

Műszaki és informatikai fejlesztések a nucleus accumbens és az orbitofrontalis kéreg glukóz-monitorozó neuronjainak vizsgálatában

Doktori (Ph.D.) értekezés

Dr. Szabó István

Témavezető:

Dr. Karádi Zoltán

Doktori Iskola vezetője:

Dr. Szekeres Júlia

Programvezető:

Dr. Karádi Zoltán

Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettani Intézet

Pécs

2019

Tartalom

Rövidítések	4
1. Bevezetés	6
2. Irodalmi háttér	7
2.1. A táplálékfelvétel szabályozása.....	7
2.1.1. Főbb struktúrák	7
2.1.2. Főbb pályarendszerek	8
2.1.3. Az íz-érzékelés	9
2.1.3.1. Az ízlelés szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában.....	9
2.1.3.2. A központi íz-információ feldolgozás	9
2.1.4. A központi glukóz-monitorozó neuronhálózat	10
2.1.4.1. Glukóz-monitorozó neuronok	10
2.1.4.2. Streptozotocin.....	11
2.2. A nucleus accumbens anatómiai és funkcionális jellemzői	12
2.2.1. A nucleus accumbens felépítése és anatómiai kapcsolatai	12
2.2.2. A nucleus accumbens funkciói	13
2.3. Az orbitofrontalis kéreg anatómiai és funkcionális jellemzői.....	14
2.3.1. Az orbitofrontalis kéreg felépítése és anatómiai kapcsolatai.....	14
2.3.2. Az orbitofrontalis kéreg funkciói.....	15
3. Célkitűzések.....	16
4. Kísérletek.....	17
4.1. Módszerek	17
4.1.1. Alanyok.....	17
4.1.2. Elektrofiziológiai vizsgálatok	17
4.1.2.1. Műtét.....	17
4.1.2.2. Mikroelektróda	18
4.1.2.3. Jelfeldolgozás	19
4.1.2.4. Mikroiontoforézis	31
4.1.2.5. Neurokémiai vizsgálatok	37
4.1.2.6. Intraorális íz-ingerlés.....	38
4.1.2.7. Intragasztrikus infúzió.....	42
4.1.2.8. Elvezetési pontok jelölése.....	44
4.1.2.9. Szövettan.....	44

4.1.2.10. Adatok elemzése.....	44
4.1.2.10.1. On-line elemzés.....	44
4.1.2.10.2. Off-line elemzés.....	45
4.1.3. Metabolikus és magatartási vizsgálatok.....	47
4.1.3.1. Műtét.....	47
4.1.3.2. Mikroinjekció.....	48
4.1.3.3. Metabolikus vizsgálatok.....	49
4.1.3.3.1. Intraperitonealis glukóz tolerancia teszt.....	49
4.1.3.3.2. Metabolitok plazmaszintjének mérése.....	50
4.1.3.4. Magatartási vizsgálatok.....	51
4.1.3.4.1. Kondicionált íz-averzió vizsgálata.....	51
4.1.3.4.2. Íz-reaktivitási teszt.....	52
4.1.3.5. Szövettani vizsgálat.....	54
4.1.3.6. Az adatok statisztikai értékelése.....	54
4.2. A nucleus accumbens vizsgálatok eredményei.....	55
4.2.1. Elektrofiziológiai eredmények.....	55
4.2.1.1. Neurokémiai vizsgálatok.....	55
4.2.1.2. Intraorális íz-ingerlés.....	57
4.2.1.3. Intragasztrikus ingerlés.....	60
4.3. Orbitofrontalis kérgi vizsgálatok eredményei.....	62
4.3.1. Elektrofiziológiai eredmények.....	62
4.3.1.1. Neurokémiai vizsgálatok.....	62
4.3.1.2. Intraorális íz-ingerlés.....	65
4.3.1.3. Intragasztrikus ingerlés.....	66
4.3.2. Metabolikus változások.....	67
4.3.2.1. Vércukorszint változások.....	67
4.3.2.2. Plazma metabolit eltérések.....	69
4.3.3. Magatartási vizsgálatok.....	70
4.3.3.1. Kondicionált íz-averzió.....	70
4.3.3.2. Íz-reaktivitási változások.....	71
5. Megbeszélés.....	72
5.1. Műszaki és informatikai fejlesztések.....	72
5.2. Endogén kémiai érzékenység.....	74
5.3. Exogén kémiai érzékenység.....	76

