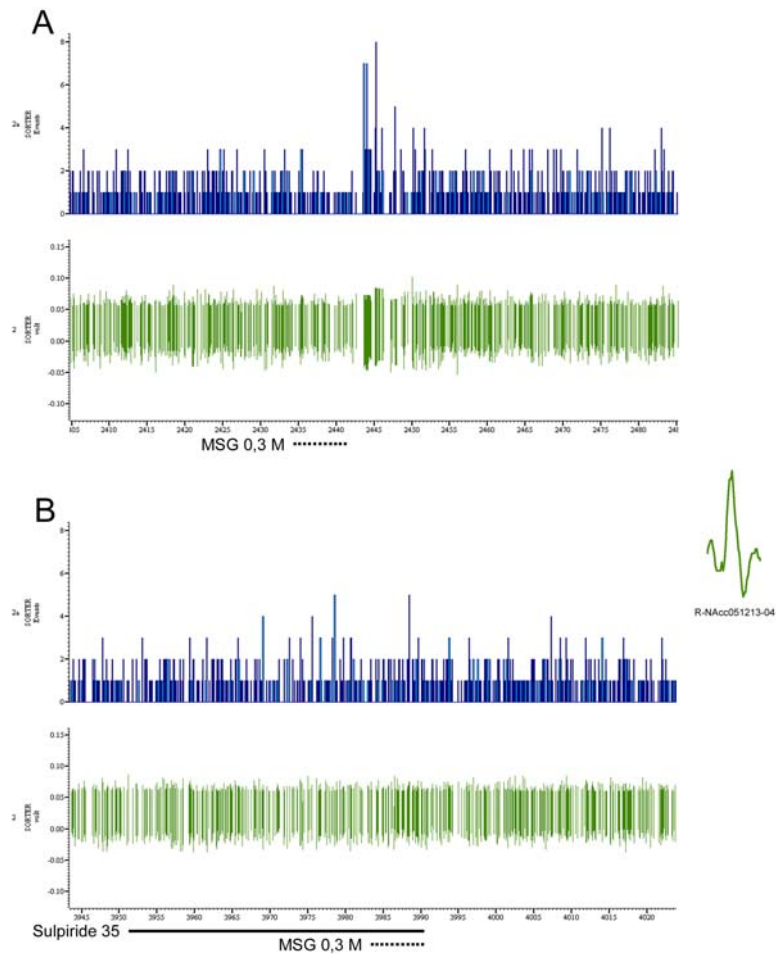
	NAcc shell	NAcc core	ÖSSZES
GM+Íz	7	9	16
GM	2	3	5
Íz	26	12	38
Egyik sem	16	10	26
ÖSSZES	51	34	85

III. táblázat GM+Íz – glukóz-monitorozó, íz-érzékeny neuron; GM - glukóz-monitorozó, ízre nem válaszoló idegsejt; Íz – csak ízre érzékeny neuron.

A specifikus kemoszenzoros (GM) neuronok jellemzően (16-ból 12 esetben) kettő vagy több, a GIS sejtek (38 közül 31) viszont csak egy íz-minőségre változtatták meg a működésüket.

Az 54 íz-sejtből 48 esetében vizsgáltuk a DA-érzékenységet. Közülük 33 neuron (69%) DA-válaszkészségét igazoltuk. A 16 GM íz-sejt közül 11 (azaz ugyancsak 69%) bizonyult DA érzékenynek.

Összesen 12 DA érzékeny, íz-ingerlésre válaszoló sejt esetében tanulmányoztuk, hogy a neuronhoz juttatott D1 vagy D2 receptor antagonistá felfüggeszti-e az íz-válaszkészséget. Hét íz-válaszkészséget mutató idegsejt esetében legalább az egyik DA blokkoló kivédte az íz-hatást. A DA-neurotranszmisszió neuronális íz-válaszkészséget befolyásoló hatására mutat példát a 6. ábra.



6. ábra (A) MSG (umami íz) intraorális adására létrejött fázisos serkentődés, illetve (B) ezen hatás D2 antagonistával (szulpiriddel) történő kivédése patkány NAcc-ben. Szaggatott vonal - az íz-ingerlés időtartama. (Egyéb jelölések, rövidítések megegyeznek az 1. ábráival.)

Az eredmények elemzése során azt is megvizsgáltuk, van-e eltérés a GM, a GIS, illetve a DA-érzékeny neuronok válaszkészségében a hedonikusan kellemes vagy kellemetlen ízek tekintetében.

Azt tapasztaltuk, hogy míg a 38 glukózra érzéketlen íz-sejt egyenlő arányban (50-50%) válaszolt az ingerstív és averzív ízekre, addig a shell szubdivízió GM íz-sejteinek averzív ízekkel szembeni válaszkészsége jelentősen magasabbnak bizonyult. Ezen GM neuronok 64%-

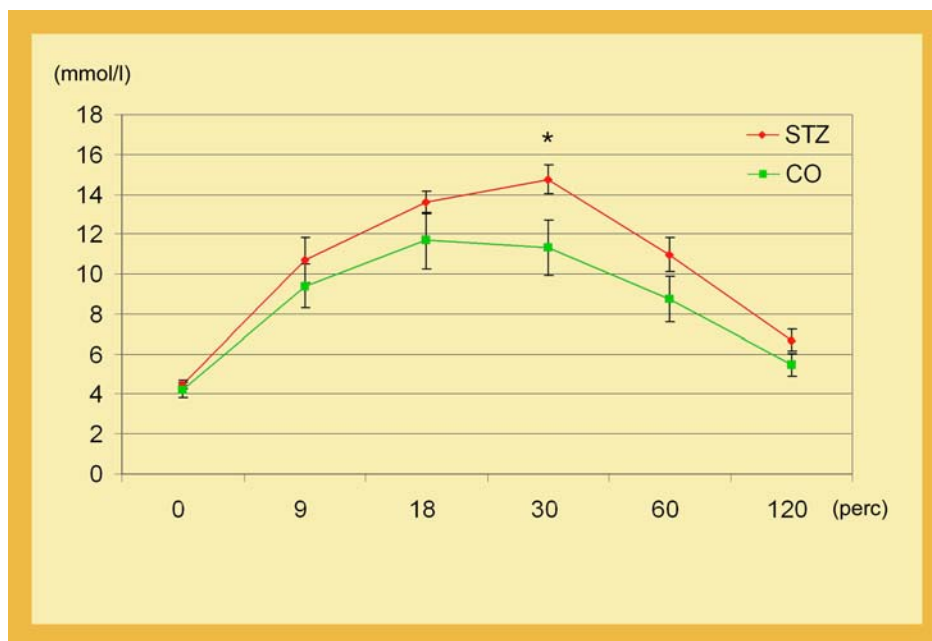
ban a kellemetlen, és csupán 36%-ban a kellemes ízekre változtatták meg tüzelési frekvenciájukat.

Mind a shell, mind a core régióban a DA-érzékeny íz-sejtek többsége az averzív ízekre az ingerstív ízeknél nagyobb válaszkésztséget mutatott.

4.2. Metabolikus változások

4.2.1. Vércukorszint változás cukorterhelési teszt (GTT) során

A NAcc kétoldali STZ mikroinjekcióját követő cukorterhelés nyomán hosszabb ideig patológias vércukorszint emelkedést tapasztaltunk, a 18. és a 30. percben mért minták pedig kifejezetten a diabeteses tartományban voltak. A STZ-t kapott állatok vércukorgörbájének lefutásából jól látható, hogy nemcsak a vércukor értékeik nagysága, hanem ezek időbeli változásának dinamikája is jelentősen eltér a kontroll csoporttól. Míg a kontroll állatok vércukorszintje a 18. perctől kezdve folyamatosan csökken, addig a STZ-nal kezelt patkányoké egészen a 30. percig emelkedik, ahol már szignifikánsan magasabb is, mint a kontrolloké ($p < 0.02$, ANOVA). Az akut GTT során tapasztalt vércukorszint változásokat a 7. ábra demonstrálja.

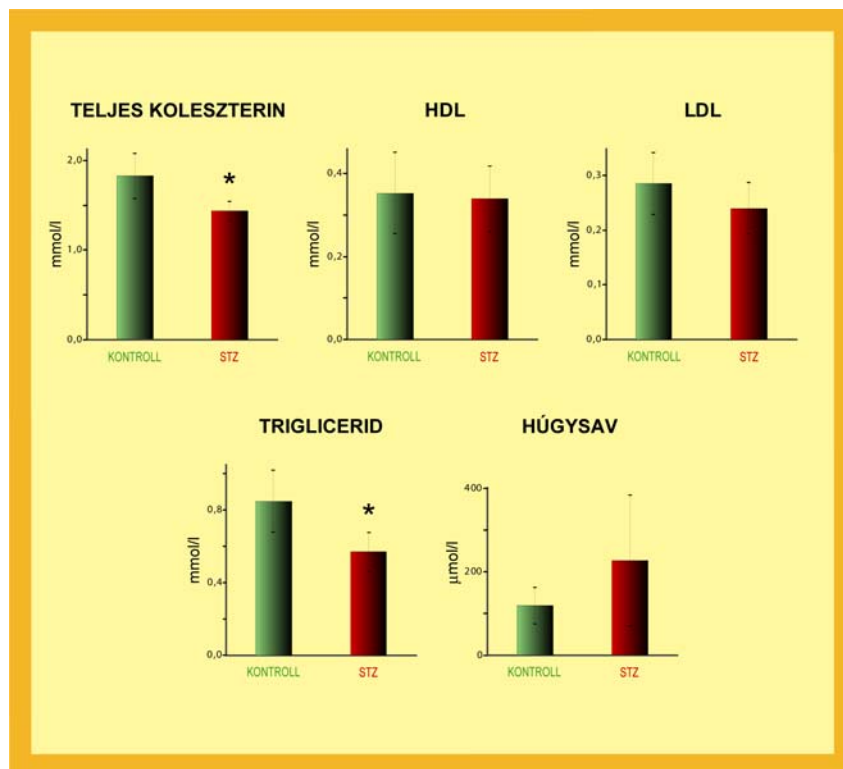


7. ábra Akut glukóz tolerancia teszt eredménye NAcc mikroinjekciós kezelés után. CO – kontroll csoport; STZ – streptozotocinnal kezelt csoport. Ordináta, vércukor koncentráció (mmol/l); abszcissa, idő (perc); * $p < 0.02$, ANOVA, Tukey-féle post hoc teszt

Az akut vizsgálatban találtakkal ellentétben a szubakut fázisban (4 héttel a mikroinjekciókat követően) elvégzett GTT során a kontroll és a STZ kezelt csoport vércukorgörbéjének értékeiben és a görbék lefutásában nem mutatkozott szignifikáns eltérés.

4.2.2. Szérum metabolit eltérések

A NAcc-be adott STZ mikroinjekció hatására létrejövő plazma metabolit koncentráció változásokat a 8. ábrán tüntetjük fel. A vizsgált metabolitok közül a kontroll és a STZ kezelt állatscsoport HDL, LDL és húgysav koncentrációiban mutatkozó eltérés nem volt szignifikáns, ugyanakkor a trigliceridek és az össz-koleszterin esetében a STZ kezelt állatok plazmaszintje szignifikánsan csökkent a kontroll csoport egyedeihez képest (Össz-koleszterin, STZ vs CO, $p < 0.05$; Trigliceridek, STZ vs CO, $p < 0.05$; t -próba).

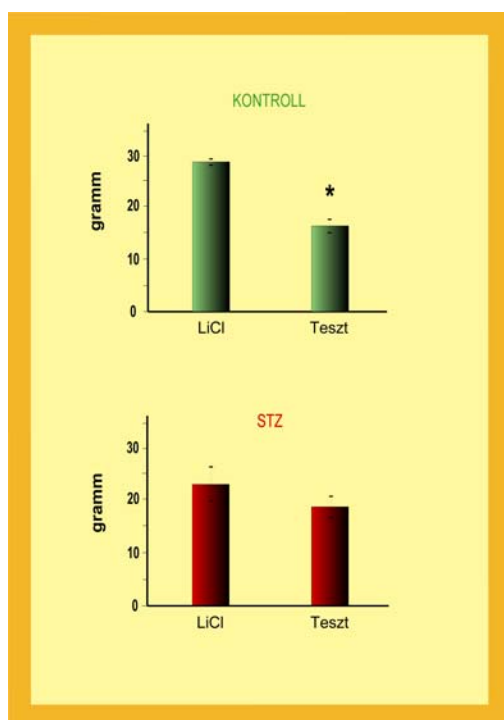


8. ábra NAcc mikroinjekciós kezelést követően mért metabolit plazmaszintek. Ordináta, mmol/l (teljes koleszterin, HDL, LDL, triglicerid), $\mu\text{mol/l}$ (húgysav); * $p < 0.05$, t -próba

4.3. Íz-percepció zavarok

4.3.1. Kondicionált íz-averzió

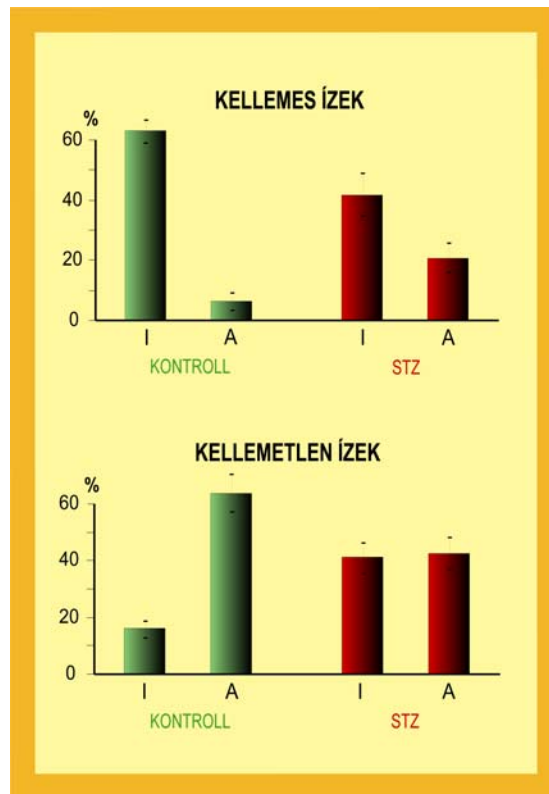
Az íz-információk központi idegrendszeri feldolgozását, s ezen információk adaptív viselkedésbe illesztését elsőként kondicionált íz-averziós kísérletek során vizsgáltuk. Míg a kontroll patkányok a kondicionálás napján szignifikánsan nagyobb mennyiségű szacharin-oldatot fogyasztottak, mint a teszt napján (kontroll_{szacharin+LiCl} vs kontroll_{teszt}, $p < 0.02$, t -próba), addig a STZ mikroinjekciós állatok esetében a kondicionálási és teszt napon mért szacharin oldat fogyás között nem volt szignifikáns különbség (az állatok által a kondicionálási napon elfogyasztott szacharin-oldat mennyiségét 100%-nak véve a kontroll csoport teszt-napi ivása 55%, ugyanakkor a STZ kezeltéké több, mint 83% volt). Az íz-averziós kísérlet eredményét a 9. ábra oszlopdiagramjai szemléltetik.



9. ábra Kondicionált íz-averziós változások STZ kezelést követően. Ordináta, szacharin oldat fogyasztás (gramm); abszcissa, kondicionálási napon (LiCl) és teszt napon (Teszt) mért értékek; * $p < 0.02$, t -próba

4.3.2. Íz-reaktivitás

A NAcc-be adott STZ mikroinjekció hatására az íz-reaktivitási mintázatokban jellegzetes változások jöttek létre mind a “kellemes”, mind a “kellemetlen” íz-ingerek alkalmazása során. Eredményeinket a 10. ábrán szemléltetjük.



10. ábra Az íz-reaktivitás változása a Nacc-be juttatott STZ mikroinjekció hatására. Felül a kellemes, míg alul a kellemetlen ízű oldatokra adott válaszok megoszlása látható. Ordináta, az ingerstívn (I) és averzív (A) mintázatok gyakorisága a maximálisan elérhető pontszám %-ában.

A hedonikusan kellemes ingerekre a kontroll és STZ kezelt patkányok egyaránt főleg ingerstívn mintázatokkal reagáltak, a toxinnal kezelt csoport állatai azonban szignifikánsan kevesebb pozitív reakciót mutattak, mint a kontrollok. Bár a két csoport kellemes ízekre mutatott averzív magatartásmintázata közötti eltérés éppen nem érte el a szignifikancia határt, a STZ mikroinjekciós patkányok elutasító mintázatainak gyakorisága a kontrollokénak több, mint kétszerese volt (Kontroll_I vs Kontroll_A, $p < 0.05$; STZ_I vs STZ_A, $p < 0.05$; Kontroll_I vs STZ_I, $p < 0.05$; Kontroll_A vs STZ_A $p = 0.1$; t -próba).

A kellemetlen ízekre a kontroll patkányok a várakozásnak megfelelően jellemzően averzív válaszokat adtak, ugyanakkor a STZ kezelt állatok közel azonos számban mutattak ingerstívn és averzív mintázatokot, továbbá szignifikánsan több ingerstívn és szignifikánsan kevesebb averzív komponens volt jelen viselkedésükben, mint a kontroll csoport egyedeinek

esetében (Kontroll_I vs Kontroll_A, $p < 0.05$; Kontroll_I vs STZ_I, $p < 0.05$, Kontroll_A vs STZ_A, $p < 0.05$, *t*-próba).

4.4. Szövettan

A szövettani vizsgálatok során igazolódott, hogy az elektrofiziológiai kísérletek és a mikroinjekciós anyagbeadások során döntően a célterületen, a nucleus accumbensben dolgoztunk.

Elektrofiziológiai kísérleteinkben 3 patkány elvezetési adatait kellett figyelmen kívül hagynunk az értékelés során, mivel a célterületen kívül azonosítottuk az elvezetési helyeket.

Hat patkány esetében bebizonyosodott, hogy a NAcc-t részben elkerülő, vagy területét jelentősen meghaladó mikroinjekciós anyagbeadás történt, így ezen állatok adatait nem vettük figyelembe a magatartási vizsgálatok eredményeinek feldolgozásakor.

5. Új eredményeink összefoglalása

I. Elektrofiziológiai vizsgálatok

1. A multibarrel mikroelektroforetikus technika alkalmazásával mind altatott laboratóriumi patkány, mind éber rhesus majom nucleus accumbens-ben glukóz-monitorozó idegsejteket azonosítottunk. Bebizonyosodott, hogy az accumbens GM neuronjainak aránya mindkét fajban számottevő, kb. 25%.

2. Kimutattuk, hogy a NAcc két szubdivíziójában a specifikus kemoszenzoros idegsejtek aránya és típusbeli megoszlása is eltérő. A shell régióban a neuronok 1/5-e, míg a core régióban 1/3-a GM sejt; az előbbiben a D-glukózra gátlódó (GS), az utóbbiban viszont a D-glukózra serkentődő (GR) neuronok vannak jelentős túlsúlyban.

3. E limbikus struktúra meghatározó dopaminergiás innervációjával összhangban a NAcc vizsgált idegsejtjeinek több, mint a fele mutatott DA válaszkésztséget. A shell régióban a neuronok mintegy fele változtatta meg működését mikroelektroforetikusán adott DA-ra, s e unitok döntő többségében (89%) a katecholamin gátlást eredményezett. Ezzel szemben a core régió számosabb (68%) DA érzékeny idegsejtjében azonos arányban vezettünk el serkentő és gátló válaszokat.

4. Mikroelektroforetikus GABA adásra az accumbens neuronok megközelítően fele változtatta meg - kizárólag gátló irányban - működését. A GABA válaszkésztséget mutató idegsejtek aránya a core régióban a shell-beliéek közel kétszeresének bizonyult (74% vs 38%). A fentiekkel szemben a NAcc Ach érzékeny neuronjainak (34%) aránya a shell régióban volt a core-belinél jelentősen nagyobb (47% vs 21%).

5. A vizsgált idegsejtek ötödrészáben regisztráltunk egysejttevékenység változást STZ mikroelektroforézise nyomán. A STZ-ra válaszkésztséget mutató neuronok mindegyike GM volt, míg a STZ által nem befolyásoltak glukóz inszenzitivnek bizonyultak. E sejtek működését

a STZ többször ismételt mikroelektroforetikus adása sem változtatta meg, ugyanakkor a GM neuronok aktivitása ilyen esetben irreverzibilisen megszűnt.

6. Exogén kémiai ingerekre - ízekre - a NAcc idegsejtjeinek megközelítően kétharmada változtatta meg tüzelési frekvenciáját.

A GM neuronok 3/4-e bizonyult "íz-sejtnek", s e unitok jellemzően kettő vagy több íz-minőségre mutattak válaszkészséget. A GIS idegsejtek felének működésére volt hatással az íz-ingerlés, s ezen esetek 82%-ában csak egy íz-minőség bizonyult hatásos ingernek. A GM neuronok íz-válaszait többnyire (64%) kellemetlen ízek váltották ki, a GIS sejtek esetében viszont a kellemes és kellemetlen íz-ingerekre megmutatkozó egyforma válaszkészséget állapítottuk meg.

A NAcc íz-ingerlésre válaszoló neuronjai közel 2/3-ának tüzelési frekvenciáját DA mikroelektroforetikus adása is megváltoztatta, s a vizsgált esetek több, mint felében az íz-inger kiváltotta működési változás megelőzhető vagy gyengíthető volt D1 és/vagy D2 receptor antagonistá előzetes mikroelektroforetikus adásával.

II. Metabolikus és magatartási vizsgálatok

1. A NAcc kétoldali STZ mikroinjekcióját követő glukóztolerancia tesztben a kezelt állatok kórosan magas vércukorértékeire és vércukorszintjük alakulásának a kontrollokénál elnyújtottabb dinamikájára derült fény.

2. A GM neuronok - legalább részleges - pusztulásának széles körű metabolikus zavart előidéző voltának jellemzéséül a NAcc hasonló STZ mikroinjekciója nyomán a triglicerid és az össz-koleszterin plazmaszintek szignifikáns csökkenését, valamint a plazma húgysav-szint emelkedését mutattuk ki.

3. Íz-reaktivitási és kondicionált íz-averziós magatartási tesztekben bizonyítottuk, hogy a limbikus struktúra kétoldali STZ mikroinjekcióját követően súlyos íz-percepció és az íz-információkat felhasználó tanulási zavarok alakulnak ki.

IV. Megbeszélés

A limbikus előagyi struktúrák meghatározó szerepet játszanak a különféle motivált magatartásformák központi szabályozásában. Jól ismert a NAcc érintettsége a megerősítő-jutalmazó folyamatokban, valamint számos más motivációs működésben, s ezek révén az accumbens fontos résztvevője a táplálkozás központi idegrendszeri regulációjának is [96,99-101]. A NAcc ezen összetett funkcióit a két, egymással szoros kapcsolatban lévő subrégiójának idegsejtjein keresztül látja el. Irodalmi adatok tanúsága szerint a shell régió szelektív gátlása vagy elroncsolása rágszálókban erőteljesen fokozza a táplálékfelvételt és a testsúlynövekedést [96,157], míg a core régió excitotoxikus léziója a táplálkozási magatartás és a testsúly tekintélyes csökkenését idézi elő [96,158]. Ismert továbbá az is, hogy mindkét alrégió részt vesz az íz-asszociált motivációs és tanulási folyamatokban [97,176,177].

Ezen komplex magatartási funkciók irányításában a NAcc extrapiramidális és más limbikus struktúrákkal való kölcsönkapcsolatai fontos szerepet tölthetnek be, s korábbi megfigyelések alapján az is felvetődött, hogy a számos agyi területen már azonosított GM neuronok nélkülözhetetlen funkcionális elemei lehetnek a fenti szabályozási mechanizmusnak. Rágszálóban és főemlősben folytatott mikroelektrofiziológiai vizsgálataink eredményei egyértelműen igazolták a specifikus kemoszenzoros idegsejtek létét a NAcc-ben.