5.4. Metabolikus eltérések.....	77
5.5. Magatartási változások.....	78
6. Általános következtetések	79
7. Vizsgálataink legfontosabb eredményeinek összefoglalása.....	80
Köszönetnyilvánítás	82
Irodalomjegyzék.....	83
A dolgozat alapjául szolgáló publikációk	91
Publikációs jegyzék.....	92
Egyéb impaktfaktoros publikációk.....	92
Egyéb publikációk.....	93
Referált folyóiratban megjelent összefoglalók.....	93
Előadások és konferencia absztraktok.....	95

Rövidítések

Ach	acetilkolin
AMY	amygdala
AP	anteroposterior
B	bregma
DA	dopamin
DM	diabetes mellitus
GABA	γ -aminó-vajsav
GIS	glukóz-inszenzitív
GLP-1	glukagon-szerű peptid-1
GLUT2	glukóz-transzporter 2
GM	glukóz-monitorozó
GP	globus pallidus
GR	glukóz-receptor
GS	glukóz-szenzitív
GTT	glukóz tolerancia teszt
LC	locus coeruleus
LCD	folyadékkristály-kijelző
LED	fénykibocsátó dióda
LHA	lateralis hypothalamus
IOFC	lateralis orbitofrontalis kéreg
mdPFC	mediodorsalis prefrontalis kéreg
ML	mediolateralis
mOFC	medialis orbitofrontalis kéreg
mPFC	medialis prefrontalis kéreg
MSG	nátrium-glutamát
NA	noradrenalin
NAcc	nucleus accumbens
NTS	nucleus tractus solitarii
OFC	orbitofrontalis kéreg
PFC	prefrontalis kéreg
SD	szórás, standard eltérés

STZ	streptozotocin
ttg	testtömeg gramm
ttkg	testtömeg kilogramm
TTL	digitális jel (tranzisztor-tranzisztor logika)
V	ventralis
VMH	ventromedialis hypothalamus mag
VPM	ventroposteromedialis thalamus mag
VTA	ventralis tegmentalis area

1. Bevezetés

A homeosztázis, vagyis a szervezetnek a környezethez, a változó viszonyokhoz, a kihívásokhoz való alkalmazkodása során fenntartott dinamikus egyensúlyi állapota, alapvető fontosságú az egészséges életvitel szempontjából. E belső egyensúlyt, legfontosabb tényezőként, a megfelelő táplálék- és folyadékbevitel, a testhőmérséklet szabályozása és az energiaforgalom olyan együttes regulációja biztosítja, amiben a különféle metabolitok szintje tartósan az egészséges tartományban marad. Szervezetünk komplex, összehangolt kontroll-mechanizmusok segítségével éri el e folyamatok zavartalan működését, s e tekintetben a központi idegrendszer alapvető irányító szerepet tölt be.

A neurofiziológiai kutatások egyik fontos területe a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásának vizsgálata, mivel a kapcsolódó betegségek – az elhízás, a kóros soványság, az anorexia és a bulimia nervosa, valamint olyan, priméren anyagcserezavarnak minősített kórformák, mint a diabetes mellitus (DM) és a metabolikus szindróma – megjelenési gyakorisága világszerte rohamosan nő, ami a modern társadalmak egészségügyi ellátására egyre nagyobb terhet ró. Mielőbb megoldandó probléma ugyanakkor, hogy nemcsak az e megbetegedések hátterében álló patofiziológiai elváltozások, de még az egészséges szervezet centrális regulációs mechanizmusai sem ismertek jelenleg kellő mértékben.

Ezen okoknál fogva alapvetően fontos a homeosztázis központi idegrendszeri szabályozó működéseinek minél pontosabb feltárása. E tekintetben kiemelt jelentőségű az előagy limbikus ideghálózat integráns részeként a nucleus accumbens (NAcc) és az orbitofrontalis kéreg (OFC). Kutatásaink fő célja az volt, hogy az itt található idegsejtek táplálkozás és anyagcsere regulációban betöltött szerepét az eddigieknél jobban megismerjük.

2. Irodalmi háttér

2.1. A táplálékfelvétel szabályozása

2.1.1. Főbb struktúrák

Már Jackson 1868-ban úgy gondolta, hogy a különféle működésekért meghatározott agyterületek felelősek [37]. A táplálkozás szabályozásával kapcsolatban is az irodalomban először a centrum teóriák jelentek meg, melyek az éhség és jóllakottság érzetét bizonyos agyi struktúrákhoz kötötték.

Megfigyelték, hogy a lateralis hypothalamus area (LHA) lézióját követően afágia és adipszia váltható ki [5, 6, 77], míg elektromos ingerlése táplálékfelvételt indít el még jóllakott állatban is [133, 137]. Ezt a területet tartották „éhség központ”-nak, míg LHA-szindrómának nevezték el azt a tünetegyüttest, amely ezen régió elroncsolása következtében alakul ki, s amelyre jellemző a táplálékfelvétel csökkenése, testtömegvesztés, csökkent nyál- és gyomorsav elválasztás, csökkent íz-érzékenység, percepciós-motivációs, valamint humorális-metabolikus zavarok fellépte [130].

Ezzel szemben a ventromedialis hypothalamus magban (VMH) az ellenkező hatást tapasztalták: az agyterület elektrolitikus léziója hiperfágiát, obezitást és anyagcserezavarokat okozott, míg ingerlése még éhes állatokban is leállította a táplálékfelvételt [33-35, 57, 76].

A centrum teóriák kezdetben azt látszottak alátámasztani, hogy a LHA stimulációja váltja ki a táplálékfelvételt, evés során aktiválódik a VMH, mely gátló hatást fejt ki a LHA-ra, ezáltal leállítva a táplálkozást. Később egyértelművé vált, hogy a helyzet ennél valószínűleg bonyolultabb, más agyterületek is érintettek a táplálkozás szabályozásában. Ezen extrahypothalamikus régiók közül kiemelkedő az amygdala (AMY) kettős szabályozó szerepe. Macskákban (és kutyákban) hiperfágiát idéz elő az AMY basolateralis részének eltávolítása [74], míg a dorsomedialis régió sértése afágiát okoz. Az utóbbi terület krónikus elektródával való ingerlésével ellentétes hatás váltható ki [23, 24].

A globus pallidus (GP) elektromos ingerlésével a patkány motivációs szintjétől függően válthatók ki a táplálkozási magatartás mintázatai [123], míg léziójával a LHA-

szindrómához hasonló tünetegyüttes figyelhető meg, ami a kísérleti állat pusztulásához is vezethet [62, 75, 85].

A nucleus tractus solitarii (NTS) és a nucleus parabrachialis részt vesz az íz-információk feldolgozásában, valamint a VMH-ba projiciáló kolecisztoxinin tartalmú idegsejtek megfelelő működése nélkülözhetetlen a táplálékfelvétel befejezéséhez, ezért ezen területek elroncsolása elhízáshoz vezet [36, 142].

A nucleus accumbens két régiója egymástól különböző szerepet tölt be a táplálékfelvétel szabályozásában: a shell régió sértése hiperfágiát, a core régió roncsolása a táplálékfelvételi motiváció csökkentésével hipofágiát idéz elő [68].