1. "Endogén" kémiai érzékelés /GR, GS/

Egy adott agyterület idegsejtjeinek endogén válaszkésztségét transzmittereikkel, modulátoraikkal jellemzett bemeneteik és kimeneteik minősége határozza meg. A NAcc-ben számos neurotranszmitter illetve neuromodulátor jelenlétét igazolták: ma már ismert, hogy GABA, Ach, DA, NA, szerotonin, hisztamin, illetve opiát receptorok egyaránt jelen vannak e központi szerepű limbikus struktúrában [42,43,135,138-142,150]. Mindezek ismeretében nem meglepő, hogy a NAcc-ben általunk elektrofiziológiailag megvizsgált összes idegsejt esetében megállapítható volt bizonyos fokú endogén kémiai érzékenység: legalább egy, mikroiontoforetikusan a sejt közvetlen közelébe juttatott kémiai anyagra (glukóz, DA, Ach, glutamát, GABA, STZ és DA blokkolók) megváltoztatták működésüket.

1.1. Glukóz-monitorozó idegsejtek

Kísérleteink eredményei közül kiemelkedően fontosnak tartjuk azokat, amelyek egyértelműen bizonyítják a táplálkozás szabályozásában résztvevő GM neuronok jelenlétét patkány és majom nucleus accumbensében. Habár ilyen kemoszenzitív idegsejteket az agy számos területén azonosítottak már [1,68,73,75-77], ez az első alkalom, hogy a limbikus rendszer e központi struktúrájában is igazolódott létezésük. A NAcc GM, azaz működésüket D-glukóz mikroelektroozmotikus adására megváltoztató neuronjainak lokalizációjakor fény derült arra, hogy a glukózra eltérő módon válaszoló idegsejtek a patkány accumbensben jellegzetes topográfiai elhelyezkedést mutatnak. A GS (gátló típusú) neuronokat főként a shell, míg a GR (serkentő válaszó) sejteket túlnyomó többségben a core régióban sikerült azonosítani. Ismert, hogy a core fontos szerepet tölt be a kondicionált magatartási formák kialakításában és irányításában, és e régió excitotoxikus léziója a táplálkozási magatartás és a testsúly számottevő csökkenését idézi elő [96,100,101,158]. A shell régióról ugyanakkor tudjuk, hogy a

nem-kondicionált viselkedésekben érintett, és szelektív gátlása vagy elroncsolása rágcsálókban erőteljesen fokozza a táplálékfelvételt és a testsúly növekedését eredményezi [96,99-101,158,178,179]. A GM neuronok általunk feltárt sajátos megoszlása összefüggésben állhat a NAcc két subrégiójának fentebb leírt eltérő funkcionális jellemzőivel. A rágcsálókból nyert eredmények általános jelentőségét hangsúlyozzák azok az újabb adatok, amelyek rámutattak arra, hogy a NAcc shell-core szerkezeti dichotomiája majomokban és emberben is megfigyelhető [180].

1.2. DA érzékeny idegsejtek

A MLDR pályarendszert a VTA A10-es neuronjaiból, illetve a a SN-t oldalról körülvevő A8-as és a SN-t dorsalisán határoló, ún. retrorubrális idegsejtekből eredő rostok alkotják [181]. A MLDR egyik legfontosabb projekciós területe a NAcc [38,39,181]. In vivo mikrodialízis vizsgálatokban ugyancsak igazolódott, hogy a NAcc-ben történő DA felszabadulás elengedhetetlen feltétele ill. kísérő jelensége a megerősítés kialakulásának [40,41,159], s e tény a NAcc-be juttatott DA antagonisták hatásával is alátámasztották [182,183]. Bebizonyították továbbá azt is, hogy a NAcc-be, különösen a shell régióba lokálisan adott DA önmagában is jutalmazó értékű, a kísérleti állatok a DA reuptake gátló amfetaminnal ön-injekcióra kondicionálhatók [184,185].

A DA accumbensen belüli közvetlen neuronális hatását elektrofiziológiai kísérleteinkben is bebizonyítottuk. A struktúra egészében a vizsgált idegsejtek több, mint fele mutatott DA érzékenységet. A shell régióban a neuronok megközelítően 50%-a válaszolt a katecholaminra, ugyanakkor a core területén az idegsejtek több, mint 2/3-a. A DA neurotranszmisszió NAcc-en belüli differenciált szerepét hangsúlyozza a DA keltette aktivitásváltozások irányának (gátlás vagy serkentés) regionális különbségére rávilágító leletünk is.

1.3. GABA érzékeny idegsejtek

A NAcc neuronjainak 90%-a közepes nagyságú tövises GABA-erg sejt [135]. Ismert, hogy a NAcc shell alrégiójának gátlása jelentős táplálékfelvételt indukál patkányban, melyet az itt található GABA neuronok LHA-ra gyakorolt indirekt gátlásának megszűnésével magyaráznak [179]. Elektrofiziológiai kísérleteink során mind patkányban, mind pedig rhesus majomban igazoltuk, hogy a NAcc idegsejtek megközelítően fele gátlódik GABA mikroelektroforetikus adására. Korábbi magatartási-neurokémiai vizsgálatokban leírták a shell és a core szubdivízió működésének eltérő GABA-erg modulációját [101], s adataink alapján valószínűsíthető, hogy e funkcionális dichotómia idegi alapját - legalábbis részben - a régiók GABA-ra válaszkésztséget mutató neurojainak jelentősen különböző aránybeli megoszlása képezheti.

2. "Exogén" kémiai érzékelés

A táplálékfelvételi folyamat első, appetitív szakaszának elején jelenik meg az éhségérzet mint specifikus motiváció, melynek hatására az állat elindul a táplálék felkutatására. Ezt követően kezdődik az iniciatív fázis, amit a táplálék látványa, illata, majd íze, valamint az ezekre bekövetkező élettani változások vezérelnek. Az ízlelés döntően megszabja a táplálék és a folyadék kiválasztását, vagyis a táplálkozás során megvalósuló hedonikus-motivációs szabályozás legjelentősebb külső szenzoros tényezője.

2.1. Elektrofiziológiai-neurokémiai sajátosságok

Vizsgálataink során íz-érzékeny neuronok jelenlétét igazoltuk a NAcc-ben. Adatainkból egyértelműen kitűnik, hogy azon sejtek között, melyek íz-oldatok adására megváltoztatták működésüket, számottevően nagyobb arányban fordultak elő GM neuronok, mint azok között, melyek íz-érzékenységet nem mutattak. Ugyancsak megfigyelhető volt, hogy a NAcc GM neuronjai a kellemetlen ízekkel szemben nagyobb érzékenységet mutattak. A GM íz-neuronok jellemzően két vagy több íz-minőségre válaszoltak, így ezen idegsejtek esetében valószínűsíthető, hogy a táplálkozás központi szabályozásában releváns exogén kémiai ingereket együttesen értékelő, integratív szerepet játszanak. A glukózra válaszkészséget nem mutató íz-érzékeny sejtek többnyire csak egy ízre változtatták meg tüzelési frekvenciájukat, mely arra utal, hogy ezen GIS íz-sejtek az íz-információk feldolgozásában inkább diszkriminatív szerepet töltenek be. A GM és GIS sejtek íz-információ feldolgozásban valószínűsített eltérő funkciójára laboratóriumunk korábbi, más előagyi struktúrákban nyert eredményei is rámutattak már [63,67,68].

A NAcc hedonikus-motivációs szabályozásban való részvétele jól ismert, s tudott, hogy e működésekben döntő fontosságú szerep jut a DA-ergias rendszernek. Ezirányú vizsgálatok tanúsága szerint a NAcc-en belüli DA neurotranszmisszió dinamikus, receptor mechanizmustól függő változása bizonyítottan elengedhetelen feltétele ill. kísérőjelensége a megerősítés folyamatának [182,183,186-188]. Kísérleti leletek igazolták, hogy a megerősítés során a struktúrában megemelkedik a DA szint [40,41,159], illetve kondicionált íz-averzió kialakulásakor a feltétlen, a társítást követően pedig a feltételes inger is DA szint csökkenést idéz elő [176].

A jelen disszertáció tárgyát képező saját vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy az íz-ingerlés hatására létrejövő idegsejt válaszok számos esetben D1 és/vagy D2 receptor antagonistá megelőző ill. egyidejű, mikroelektroforetikus adásával felfüggeszthetők. E

leleteink - kutatócsoportunk korábbi kísérleti eredményeivel [63,67] összezsengve - a limbikus előagyi DA neurotranszmisszió íz-információ feldolgozási folyamatokban játszott meghatározó szerepére vonatkozó felvetésünket igazolják.

2.2. Íz-információ feldolgozási zavarok

A külső környezet kémiai ingereinek érzékelését tanulmányozó magatartási kísérleteink során arra kerestük a választ, hogy a NAcc-be juttatott, s ott a GM idegsejteket specifikusan elpusztító STZ mikroinjekció hatására - a fentebb már ismertetett metabolikus zavarokon túl - az állatok íz-érezékelése károsodik-e. Célzott vizsgálatainkban az íz-információk központi feldolgozásának adaptív-integratív mechanizmusaiiban STZ kezelést követően bekövetkező változásokat kívántuk feltárni.

Korábbi irodalmi adatok alapján ismert, hogy a NAcc mindkét alrégiója részt vesz az íz-asszociált motivációs és tanulási mechanizmusokban [97,98]. Kondicionált íz-averziós kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy ez az erős adaptációs működés a STZ mikroinjekció hatására szelektíven elpusztuló GM neuronok hiányában sérül, a STZ kezelt csoport egyedeiben e tanult magatartásforma nem alakul ki. Feltételezhető ezért, hogy a NAcc GM sejtjeinek hiánya jelentős hedonikus-motivációs értékelési, ennek nyomán íz-információkat hasznosító tanulási zavart okoz, mely hipotézist az előzőekben említett elektrofiziológiai adataink is megerősítik.

A NAcc STZ mikroinjekciója keltette ízlelési zavarok sokrétűségére világítottak rá az íz-reaktivitási teszt során tapasztalt eltérések is. Bár az ingerstív ízekre a neurotoxin kezelt csoport állatai is több ingerstív, mint averzív mintázatot mutattak, az STZ mikroinjekciós patkányok viselkedésében mégis kevésbé voltak kifejezettek a kellemes ízek elfogadására utaló magatartási jegyek. Averzív ízek esetében még markánsabban megmutatkozott az íz-érezékelés STZ hatására bekövetkező zavara. A neurotoxint kapott állatok a kontrollokhöz képest

szignifikánsan kellemesebbnek érezték a fiziológiás körülmények között elutasítandó ízeket: esetükben nemcsak jóval kevesebb averzív magatartási mintázatot jegyezhattunk fel, hanem a kellemetlen ízekre mutatott ingerstív és averzív válaszmintázataik között sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést. Ezek a tények egyértelműen igazolják, hogy bár a NAcc GM neuronjainak elpusztulásával nem vesz el teljes egészében az ízek érzékelésének képessége, azonban jelentős károsodást szenved a külvilági kémiai ingerek hedonikus-motivációs megítélése. Megállapítható, hogy a NAcc STZ kezelésének hatására az ízek "percepció monitorozása" ezen állatokban megváltozott, mégpedig oly módon, hogy főként a kellemetlen ízek megkülönböztetésében támadtak zavarok. Ezt megerősíti az a korábbi, elektrofiziológiai kísérleteinkben tett megfigyelésünk is, mely szerint a GM sejtek kellemetlen ízekkel szembeni válaszkészsége jelentősen nagyobb, mint kellemes ízekkel szemben.

A magatartási kísérletsorozatunkban feltárt íz-információ feldolgozási zavarok élettani jelentősége aligha vitatható. A NAcc-be juttatott STZ mikroinjekció nyilvánvalóan befolyásolja a táplálékszelekciós működéseket is, hiszen ezek az adaptációban fontos folyamatok segítenek az állat számára eldönteni azt, hogy melyek azok a - jellemző ízű - táplálékok, amelyeket kerülnie kell. Az ízek felismerése és megkülönböztetése döntő jelentőségű a létfenntartási folyamatsor ezen első lépésében. Ha már e szinten kóros érzékelés alakul ki, akkor az adekvát magatartási forma nem működik hatékonyan, az állat a számára veszélyes táplálékot is megeheti - így megmérgezve magát - , illetve fordított esetben a számára kedvező, nagy energiaértékű élelmet nem fogyasztja el, emiatt hátrányba kerülhet egészséges társaival szemben.