A kérgi struktúráknak is jelentős szerepük van a táplálkozás központi idegrendszeri szabályozásában. A dekontikált állatok önálló táplálkozásra képtelenek, de a szájüregükbe helyezett táplálékok motoros válaszokat, mint pl. rágás, nyelés, stb. képesek kiváltani [134]. Az orbitofrontalis kéreg sokrétű – gusztatoros és viszcerális, valamint szomatoszenzoros és motoros – bemenetei révén képes hangolni a percepciót és a motoros kimenetet a szervezet motivációs állapotának függvényében [73]. A medialis prefrontalis kéreg (mPFC) a limbikus rendszer számos területével, többek között az orbitofrontalis kéreggel is sokcsatornás, reciprok kapcsolatban áll. A mPFC kétoldali sértése megzavarja a táplálékgyűjtési magatartást, továbbá az e struktúrát az orbitofrontalis kéreggel összekötő kétirányú pályák roncsolása gátolja az íz- és tér-asszociáció kialakulását [114].

2.1.2. Főbb pályarendszerek

Az 1950-es években a stockholmi Karolinska Intézetben tett fluoreszcens hisztológiai felfedezések nyomán az 1970-es évekre a centrumokra vonatkozó elképzelések után kialakultak a pálya-teóriák is. Kísérleti eredmények igazolták, hogy a katekolaminergiás pályarendszereket szelektíven roncsoló léziókat követően megváltozott a kísérleti állatok táplálékfelvételi magatartása. Ezen rendszerek esetében is kettős szabályozási entitást feltételeztek.

A locus coeruleus (LC) területéről kiinduló ventralis noradrenergias rendszer kapta a „jóllakottság-pálya” elnevezést, mivel roncsolásával a kísérleti állatok hiperfágiája és elhízása váltható ki [4].

Az „éhség-pálya” két másik katekolaminergiás rendszer rostjaiból áll: a substantia nigra pars compacta területéről kiinduló nigrostriatalis dopaminergiás rendszer [69,

132], valamint a főként a ventralis tegmentalis area-ból (VTA) eredő mezolimbikus dopaminergias rendszer [56, 60] alkotja.

2.1.3. Az íz-érzékelés

2.1.3.1. Az ízlelés szerepe a táplálékfelvétel szabályozásában

A táplálékfelvételi magatartás elemi összetevői két egymást követő nagy folyamatsorba tagozódnak: az előkészítő vagy appetitív és a végrehajtó vagy konzumatív szakaszba. Az előbbi során jelenik meg az éhségérzet, mint specifikus motivációs „drive”, mely az élőlényeket a táplálék felkutatására sarkallja. Az ezt követő iniciatív szakaszban van jelentősége a táplálék látványának, illatának, amelyek adaptációs élettani változásokhoz vezetnek. A konzumatív fázisban történik a táplálék megragadása, szájba vétele, megrágása és lenyelése.

A táplálék megítélésében fontos szerepet játszik a szaglás, mely a táplálék felismerésében és fogyaszthatóságának megállapításában jelentős. Az ezt követő ízlelés segít abban, hogy eldönthessük, hogy a táplálék hasznos anyagokat tartalmaz, tápláló, azaz elfogadandó vagy pedig mérgező, de mindenképpen káros anyagokat hordozó, azaz visszautasítandó, s ezáltal válik az íz-érzékelés létfontosságúvá a túlélés szempontjából.

2.1.3.2. A központi íz-információ feldolgozás

A táplálék ízéért felelős, oldott állapotban lévő kémiai anyagokat az íz-érző receptorok érzékelik. Ezek a receptorok, melyek specifikusan felismerik az öt alapíz (édes, sós, savanyú, keserű és umami) a tápcsatorna kezdeti szakaszán helyezkednek el: a nyelven, a szájpadon, a garatban, az epiglottis környékén a gégében és a nyelőcső kezdeti szakaszán [20, 136].

Újabb kutatások szerint a tápcsatorna alsóbb szakaszain (gyomor, vékonybél, vastagbél) is találhatóak olyan kemoreceptorok, melyek képesek érzékelni pl. a D-glukózt (édes) [97, 115], a nátrium-glutamátot (MSG) (umami) [97, 113], valamint a nátrium-kloridot (sós) [97].

A nyelvről és a légyszájpadról a VII. és IX. agyideg, a garat hátsó szakaszáról, a gégetájékról és a nyelőcső legfelső szakaszáról a X. agyideg n. laryngeus superior ága

továbbítja az íz-információt a NTS elülső és középső régiójába, amely a központi idegrendszer első íz-feldolgozó állomása [32, 86, 109].