Az íz-információk központi idegrendszeri feldolgozásában számos agyi struktúra (OBF, AMY, LHA, GP) részvételét bebizonyították már [48,53,54,56,62,66,67,69]. Ismert, hogy a NAcc ezen struktúrákkal szoros kölcsönkapcsolatban áll [102-104], s irodalmi adatok igazolják, hogy a NAcc az íz-érzékelés központi folyamataiban közvetlenül is szerepet játszik

[98,189-195]. E tényt kísérleteink során mind magatartási, mind elektrofiziológiai módszerekkel részben megerősítettük, részben - különös tekintettel a GM neuronok komplex, integratív szerepére - új adatokkal támasztottuk alá.

3. Metabolikus eltérések

A NAcc GM idegsejtjeinek szelektív elpusztítása, vizsgálataink tanúsága szerint sokrétű metabolikus változások kialakulásához vezet. Laboratóriumunk korábbi magatartási-metabolikus kísérletei során ismeretessé vált, hogy a VMH-ba illetve az OBF-be adott STZ mikroinjekció nyomán a 2-es típusú diabetes mellitusban tapasztaltakhoz hasonló metabolikus zavarok alakulnak ki [76]. Mindkét struktúra neurotoxin kezelését követően az akut vizsgálatok súlyos glukóz-intoleranciát és dyslipidaemiát, továbbá emelkedett plazma húgysav szintet mutattak ki. A zsíryanycsere zavart jelző mutatókban mindamelllett agyterületi különbségek voltak: a VMH mikroinjekció az össz-koleszterin koncentráció csökkenését és a trigliceridek szintjének emelkedését vonta maga után, az OBF-be juttatott STZ hatására ugyanakkor mind az össz-koleszterin, mind a triglicerid koncentráció csökkent.

A NAcc STZ kezelése a fentiekhez nagymértékben hasonló következményekkel járt. A szénhidrát anyagcsere akutan elvégzett cukorterhelési tesztben feltárt károsodása mellett kimutattuk a zsíryanycsere (az össz-koleszterin és a triglicerid szint csökkenésével járó) zavarát, valamint a plazma húgysav koncentráció (tendencia szerű) emelkedését is. Ez utóbbi változás összhangban áll nemcsak korábbi eredményeinkkel [76], hanem a proteolytikus lebontási folyamatok diabetes mellitusban tapasztalható aktiválódására, s a következményes hyperuricaemiára vonatkozó irodalmi adatokkal is [196,197]. Dyslipidaemiás leleteink jól illeszkednek azon korábbi megfigyelések sorába, amelyek rámutattak a koleszterinszint, de

még inkább a lipoprotein-frakciók (VLDL, LDL, HDL) koncentrációjának változásaira a DM mindkét formájában [198-200].

Az eltérések az egyes agyterületeken végzett beavatkozások nyomán fellépő különbségek (triglicerid szintek emelkedése vagy csökkenése) egyrészt utalnak az érintett struktúrák - VMH, OBF, NAcc - anyagcsere szabályozási folyamatokban betöltött nyilvánvalóan differenciált szerepére. Másrészt hangsúlyoznunk kell azt az első pillantásra megdöbbentő ténytet is, hogy a fenti esetekben egy körülírt agyterület specifikus neuron-csoportját érintő beavatkozásnak igen gyorsan kialakuló perifériás metabolikus következményeivel állunk szemben. E változások irányát és dinamikáját feltehetően nagy mértékben befolyásolja számos tényező, így pl. a plazma inzulin és leptin koncentrációk alakulása [201], ezért további vizsgálatainkban a metabolikus mérések kiterjesztése elengedhetetlenné válik. Mindazonáltal egyértelmű bizonyítást nyert, hogy az előagyi GM neuronok elpusztítása a szénhidrát, a zsír- és a fehérje anyagcsere jelentős, több tekintetben a 2-es típusú DM esetében megfigyeltekhez hasonló zavarát idézi elő.

E leletünk, s a GM neuronok komplex tulajdonságaira, a STZ mikroinjekció nyomán tapasztalt percepció-motivációs változásokra vonatkozó eredményeink egyöntetűen alátámasztják hipotézisünket, miszerint e speciális idegsejtek az egészséges szervezet homeosztatis egyensúlyának megőrzésében alapvető szerepet játszanak. Ha ez így van, joggal feltételezhető, hogy bármilyen ok miatt bekövetkező károsodásuk a homeosztázis egyensúlyának megbomlásával járó táplálkozási és anyagcsere megbetegedések elindítója, fenntartója lehet.

V. Általános következtetések

Napjainkban, fokozódó népegészségügyi jelentőségük miatt, a táplálkozási és anyagcsere betegségek háttérben álló folyamatok feltérképezése egyre fontosabbá válik. Az elhízás, a diabetes mellitus és a metabolikus szindróma a populáció jelentős részét érintő népbetegségnek számít, a fejlett országok populációiban a megbetegedések - köztük számos kiemelt mortalitású kórforma - több, mint 25%-a metabolikus eredetre vezethető vissza. A mai, általánosan elfogadott klinikai orvosi szemlélet a perifériás folyamatokra, patológias eltérésekre fókuszál ezen betegségek diagnózisakor és a terápiás beavatkozások során egyaránt. Ugyanakkor egyre több vonatkozó kórfolyamat kapcsán nyer bizonyítást vagy vetődik fel lehetőségként a centrális, központi idegrendszeri eredet vagy érintettség. Az általunk a NAcc-ben feltárt, a homeosztázis szabályozásában és fenntartásában központi szerepet játszó GM neuronokról kiderült, hogy működési zavarai - sérülésük vagy pusztulásuk - a szervezet belső egyensúlyának felborulásához vezethet. A NAcc és más, a homeosztázis fenntartásában érintett agyi struktúrák, és specifikus kemoszenzoros neuronjaik működésének mind jobb megismerése tehát alapvető fontosságú lehet a táplálkozási és anyagcsere betegségek háttérben álló kórfolyamatok megértésében, s így ezen megbetegedések megelőzéséhez és új, eredményes terápiás stratégiák kidolgozásához is közelebb vihet.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, **Dr. Karádi Zoltán** egyetemi docensnek, hogy lehetővé tette számomra az általa vezetett kísérletekben való részvételt előbb mint tudományos diákkörös hallgató, majd mint PhD doktorandusz. Hálával tartozom a sok tanításért, önzetlen támogatásért, az eltelt 8 év alatt kapott szakmai és baráti tanácsokért, melyekkel pályámat egyengette, s melyekkel rengeteg segítséget nyújtott a tudományos közlemények és a doktori disszertáció megírásában.

Köszönöm **Dr. Lukáts Baláznak** az elmúlt 8 év során kapott számtalan szakmai és emberi segítséget és támogatást, melyekre kutatásaimban mindenkor és bizton támaszkodhattam.

Külön köszönet illeti meg **Takács Gábor** egyetemi tanársegédet, valamint **Dr. Szalay Csaba** Ph.D. doktoranduszt, akik a munkáim során rengeteg segítséggel és tanáccsal láttak el.

Úgyszintén köszönettel tartozom **Fuchs Ildikó** asszisztensnőnek a laboratóriumban folytatott munkámban nyújtott pótolhatatlan segítségéért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm **Dr. Lénárd László** professzor úrnak, a PTE ÁOK Élettani Intézet igazgatójának, az Idegtudományi Doktori program vezetőjének a tudományos diákköri, demonstrátori, majd doktoranduszi munkásságom támogatását.

Az értekezéshez kapcsolódó saját publikációk

I. Folyóiratcikkek:

1. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, Cs. Szalay, R. Egyed, L. Lénárd, and G. Takács: Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: Electrophysiological and behavioral studies. *Chemical Senses*, 30:168-169, 2005.
2. Papp, Sz., B. Lukáts, G. Takács, Cs. Szalay, Z. Karádi: Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *NeuroReport* , 18(15):1561-1565, 2007.

II. Könyvrészlet:

1. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, G. Takács, R. Egyed, and L. Lénárd: The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. In: *Brain-Inspired IT I*, (Eds. H. Nakagawa, K. Ishii and H. Miyamoto), International Congress Series Vol. 1269, Elsevier, Amsterdam, pp.30-33, 2004.

III. Konferencia összefoglalók:

1. Papp, Sz., Lukáts, B., Szalay, Cs., Göde, J., Hernádi, I., Kellényi, L. and Karádi, Z.: Taste-responsive neurons in the nucleus accumbens of the rat. *Neurobiology* 9(3-4): P. 347-348, 2002.
2. Karádi, Z., Lukáts, B., Hernádi, I., Kellényi, L., Papp, Sz., Göde, J., and Szalay, Cs.: Complex attributes of chemosensory neurons in the nucleus accumbens of the rat. *Neurobiology* 10(): P. , 2002.
3. Lukáts, B., Papp, Sz., Hernádi, I. and Karádi, Z.: The central glucose-monitoring network: Chemosensory neurons in the nucleus accumbens of the rat. *IBNS*. Vol. 11: P. 33, 2002.
4. Lukáts, B., Sz. Papp, Cs. Szalay, J. Göde, L. Lénárd and Z. Karádi: Gustatory neurons in the nucleus accumbens and the mediodorsal prefrontal cortex of the rat. *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 250, 2002.
5. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, Cs. Szalay, J. Göde and L. Lénárd: New sites of the central glucose-monitoring system: the nucleus accumbens and the mediodorsal prefrontal cortex. *Acta Physiol. Hung.* 89(1-3): 245, 2002.

6. Karádi, Z., Lukáts, B., Papp, Sz., Lénárd, L. and Takács, G.: Complex -‘endogenous’ and ‘exogenous’ - chemosensitivity is a general characteristic of glucose-monitoring neurons in the rat forebrain. *Appetite* 40: P. 340, 2003.
7. Karádi, Z., Lukáts, B., Papp, Sz., Lénárd, L., Takács, G. and Ságodi, L.: Complex chemical attributes ‘endogenous’ and ‘exogenous’ chemosensitivity of glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. 6th IBRO World Congress, Proceedings, P. , 94. 2003.
8. Karádi, Z., Lukáts, B., Papp, Sz., Lénárd, L. and Takács, G.: Complex - ‘endogenous’ and ‘exogenous’ - chemosensitivity is a general characteristic of glucose-monitoring neurons in the rat forebrain. *Appetite* 40(3): 340, 2003.
9. Karádi, Z., Lukáts, B., Papp, Sz., Takács, G., Egyed, R. and Lénárd, L.: Involvement of the forebrain glucose-monitoring network in the organization of adaptive behavioral actions. IBRO Workshop, Budapest, 2004. 01. 29-31.
10. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, G. Takács, R. Egyed, and L. Lénárd: The central glucose-monitoring neural network: Major protectors of the adaptive homeostatic balance for the well-being of the organism. *Brain IT 2004, ISBS Abstracts*, P.: 59, 2004.
11. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, L. Lénárd, and G. Takács: Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: Electrophysiological and behavioral studies. *ISOT / JASTS 2004*, S1-4-4, P.: 13, 2004.
12. Karádi, Z., B. Lukáts, Sz. Papp, G. Takács, L. Lénárd, R. Egyed, Cs. Szalay, M. Rábai: The forebrain glucose-monitoring neural network: multiple roles in the central homeostatic regulation. *Clinical Neuroscience*, 58, Suppl. 1: 47-48, 2005.
13. Papp, Sz., B. Lukáts, G. Takács, Cs. Szalay, M. Rábai, Z. Karádi: Multiple chemosensitivity of feeding-associated neurons in the limbic forebrain. *Clinical Neuroscience*, 58, Suppl. 74-75, 2005.
14. Papp Sz., Lukáts B., Takács G., Rábai M., Szalay Cs., Karádi Z.: Endogenous and exogenous chemosensitivity of feeding-related limbic neurons. *Acta Physiol. Hung.*, 92 (3-4): 293, 2005.
15. Takács G., Sz. Papp, B. Lukáts, Cs. Szalay, M. Rábai, T. Inui, T. Yamamoto, L. Lénárd, Z. Karádi Taste perception deficit after streptozotocin microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *Acta Physiol. Hung.*, 93(2-3): 234. 2006.
16. Papp Sz., B. Lukáts, G. Takács, Cs. Szalay, M. Rábai, T. Inui, T. Yamamoto, L. Lénárd, Z. Karádi Taste responsive neurons in the limbic forebrain. *Acta Physiol. Hung.*, 93(2-3): 217. 2006.
17. Papp Sz., Inui, T., Takács G., Szalay Cs., Yamamoto T., Lénárd L., Karádi Z.: Taste elicited neuronal activity changes in the limbic forebrain. *Clinical Neuroscience*, 59, Suppl. 1: P. , 2006.

18. Takács G., Inui T., Papp Sz., Szalay Cs., Rábai M., Mészáros L., Yamamoto T., Lénárd L., Karádi Z.: Streptozotocin induced taste perception alteration in the nucleus accumbens of the rat. *Clinical Neuroscience*, 59, Suppl. 1: P. , 2006.
19. Papp, Sz., Lukáts, B., Takács G., Szalay Cs., Yamamoto T., Lénárd L., Karádi Z.: Gustatory responses of limbic forebrain neurons. *FENS A043.13*. P.: 115. 2006.
20. Papp, Sz., Takács, G., Szalay, Cs., Lukáts, B., Rábai, M., Fotakos, D., Karádi, Z.: Complex chemosensitivity of limbic neurons in the rat and monkey forebrain. *Clinical Neuroscience*, 60, Suppl. 1: 51-52, 2007.
21. Karádi, Z., Lukáts, B., Papp, Sz., Takács, G., Szalay, Cs., Rábai, M., Egyed, R. and Lénárd, L.: Homeostatic significance of the forebrain glucose-monitoring neuronal network. *J.Physiol.Sci.* 57(suppl.): S33, 2007.
22. Karádi, Z., Papp, Sz., Szalay, Cs., Lukáts, B., Takács, G., Egyed, R., Rábai, M., Fotakos, D. and Lénárd, L.: Forebrain glucose-monitoring neurons and the regulation of homeostasis. *Obesitol. Hung. (7) 2 Suppl.*: P. 23, 2007.
23. Karádi, Z.: Forebrain glucose-monitoring neurons in the homeostatic control. *Acta Physiol. Hung.*, 94 (4): P.358, 2007.
24. Papp, Sz., Lukáts, B., Takács, G., Szalay, Cs., Rábai, M., Fotakos, D. and Karádi, Z.: Chemosensitive neurons in the nucleus accumbens of the rat and rhesus monkey. *Acta Physiol. Hung.*, 94 (4): P.383, 2007.

Irodalomjegyzék

1. Oomura Y. Input-output organization in the hypothalamus relating to food intake behavior. In Handbook of the hypothalamus. Morgane P, Panksepp J, (editors). New York: Marcel Dekker; 1980. pp. 557-620.
2. Morrison SD, Barnett RJ, Mayer J. Localization of lesions in the lateral hypothalamus of rats with induced adipsia and aphagia. *Am J Physiol* 1958; 193(1):230-234.
3. Montemurro DG, Stevenson JA. Adipsia produced by hypothalamic lesions in the rat. *Can J Biochem Physiol* 1957; 35(1):31-37.
4. Anand BK, Brobeck JR. Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951; 77(2):323-324.
5. Hetherington A, Ranson S. Hypothalamic lesion and adiposity in the rat. *Anat. Rec.* 1940; 78:149-172.
6. Hess W. The functional organization of the diencephalon. Grune and Stratton, New York 1957:180.
7. Hess W. Hypothalamus and Thalamus. Thieme, Stuttgart 1956:70.
8. Millhouse O. A Golgi study of the descending medial forebrain bundle. *Brain Res* 1969; 15:341-363.
9. Morgane PJ, Kosman AJ. Alterations in feline behaviour following bilateral amygdectomy. *Nature* 1957; 180(4586):598-600.
10. Fonberg E, Del Gado JM. Avoidance and alimentary reactions during amygdala stimulation. *J Neurophysiol* 1961; 24:651-664.
11. Mogensen J, Divac I. Behavioural changes after ablation of subdivisions of the rat prefrontal cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 1993; 53(3):439-449.
12. Robertson A, Laferriere A. Disruption of the connections between the mediodorsal and sulcal prefrontal cortices alters the associability of rewarding medial cortical stimulation to place and taste stimuli in rats. *Behav Neurosci* 1989; 103(4):770-778.
13. Eichenbaum H, Clegg RA, Feeley A. Reexamination of functional subdivisions of the rodent prefrontal cortex. *Exp Neurol* 1983; 79(2):434-451.
14. Kolb B, Nonneman AJ. Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 1975; 88(2):806-815.
15. Schoenbaum G, Eichenbaum H. Information coding in the rodent prefrontal cortex. I. Single-neuron activity in orbitofrontal cortex compared with that in pyriform cortex. *J Neurophysiol* 1995; 74(2):733-750.
16. Rolls ET, Yaxley S, Sienkiewicz ZJ. Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 1990; 64(4):1055-1066.
17. Rolls ET. The orbitofrontal cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996; 351(1346):1433-1443; discussion 1443-1434.
18. Rolls ET. Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Crit Rev Neurobiol* 1997; 11(4):263-287.
19. Karádi Z, Faludi B, Hernádi I, Víg J, Lénárd L. Orbitofrontal neurons process both endogenous and exogenous chemical information. Functional Organization of Associate Cortices, Satellite Symposium of the IVth IBRO Congress, Inuyama, Japan 1995:10.
20. Schalomon PM, Robertson AM, Laferriere A. Prefrontal cortex and the relative associability of taste and place cues in rats. *Behav Brain Res* 1994; 65(1):57-65.

21. Hernádi I, Karádi Z, Vígh J, et al. Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull* 2000; 53(6):751-758.
22. Levine MS, Schwartzbaum JS. Sensorimotor functions of the striatopallidal system and lateral hypothalamus and consummatory behavior in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1973; 85(3):615-635.
23. Levine MS, Ferguson N, Kreinick CJ, Gustafson JW, Schwartzbaum JS. Sensorimotor dysfunctions and aphagia and adipsia following pallidal lesions in rats. *J Comp Physiol Psychol* 1971; 77(2):282-293.
24. Lénárd L, Sarkisian J, Szabó I. Sex-dependent survival of rats after bilateral pallidal lesions. *Physiol Behav* 1975; 15(5):389-397.
25. Morgane PJ. Alterations in feeding and drinking behavior of rats with lesions in globi pallidi. *Am J Physiol* 1961; 201:420-428.
26. Lénárd L, Karádi Z, Szabó I, Hahn Z. Pallidal mechanism in the organization of feeding and sensorimotor integration. In *Recent Developments of Neurobiology in Hungary* 1982; 1:79-113.
27. Hahn Z, Karádi Z, Lénárd L. Sex-dependent increase of blood glucose concentration after bilateral pallidal lesion in the rat. *Acta Physiol Hung* 1988; 72(1):99-102.
28. Hahn Z, Lénárd L, Ruppert F. The connection of plasma triiodothyronine levels with the sex-dependent body weight loss after bilateral pallidal lesion in rats. *Acta Physiol Acad Sci Hung* 1979; 53(1):17-22.
29. Grill HJ, Smith GP. Cholecystokinin decreases sucrose intake in chronic decerebrate rats. *Am J Physiol* 1988; 254(6 Pt 2):R853-856.
30. Zaborszky L, Beinfeld MC, Palkovits M, Heimer L. Brainstem projection to the hypothalamic ventromedial nucleus in the rat: a CCK-containing long ascending pathway. *Brain Res* 1984; 303(2):225-231.
31. Inagaki S, Shiotani Y, Yamano M, 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):1289-1299.
32. Ahlskog JE, Hoebel BG. Overeating and obesity from damage to a noradrenergic system in the brain. *Science* 1973; 182(108):166-169.
33. Ungerstedt U. Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiol Scand Suppl* 1971; 367:95-122.
34. Marshall JF, Richardson JS, Teitelbaum P. Nigrostriatal bundle damage and the lateral hypothalamic syndrome. *J Comp Physiol Psychol* 1974; 87(5):808-830.
35. Lénárd L. Sex-dependent body weight loss after bilateral 6-hydroxydopamine injection into the globus pallidus. *Brain Res* 1977; 128(3):559-568.
36. Lénárd L, Hahn Z. Amygdalar noradrenergic and dopaminergic mechanisms in the regulation of hunger and thirst-motivated behavior. *Brain Res* 1982; 233(1):115-132.
37. Lénárd L, Hahn Z, Karádi Z. Body weight changes after neurochemical manipulations of lateral amygdala: noradrenergic and dopaminergic mechanisms. *Brain Res* 1982; 249(1):95-101.
38. Beckstead RM, Domesick VB, Nauta WJ. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Res* 1979; 175(2):191-217.
39. Oades R, Halliday G. Ventral temental (A10) system: neurobiology. *Brain Res Rev* 1987; 12:117-165.

40. Radhakishun FS, van Ree JM, Westerink BH. Scheduled eating increases dopamine release in the nucleus accumbens of food-deprived rats as assessed with on-line brain dialysis. *Neurosci Lett* 1988; 85(3):351-356.
41. Hernandez L, Hoebel BG. Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiol Behav* 1988; 44(4-5):599-606.
42. Sawaya MC, Dolphin A, Jenner P, Marsden CD, Meldrum BS. Noradrenaline-sensitive adenylate cyclase in slices of mouse limbic forebrain: characterisation and effect of dopaminergic agonists. *Biochem Pharmacol* 1977; 26(20):1877-1884.
43. Nurse B, Russell VA, Taljaard JJ. Effect of chronic desipramine treatment on adrenoceptor modulation of [3H]dopamine release from rat nucleus accumbens slices. *Brain Res* 1985; 334(2):235-242.
44. Norgren R. Central neural mechanisms of taste. In: Darien-Smith, I.; (section ed. Brookhart, J.M, eds. *Handbook of Physiology, The Nervous System III, Sensory Processes 1*. Washington D.C.: American Physiological Society 1984:1087-1128.
45. Norgren R, Leonard CM. Taste pathways in rat brainstem. *Science* 1971; 173(2):1136-1139.
46. Rolls ET. Information processing in the taste system of primates. *J Exp Biol* 1989; 146:141-164.
47. Norgren R, Pfaffmann C. The pontine taste area in the rat. *Brain Res* 1975; 91(1):99-117.
48. Norgren R, Wolf G. Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the rat. *Brain Res* 1975; 92(1):123-129.
49. Ogawa H, Hasegawa K, Otawa S, Nakamura T. Taste information processing in the insular cortex of rats. In: Kurihara, K. et al., eds. *Olfaction and Taste XI.*, Springer Verlag 1994:405-408.
50. Bures J, Buresova O. Conditioned taste aversion elicited by intracerebral administration of drugs. *Acta Physiol Hung* 1989; 74(1):77-93.
51. Karádi Z, Hernádi I, Faludi B, et al. Deficits of neophobia and conditioned taste aversion after kainate microlesions in the globus pallidus of the rat. *Neurobiology* 1994; 2(1):68.
52. Karádi Z, Lénárd L, Hahn Z, Jandó G. Role of the amygdalar catecholaminergic systems in the conditioned taste aversion of the rats. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* 1985; 66:259.
53. Norgren R. Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J Comp Neurol* 1976; 166(1):17-30.
54. Norgren R, Leonard CM. Ascending central gustatory pathways. *J Comp Neurol* 1973; 150(2):217-237.
55. Yamamoto T, Azuma S, Kawamura Y. Significance of cortical-amygdalar-hypothalamic connections in retention of conditional taste aversion in rats. *Exp Neurol* 1981; 74(3):758-768.
56. Yamamoto T, Fujimoto Y. Brain mechanisms of taste aversion learning in the rat. *Brain Res Bull* 1991; 27(3-4):403-406.
57. Rolls ET, Scott TR, Sienkiewicz ZJ, Yaxley S. The responsiveness of neurons in the frontal opercular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger. *J. Physiol. Lond.* 1988; 397:1-12.
58. Yaxley S, Rolls ET, Sienkiewicz ZJ. Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 1990; 63(4):689-700.