Rágcsálókban az íz-rostok innen a hídbeli központba, az ún. „pontin íz-érző area”-ba vezetnek [86, 88], majd innen az íz-információk a ventroposteromedialis thalamus mag (VPM) közvetítésével az agranularis és dysgranularis insula területén található elsődleges és másodlagos íz-kéregbe jutnak [88, 89]. A „ventralis íz-projekció” rostjai a hátsó agytörzs és az előagy (LHA, AMY, stria terminalis bed nucleus-a, GP) között létesítenek kapcsolatot [18, 87, 90, 138, 139].

Főemlősökben az íz-információk a NTS-VPM-elsődleges íz-kéreg (frontalis operculum, elülső insula) [107, 109, 141] útvonalon jutnak el az OFC caudolateralis részében elhelyezkedő másodlagos íz-kéreghez [49, 108-110]. Az íz-információk további állomásai: az amygdala centrális magcsoportja [40, 46, 109, 116], amely az insularis-orbitofrontalis területekkel áll szoros kapcsolatban, valamint a reciprok összeköttetésekkel rendelkező LHA és GP [40, 42-44, 106].

2.1.4. A központi glukóz-monitorozó neuronhálózat

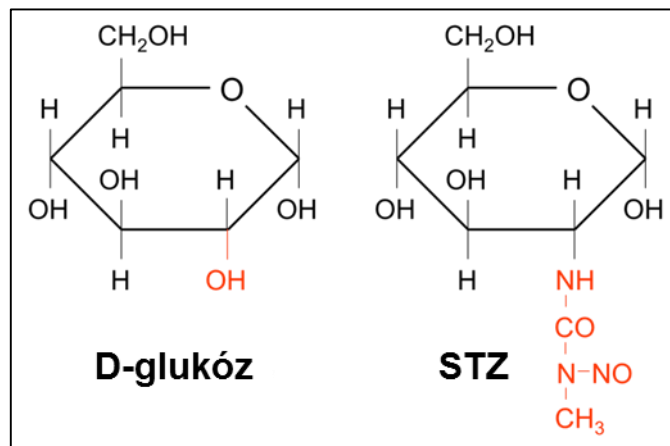
2.1.4.1. Glukóz-monitorozó neuronok

A D-glukóz molekulának kulcsfontosságú szerepe van az energiaforgalomban, a szénhidrát-anyagcserében és a táplálékfelvétel regulációjában is. A XX. század második felének elején, az 1960-as években szinte egyidőben, több laboratóriumban folytatott elektrofiziológiai vizsgálatok bebizonyították, hogy a perifériához hasonlóan a központi idegrendszerben is találhatóak olyan neuronok, amelyek megváltoztatják tüzelési frekvenciájukat glukóz lokális vagy szisztémás adásakor [7, 92, 93]. Ezeket az idegsejteket, amelyek membránpotenciáljuk megváltozása nyomán képesek érzékelni az extracelluláris tér glukóz koncentrációjának a változását, *glukóz-monitorozó (GM)* neuronoknak nevezzük. A glukózra mutatott válaszkészségük alapján két típusuk különíthető el: a tüzelési frekvenciájukat növelő idegsejtek az ún. *glukóz-receptor (GR)* neuronok, a tüzelési frekvenciájukat csökkentő, vagyis gátlódó sejtek pedig az ún. *glukóz-szenzitív (GS)* idegsejtek. Azokat az idegsejteket, amelyek a glukózt csak metabolizmusukban használják fel, és jelenlétében válaszkészséget nem mutatnak, *glukóz-inszenzitív (GIS)* neuronoknak nevezzük [94].