59. Rolls ET, Sienkiewicz ZJ, Yaxley S. Hunger Modulates the Responses to Gustatory Stimuli of Single Neurons in the Caudolateral Orbitofrontal Cortex of the Macaque Monkey. *Eur J Neurosci* 1989; 1(1):53-60.
60. Karádi Z, Lukáts B, Papp S, et al. Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chemical Senses* 2005; 30:168-169.
61. Karádi Z, Oomura Y, Scott T, Nishino H. Gustatory coding of lateral hypothalamic and amygdaloid glucose-sensitive and insensitive neurons in the rhesus monkey. In: Kawamura, Y. ed *Proc. Umami Forum, SRUT, Tokyo* 1989:45-58.
62. Karádi Z, Oomura Y, Nishino H, Scott TR, Lénárd L, Aou S. Lateral hypothalamic and amygdaloid neuronal responses to chemical stimuli in the rhesus monkey. In: H. Morita. (Ed.), *Proceedings 22nd Japanese Symposium on Taste and Smell* 1988:121-124.
63. Karádi Z, Scott TR, Oomura Y, Nishino H, Aou S, Lénárd L. Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 855:488-492.
64. Scott TR, Karádi Z, Oomura Y, et al. Gustatory neural coding in the amygdala of the alert macaque monkey. *J Neurophysiol* 1993; 69(6):1810-1820.
65. Karádi Z, Faludi B, Czurkó A, Niedetzky C, Lénárd L. Gustatory and olfactory responses of chemosensitive pallidal neurons. In K. Kurihara, N. Suzuki, H. Ogawa, (Eds.), *Olfaction and Taste IX*. 1994:357-358.
66. Karádi Z, Oomura Y, Nishino H, Scott TR, Lénárd L, Aou S. Complex attributes of lateral hypothalamic neurons in the regulation of feeding of alert rhesus monkeys. *Brain Res Bull* 1990; 25(6):933-939.
67. Karádi Z, Oomura Y, Nishino H, Scott TR, Lénárd L, Aou S. Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. *J Neurophysiol* 1992; 67(2):389-400.
68. Karádi Z, Faludi B, Lénárd L, et al. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. *Brain Res Bull* 1995; 37(2):157-162.
69. Rolls ET, Murzi E, Yaxley S, Thorpe SJ, Simpson SJ. Sensory-specific satiety: food-specific reduction in responsiveness of ventral forebrain neurons after feeding in the monkey. *Brain Res* 1986; 368(1):79-86.
70. Mayer J. Regulation and energy intake and the body weight. The glucostatic theory and the lipostatic mechanism. *Annals New York Academy of Sciences* 1955; 63:15-49.
71. Oomura Y, Ono T, Ooyama H, Wayner MJ. Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature* 1969; 222(190):282-284.
72. Oomura Y, Yoshimatsu H. Neural network of glucose monitoring system. *J Auton Nerv Syst* 1984; 10(3-4):359-372.
73. Nakano Y, Oomura Y, Lénárd L, et al. Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala. *Brain Res* 1986; 399(1):167-172.
74. Anand BK, Chhina GS, Sharma KN, Dua S, Singh B. Activity of single neurons in the hypothalamic feeding centers: effect of glucose. *Am. J. Physiol.* 1964; 207(5):1146-1154.
75. Lénárd L, Karádi Z, Faludi B, et al. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res Bull* 1995; 37(2):149-155.

76. Karádi Z, Lukáts B, Papp S, Takács G, Egyed R, Lénárd L. The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. *International Congress Series* 2004; 1269:30-33.
77. Levin BE. Metabolic sensors: viewing glucosensing neurons from a broader perspective. *Physiol Behav* 2002; 76(3):397-401.
78. 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. *Neurosci Lett* 1984; 46(2):215-218.
79. Oomura Y, Ooyama H, Sugimori N, Nakamura T, Yamada Y. Glucose inhibition of the glucose-sensitive neurons in the lateral hypothalamus. *Nature* 1974; 247:284-286.
80. Karádi Z, Lukáts B, Hernádi I, et al. Complex attributes of chemosensory neurons in the nucleus accumbens of the rat. *Neurobiology* 2002:9-10.
81. Karádi Z, Lukáts B, Papp S, Szalay C, Göde J, Lénárd L. New sites of the central glucose-monitoring system: The nucleus accumbens and the mediodorsal prefrontal cortex. *Pathophysiol. Suppl.* 2002.
82. Karádi Z, Faludi B, Hernádi I, Lénárd L. Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: II. Complex functional attributes. *Neurobiology (Bp)* 1995; 3(3-4):241-256.
83. Karádi Z, Egyed R, Hernádi I, Lukáts B, Lénárd L. Integrative processing of endogenous and exogenous chemical signals by glucose-monitoring neurons of the primate orbitofrontal cortex. *Appetite* 1998; 31(2):263.
84. Lénárd L, Karádi Z, Faludi B, Hernádi I. Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: I. Behavioral properties and neurotransmitter sensitivities. *Neurobiology (Bp)* 1995; 3(3-4):223-239.
85. Adachi A, Kobashi M. Convergence of hepatic gluco- and osmoresponsive inputs on chemoresponsive units in the medulla oblongata of rat. In: Oomura, Y., ed. *Emotions, Neuronal and Chemical Control*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press 1986:103-113.
86. Lénárd L, Faludi B, Karádi Z, Czurkó A, Vida I, Niedetzky C. Responses of pallidal neurons to microelectrophoretically applied glucose and neurochemicals. In *The Basal Ganglia IV*. Percheron G, McKenzie JS, Féger J, (editors). New York: Plenum Press; 1994. pp. 239-244.
87. Hanai K, Oomura Y, Kai Y, et al. Central action of acidic fibroblast growth factor in feeding regulation. *Am J Physiol* 1989; 256(1 Pt 2):R217-223.
88. Inokuchi A, Oomura Y, Shimizu N, Yamamoto T. Central action of glucagon in rat hypothalamus. *Am J Physiol* 1986; 250(1 Pt 2):R120-126.
89. Ishibashi S, Oomura Y, Okajima T. Facilitatory and inhibitory effects of TRH on lateral hypothalamic and ventromedial neurons. *Physiol Behav* 1979; 22(4):785-787.
90. Shimizu N, Oomura Y. Calcitonine-induced anorexia in rats: evidence for its inhibitory action on lateral hypothalamic chemosensitive neurons. *Brain Res. Bull.* 1986; 367:128-140.
91. Aou S, Oomura Y, Lénárd L, et al. Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain Res* 1984; 302(1):69-74.
92. Karádi Z, Oomura Y, Nishino H, Aou S. Olfactory coding in the monkey lateral hypothalamus: behavioral and neurochemical properties of odor-responding neurons. *Physiol Behav* 1989; 45(6):1249-1257.

93. Lénárd L, Oomura Y, Nishino H, Aou S, Nakano Y, Yamamoto Y. Activity in monkey lateral hypothalamus during operant feeding: food intake in rats. Tokyo: Japan Scientific Societies Press 1986:45-55.
94. Nishino H, Oomura Y, Karádi Z, et al. Internal and external information processing by lateral hypothalamic glucose-sensitive and insensitive neurons during bar press feeding in the monkey. *Brain Res Bull* 1988; 20(6):839-845.
95. Oomura Y. Modulation of prefrontal and hypothalamic activity by chemical senses in the chronic monkey. In *Umami: A basic taste*. Kawamura Y, Kam MR, (editors). New York: Marcel Dekker Inc.; 1987. pp. 481-509.
96. Maldonado-Irizarry CS, Kelley AE. 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):551-559.
97. Yasoshima Y, Scott TR, Yamamoto T. Memory-dependent c-Fos expression in the nucleus accumbens and extended amygdala following the expression of a conditioned taste aversive in the rat. *Neuroscience* 2006; 141(1):35-45.
98. Mark GP, Weinberg JB, Rada PV, Hoebel BG. Extracellular acetylcholine is increased in the nucleus accumbens following the presentation of an aversively conditioned taste stimulus. *Brain Res* 1995; 688(1-2):184-188.
99. Kelley AE. Neural integrative activities of nucleus accumbens subregions in relation to learning and motivation. *Psychobiology* 1999; 27:198-213.
100. 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(3):321-352.
101. Kelley AE, Baldo BA, Pratt WE, Will MJ. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: integration of energy, action and reward. *Physiol Behav* 2005; 86(5):773-795.
102. Groenewegen HJ, Russchen FT. Organization of the efferent projections of the nucleus accumbens to pallidal, hypothalamic, and mesencephalic structures: a tracing and immunohistochemical study in the cat. *J Comp Neurol* 1984; 223(3):347-367.
103. Brog JS, Salyapongse A, Deutch AY, Zahm DS. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J Comp Neurol* 1993; 338(2):255-278.
104. Zahm DS, Jensen SL, Williams ES, Martin JR, 3rd. Direct comparison of projections from the central amygdaloid region and nucleus accumbens shell. *Eur J Neurosci* 1999; 11(4):1119-1126.
105. Matschinsky FM. Glucokinase as glucose sensor and metabolic signal generator in pancreatic beta-cells and hepatocytes. *Diabetes* 1990; 39(6):647-652.
106. Jetton TL, Liang Y, Pettepher CC, et al. Analysis of upstream glucokinase promoter activity in transgenic mice and identification of glucokinase in rare neuroendocrine cells in the brain and gut. *J Biol Chem* 1994; 269(5):3641-3654.
107. Jetton TL, Postic C, Niswender KD, Moates MJ, Magnuson MA. Glucokinase in extrapancreatic neural and neuroendocrine cells. In: Baba, S. & Kaneko, T. eds. *Diabetes* 1994, Elsevier, Amsterdam 1994:193-197.
108. Ashford ML, Boden PR, Treherne JM. Glucose-induced excitation of hypothalamic neurones is mediated by ATP-sensitive K⁺ channels. *Pflugers Arch* 1990; 415(4):479-483.

109. Dunn-Meynell AA, Rawson NE, Levin BE. Distribution and phenotype of neurons containing the ATP-sensitive K⁺ channel in rat brain. *Brain Res* 1998; 814(1-2):41-54.
110. Spanswick D, Smith MA, Groppi VE, Logan SD, Ashford ML. Leptin inhibits hypothalamic neurons by activation of ATP-sensitive potassium channels. *Nature* 1997; 390(6659):521-525.
111. Kasanicki MA, Pilch PF. Regulation of glucose-transporter function. *Diabetes Care* 1990; 13(3):219-227.
112. Korányi L, Bourey R, James H. Glucose transporter gene expression in rat brain; pretranslational changes associated with chronic insulin induced hypoglycemia, fasting and diabetes. *Molecular & Cellular Neurosci.* 1991; 2:244-252.
113. Thorens B, Charron MJ, Lodish HF. Molecular physiology of glucose transporters. *Diabetes Care* 1990; 13(3):209-218.
114. Yano H, Seino Y, Inagaki N, et al. Tissue distribution and species difference of the brain type glucose transporter (GLUT3). *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 174(2):470-477.
115. Nagamatsu S, Kornhauser JM, Burant CF, Seino S, Mayo KE, Bell GI. Glucose transporter expression in brain. cDNA sequence of mouse GLUT3, the brain facilitative glucose transporter isoform, and identification of sites of expression by in situ hybridization. *J Biol Chem* 1992; 267(1):467-472.
116. Maher F, Simpson IA, Vannucci SJ. Alterations in brain glucose transporter proteins, GLUT1 and GLUT3, in streptozotocin diabetic rats. *Adv Exp Med Biol* 1993; 331:9-12.
117. Kobayashi M, Nikami H, Morimatsu M, Saito M. Expression and localization of insulin-regulatable glucose transporter (GLUT4) in rat brain. *Neurosci Lett* 1996; 213(2):103-106.
118. Rayner DV, Thomas ME, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUTs 1-4) and their mRNAs in regions of the rat brain: insulin-sensitive transporter expression in the cerebellum. *Can J Physiol Pharmacol* 1994; 72(5):476-479.
119. Choeiri C, Staines W, Messier C. Immunohistochemical localization and quantification of glucose transporters in the mouse brain. *Neuroscience* 2002; 111(1):19-34.
120. Leloup C, Arluison M, Lepetit N, et al. Glucose transporter 2 (GLUT 2): expression in specific brain nuclei. *Brain Res* 1994; 638(1-2):221-226.
121. Li B, Xi X, Roane DS, Ryan DH, Martin RJ. Distribution of glucokinase, glucose transporter GLUT2, sulfonylurea receptor-1, glucagon-like peptide-1 receptor and neuropeptide Y messenger RNAs in rat brain by quantitative real time RT-PCR. *Brain Res Mol Brain Res* 2003; 113(1-2):139-142.
122. Arluison M, Quignon M, Nguyen P, Thorens B, Leloup C, Penicaud L. Distribution and anatomical localization of the glucose transporter 2 (GLUT2) in the adult rat brain--an immunohistochemical study. *J Chem Neuroanat* 2004; 28(3):117-136.
123. Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science* 1976; 193(4251):415-417.
124. Rakieten N, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep* 1963; 29:91-98.
125. Garwey WT, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ. Pretranslational suppression of an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science* 1989; 245:60-63.