A GM hálózat részét képező idegsejtek jelenléte már több különböző agyterületen bizonyított: LHA [9, 43, 45, 48, 94-96], VMH [39, 48, 55, 71, 94-96, 112, 117], NTS [1, 3, 72], area postrema [2, 26], AMY [40, 46, 83, 84], GP [44, 58], NAcc [100], prefrontalis kéreg (PFC) [79-81, 95], OFC [47, 48, 65-67, 121, 122]. Ezen glukóz-érzékeny neuronok válaszkészséget mutatnak mind exogén (pl. íz, szag), mind endogén (pl. neurotranszmitterek) kémiai és egyéb szignálokra [41, 44, 45, 59], így fontos szerepet töltenek be a táplálkozás szempontjából releváns információk integratív feldolgozásában.

2.1.4.2. Streptozotocin

A streptozotocin (STZ) D-glukózhoz hasonló szerkezetű molekula (1. ábra), melyet az 1950-es évek végén antibiotikus hatású anyagként izoláltak a *Streptomyces achromogenes* nevű baktériumtörzsből, de mellékhatásai miatt egyedüli indikációként kizárólag a β -sejtekből kiinduló metasztatikus tumorok terápiájában használták [78]. A STZ szelektíven képes elpusztítani a pancreas β -sejtjeit, ezért széles körben használják az 1-es típusú DM állatkísérletes modelljeként [27, 28, 63, 124]. A STZ a sejtekbe a GLUT2 transzporterén keresztül jut be, ahol szabadgyökök képzésével oxidatív stresszt okozván nekrozist, sejtpusztulást eredményez [38, 63, 104, 124].



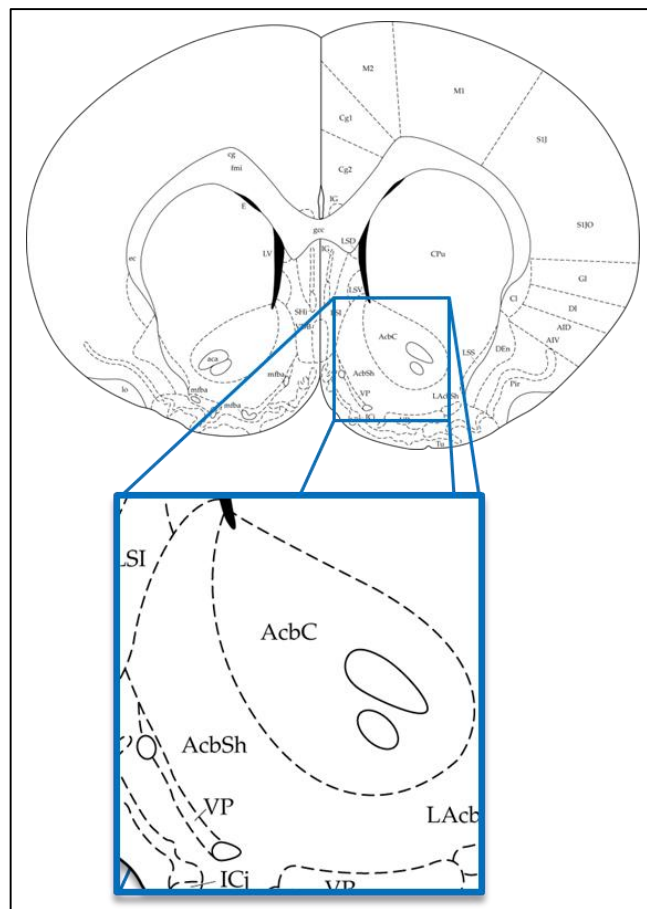
1. ábra – A D-glukóz és a streptozotocin (STZ) molekula szerkezeti képlete.

A STZ ezen hatását nemcsak a periférián képes kifejteni, hanem a központi idegrendszeri GM idegsejtek is képesek felvenni. Intracerebrális adáskor a glukóz-monitorozó neuronokat a STZ specifikusan károsítja, oly módon, hogy aktivitásuk végleges megszűnése nyomán súlyos táplálkozási és anyagcserezavarok is kialakulnak [48-50].

2.2. A nucleus accumbens anatómiai és funkcionális jellemzői

2.2.1. A nucleus accumbens felépítése és anatómiai kapcsolatai

A NAcc basalis előagyi struktúra, mely a limbikus rendszer meghatározó része. Neuroanatómiai szempontból három fő részre osztható: a shell vagy „héj”, a core vagy „mag”, és az ezektől elkülöníthető, ún. rostralis (elülső) régióra (2. ábra) [31, 135].