126. Kadowaki T, Kasuga M, Akanuma Y, Ezaki O, Takaku F. Decreased autophosphorylation of the insulin receptor-kinase in streptozotocin-diabetic rats. *J Biol Chem* 1984; 259(22):14208-14216.
127. Matkovics B, Kotormán M, Varga IS, Hai DQ, Varga C. Oxidative stress in experimental diabetes induced by streptozotocin. *Acta Physiol Hung* 1997; 85(1):29-38.
128. Wilson GL, Leiter EH. Streptozotocin interactions with pancreatic beta cells and the induction of insulin-dependent diabetes. *Curr Top Microbiol Immunol* 1990; 156:27-54.
129. Ding A, Nitsch R, Hoyer S. Changes in brain monoaminergic neurotransmitter concentrations in rat after intracerebroventricular injection of streptozotocin. *J Cereb Blood Flow Metab* 1992; 12(1):103-109.
130. Duelli R, Schrock H, Kuschinsky W, Hoyer S. Intracerebroventricular injection of streptozotocin induces discrete local changes in cerebral glucose utilization in rats. *Int J Dev Neurosci* 1994; 12(8):737-743.
131. Nitsch R, Mayer G, Hoyer S. The intracerebroventricularly streptozotocin-treated rat: Impairment of cerebral glucose metabolism resembles the alterations of carbohydrate metabolism of the brain in Alzheimer's disease. *J. Neural Transmission* 1989; 1:109-110.
132. Plaschke K, Hoyer S. Action of the diabetogenic drug streptozotocin on glycolytic and glycogenolytic metabolism in adult rat brain cortex and hippocampus. *Int J Dev Neurosci* 1993; 11(4):477-483.
133. Karádi Z, Egyed R, Friedszám E, Lukáts B. Streptozotocin: A specific modulator (and diabetes inducing toxin) of forebrain glucose-monitoring neurons. *Appetite* 1998; 31(2):269-270.
134. Voorn P, Gerfen CR, Groenewegen HJ. Compartmental organization of the ventral striatum of the rat: immunohistochemical distribution of enkephalin, substance P, dopamine, and calcium-binding protein. *J Comp Neurol* 1989; 289(2):189-201.
135. Meredith G, Wouterlood F. Synaptic organization of nucleus accumbens (ventral striatum). In: Bernardi G et al. (eds) *The Basal Ganglia III*. Plenum Press, New York 1990:167-176.
136. Bolam JP, Wainer BH, Smith AD. Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy. *Neuroscience* 1984; 12(3):711-718.
137. Butcher LL, Hodge GK. Postnatal development of acetylcholinesterase in the caudate-putamen nucleus and substantia nigra of rats. *Brain Res* 1976; 106(2):223-240.
138. Graybiel AM. Compartmental organization of the mammalian striatum. *Prog Brain Res* 1983; 58:247-256.
139. Gerfen CR, Baimbridge KG, Miller JJ. The neostriatal mosaic: compartmental distribution of calcium-binding protein and parvalbumin in the basal ganglia of the rat and monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; 82(24):8780-8784.
140. Gerfen CR, Young WS, 3rd. Distribution of striatonigral and striatopallidal peptidergic neurons in both patch and matrix compartments: an in situ hybridization histochemistry and fluorescent retrograde tracing study. *Brain Res* 1988; 460(1):161-167.
141. Zahm DS, Heimer L. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat: I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distributions of

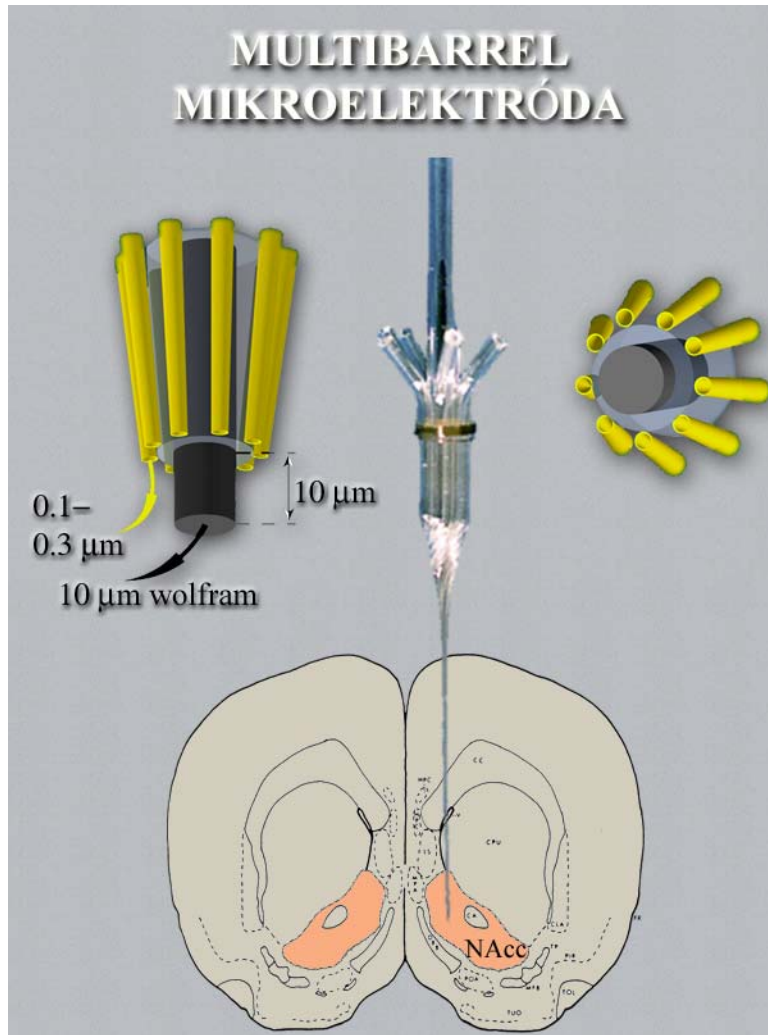
- neurotensin and substance P immunoreactivity. *J Comp Neurol* 1988; 272(4):516-535.
142. Meredith GE, Blank B, Groenewegen HJ. The distribution and compartmental organization of the cholinergic neurons in nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 1989; 31(2):327-345.
 143. Chang HT, Kitai ST. Projection neurons of the nucleus accumbens: an intracellular labeling study. *Brain Res* 1985; 347(1):112-116.
 144. Bolam JP, Somogyi P, Totterdell S, Smith AD. A second type of striatonigral neuron: a comparison between retrogradely labelled and Golgi-stained neurons at the light and electron microscopic levels. *Neuroscience* 1981; 6(11):2141-2157.
 145. Zahm DS. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24(1):85-105.
 146. Berendse HW, Groenewegen HJ. Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat. *Neuroscience* 1991; 42(1):73-102.
 147. Berendse HW, Voorn P, te Kortschot A, Groenewegen HJ. Nuclear origin of thalamic afferents of the ventral striatum determines their relation to patch/matrix configurations in enkephalin-immunoreactivity in the rat. *J Chem Neuroanat* 1988; 1(1):3-10.
 148. Bouyer JJ, Joh TH, Pickel VM. Ultrastructural localization of tyrosine hydroxylase in rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 1984; 227(1):92-103.
 149. Totterdell S, Smith AD. Convergence of hippocampal and dopaminergic input onto identified neurons in the nucleus accumbens of the rat. *J Chem Neuroanat* 1989; 2(5):285-298.
 150. Angulo JA, McEwen BS. Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the corpus striatum and nucleus accumbens. *Brain Res Brain Res Rev* 1994; 19(1):1-28.
 151. Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS. Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 1989; 28(3):585-610.
 152. Dahlstroem A, Fuxe K. Evidence for the Existence of Monoamine-Containing Neurons in the Central Nervous System. I. Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. *Acta Physiol Scand Suppl* 1964:SUPPL 232:231-255.
 153. Carlsson A, Dahlstroem A, Fuxe K, Lindqvist M. Histochemical and Biochemical Detection of Monoamine Release from Brain Neurons. *Life Sci* 1965; 4:809-816.
 154. Ungerstedt U, Arbuthnott GW. Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res* 1970; 24(3):485-493.
 155. Dray A. The striatum and substantia nigra: a commentary on their relationships. *Neuroscience* 1979; 4(10):1407-1439.
 156. Heimer L, Wilson R. The subcortical projections of the allocortex: similarities in the neuronal associations of the hippocampus, the piriform cortex and the neocortex. In: Santini, M., (ed) *Golgi Centennial Symposium*, Raven, New York 1975:177-193.
 157. Stratford TR, Kelley AE. GABA in the nucleus accumbens shell participates in the central regulation of feeding behavior. *J Neurosci* 1997; 17(11):4434-4440.

158. Mendoza J, Angeles-Castellanos M, Escobar C. Differential role of the accumbens Shell and Core subterritories in food-entrained rhythms of rats. *Behav Brain Res* 2005; 158(1):133-142.
159. Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1988; 85:5247-5278.
160. Carboni E, Imperato A, Perezzi L, Di Chiara G. Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuroscience* 1989; 28(3):653-661.
161. Panula P, Yang HY, Costa E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81(8):2572-2576.
162. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. *Annu Rev Neurosci* 1986; 9:357-381.
163. Zahm DS, Brog JS. On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* 1992; 50(4):751-767.
164. Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol* 1980; 14(2-3):69-97.
165. Neafsey EJ. Prefrontal cortical control of the autonomic nervous system: anatomical and physiological observations. *Prog Brain Res* 1990; 85:147-165; discussion 165-146.
166. Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. Plenum Press: New York, 1979.
167. Snider S, Lee JC. *A Stereotaxic Atlas of the Monkey Brain (Macaca mulatta)*. University of Chicago Press: Chicago, 1961.
168. Curtis DR. Microelectrophoresis in "Physical Technics in Biological Research". In *Electrophysiological Methods*. New York, London: Academic Press; 1964. pp. 144-190.
169. Bloom FE. To spritz or not to spritz: the doubtful value of aimless iontophoresis. *Life Sciences*. 1974; 14(10):1819-1834.
170. Kelly JS. Microiontophoretic application of drugs onto single neurons. In *Handbook of Psychopharmacology, Vol. 2*. Iversen LL, Iversen SH, Snyder SD, (editors). New York: Plenum Press; 1975. pp. 29-67.
171. Purves RD. *Microelectrode methods for intracellular recording and iontophoresis*. Elsevier Science & Technology Books, 1981.
172. Moscowits H, Kumraiah V, Sharma K, Jacobs H, Sharma S. Effects of hunger, satiety and glucose load upon taste intensity and taste hedonics. *Physiol. Behav.* 1976; 16:471-475.
173. Yamaguchi S. Basic properties of umami and its effects on food flavor. *Food Reviews International* 1998; 14:139-176.
174. Grill HJ, Norgren R. The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Res* 1978; 143(2):263-279.
175. Karádi Z, Faludi B, Hernádi I, Lénárd L. Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: II. Complex functional attributes. *Neurobiology* 1995; 3(3-4):241-256.
176. Mark GP, Blander DS, Hoebel BG. A conditioned stimulus decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens after the development of a learned taste aversion. *Brain Res* 1991; 551(1-2):308-310.

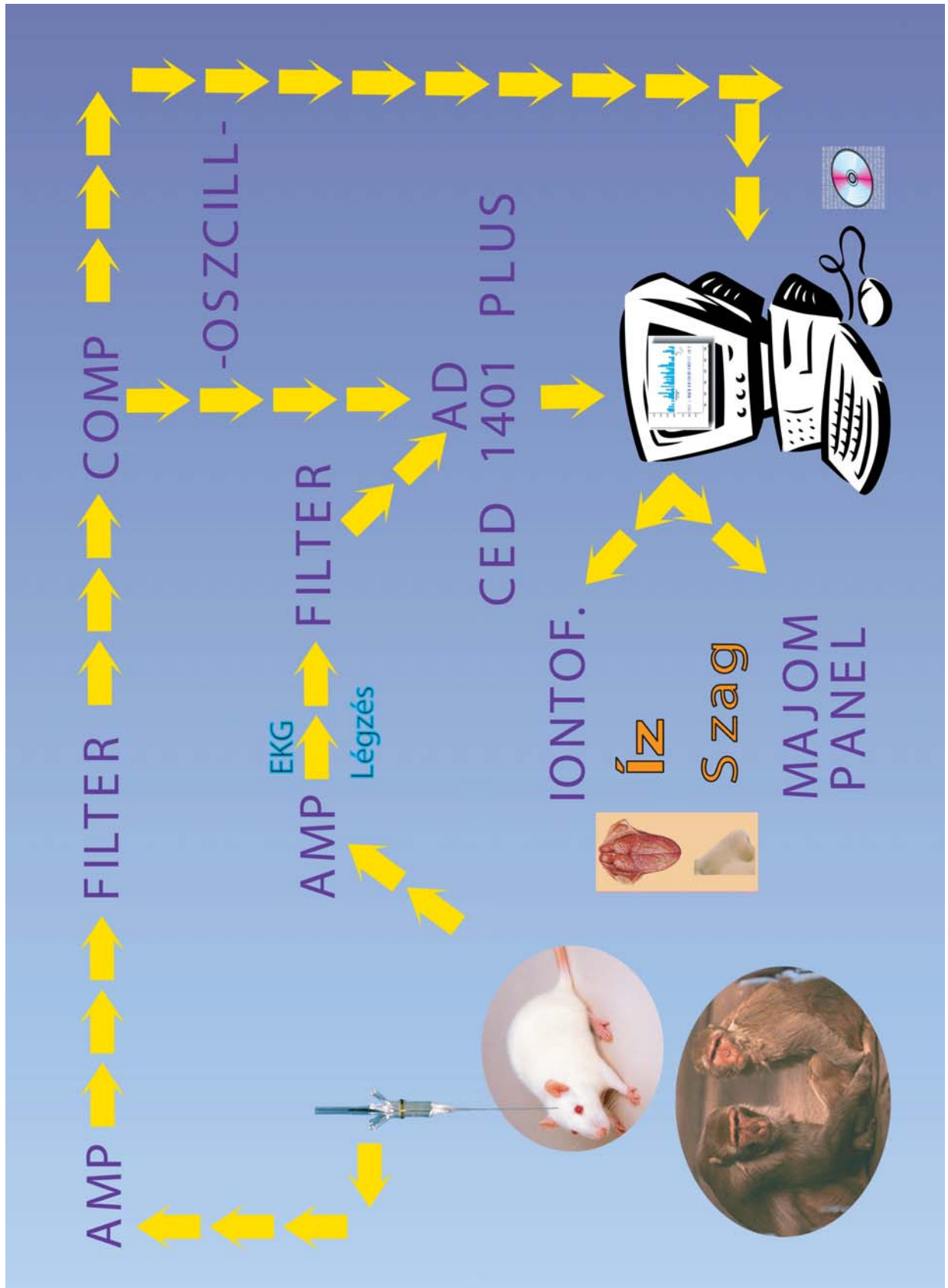
177. Fenu S, Bassareo V, Di Chiara G. A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. *J Neurosci* 2001; 21(17):6897-6904.
178. Kelley AE. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 27(8):765-776.
179. Stratford TR, Kelley AE. Evidence of a functional relationship between the nucleus accumbens shell and lateral hypothalamus subserving the control of feeding behavior. *J Neurosci* 1999; 19(24):11040-11048.
180. Meredith GE, Pattiselanno A, Groenewegen HJ, Haber SN. Shell and core in monkey and human nucleus accumbens identified with antibodies to calbindin-D28k. *J Comp Neurol* 1996; 365(4):628-639.
181. Ungerstedt U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol Scand Suppl* 1971; 367:1-48.
182. Broekkamp CL, Van Rossum JM. The effect of microinjections of morphine and haloperidol into the neostriatum and the nucleus accumbens on self-stimulation behaviour. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1975; 217(1):110-117.
183. Lyness WH, Friedle NM, Moore KE. Destruction of dopaminergic nerve terminals in nucleus accumbens: effect on d-amphetamine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav* 1979; 11(5):553-556.
184. Lénárd L, Hernandez L, Hoebel BG. Self-injection of amphetamine directly into the nucleus accumbens. *Proc IUPS, XIV*:545., No2217 1980.
185. Hoebel BG, Monaco AP, Hernandez L, Aulisi EF, Stanley BG, Lénárd L. Self-injection of amphetamine directly into the brain. *Psychopharmacology (Berl)* 1983; 81(2):158-163.
186. Roberts DC, Corcoran ME, Fibiger HC. On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine. *Pharmacol Biochem Behav* 1977; 6(6):615-620.
187. Shippenberg TS, Herz A. Place preference conditioning reveals the involvement of D1-dopamine receptors in the motivational properties of mu- and kappa-opioid agonists. *Brain Res* 1987; 436(1):169-172.
188. Shippenberg TS, Herz A. Motivational effects of opioids: influence of D-1 versus D-2 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 1988; 151(2):233-242.
189. Ramaswamy C, Ghosh S, Vasudev R. Alteration of preference of food substances in terms of taste & nutritional value following the lesion of two subdistricts of nucleus accumbens. *Indian J Med Res* 1998; 108:139-144.
190. Ramaswamy C, Ghosh B, Vasudev R. Regulatory role of nucleus accumbens in the ingestion of sucrose and saccharine. *Indian J Exp Biol* 1998; 36(8):820-823.
191. Kelley AE, Bakshi VP, Haber SN, Steininger TL, Will MJ, Zhang M. Opioid modulation of taste hedonics within the ventral striatum. *Physiol Behav* 2002; 76(3):365-377.
192. Hajnal A, Smith GP, Norgren R. Oral sucrose stimulation increases accumbens dopamine in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286(1):R31-37.
193. Hajnal A, Norgren R. Taste pathways that mediate accumbens dopamine release by sapid sucrose. *Physiol Behav* 2005; 84(3):363-369.
194. Norgren R, Hajnal A, Mungarndee SS. Gustatory reward and the nucleus accumbens. *Physiol Behav* 2006; 89(4):531-535.
195. Ramirez-Lugo L, Nunez-Jaramillo L, Bermudez-Rattoni F. Taste memory formation: role of nucleus accumbens. *Chem Senses* 2007; 32(1):93-97.

196. Mortimore GE, Poso AR, Lardeux BR. Mechanism and regulation of protein degradation in liver. *Diabetes Metab Rev* 1989; 5(1):49-70.
197. Krettek JE, Price JL. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 1977; 171(2):157-191.
198. Puhakainen I, Koivisto VA, Yki-Jarvinen H. Lipolysis and gluconeogenesis from glycerol are increased in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75(3):789-794.
199. Reed MJ, Meszaros K, Entes LJ, et al. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* 2000; 49(11):1390-1394.
200. Tavangar K, Murata Y, Pedersen ME, Goers JF, Hoffman AR, Kraemer FB. Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat. *J Clin Invest* 1992; 90(5):1672-1678.
201. Friedman DP, Aggleton JP, Saunders RC. Comparison of hippocampal, amygdala, and perirhinal projections to the nucleus accumbens: combined anterograde and retrograde tracing study in the Macaque brain. *J Comp Neurol* 2002; 450(4):345-365.

Függelék

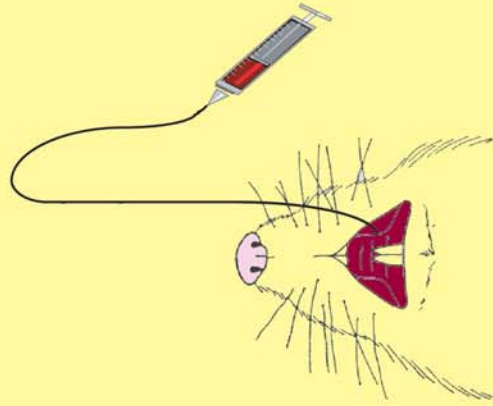


1. ábra

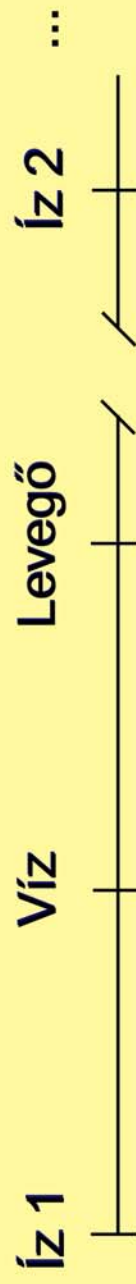


2. ábra

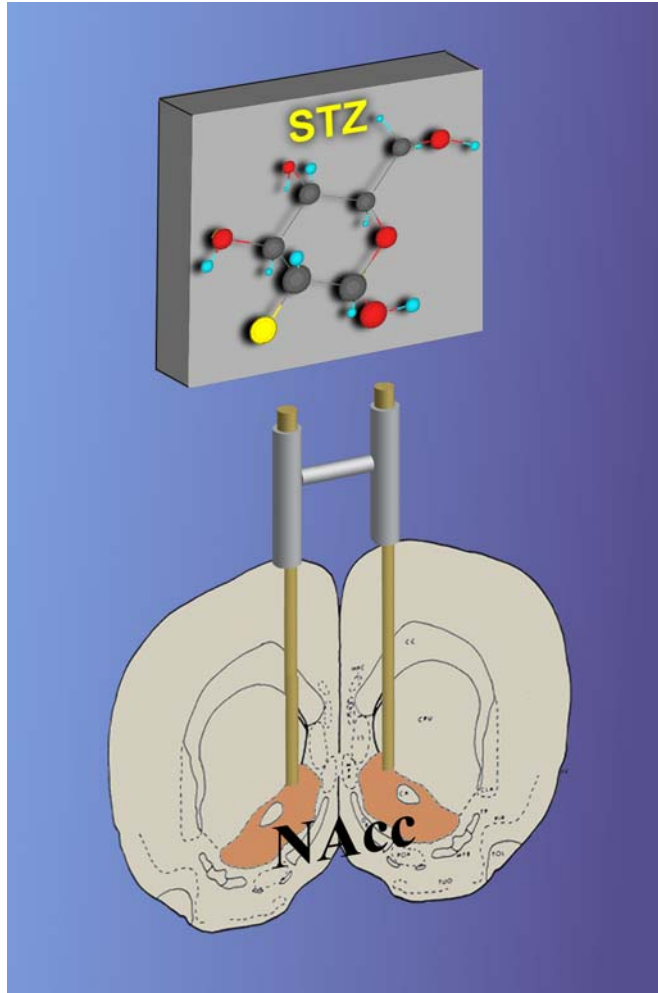
Íz-ingerlés :



Narancslé	10%, 25%
Szukróz	0.1M, 0.3M
QHCl	0.001M, 0.003M
NaCl	0.1M, 0.3M
HCl	0.01M, 0.03M
MSG	0.1M, 0.3M



3. ábra



4. ábra