2. ábra – A nucleus accumbens shell (AcbSh) és core (AcbC) régiója
Paxinos és Watson szerint [101].

A NAcc-ben található neuronok 90%-át a közepes nagyságú, tövises, GABA-erg idegsejtek teszik ki. A további 10%-ot a tövis nélküli, nagy méretű kolinergiás, illetve a közepes méretű GABA és szomatosztatin tartalmú interneuronok teszik ki [15].

A NAcc efferenciáját a közepes nagyságú tövises neuronok képezik [14, 19], melyek jellemző modulátoroknak (encephalin, substance P, dynorphin, neurotensin) megfelelően négy fő projekciós rendszert alkotnak [29].

A NAcc legfontosabb glutamát efferenseit a nucleus mediodorsalis thalami, a PFC, a basolateralis AMY és a hippocampus területéről kapja [11, 12]. A NAcc a VTA-ból dopaminergiás [16, 131], a LC felől noradrenergiás [91], a nucleus raphe területéről szerotoninergiás [8], a nucleus tuberomamillaris régiójából pedig hisztaminergiás beidegzést kap [99].

A shell régióból indulnak rostok a ventralis 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 [31, 143, 144], és ezen területekről efferensek is érkeznek vissza ide.

A core régióból afferensek vezetnek a ventralis pallidum dorsolateralis részébe, a nucleus entopeduncularis-ba, a substantia nigra és a nucleus subthalamicus medialis területére [31]. A core régióból kevesebb rost projiciál a LHA-ba, mint a shell-ből [144].

A rostralis részből induló afferensek célállomásai lényegében megegyeznek a másik két szubrégióból induló rostok végződéseivel [31, 144].

2.2.2. A nucleus accumbens funkciói

A NAcc, az ún. „jutalmazó rendszer” szerves részeként, fontos szerepet tölt be a tanulásban, és általában a cél-orientált motivált magatartásformák, így a táplálékbevitel szabályozásában. Neuronjainak többcsatornás kommunikációja révén részt vesz az íz-percepció, az energia egyensúly, a viszcerális, valamint a szomatomotoros folyamatok regulációjában.

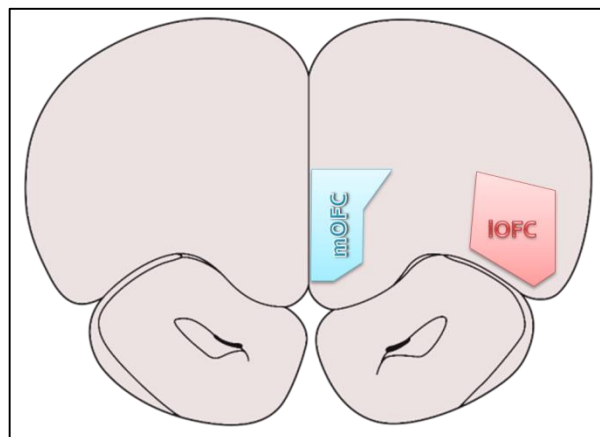
A NAcc két fő szubdivíziója a táplálékfelvétel szabályozásában eltérő szerepet tölt be. A core régió roncsolása a táplálékfelvételi motiváció, és így a testtömeg csökkenését eredményezi [68, 70], míg a shell régió léziója erőteljes táplálékfelvételt és testtömegnövekedést indukál [68, 119]. Mindkét területnek szerepe van az ízekkel összefüggő motivációs és tanulási folyamatokban is [140].

2.3. Az orbitofrontalis kéreg anatómiai és funkcionális jellemzői

2.3.1. Az orbitofrontalis kéreg felépítése és anatómiai kapcsolatai

A prefrontalis kéreg a motoros és premotoros kérgi areáktól rostralisán elhelyezkedő kéregterület, mely rágcsálókban két fő régióra osztható: mediodorsalis és ventrolateralis területre. Széles körben elfogadottan ez utóbbi részt feleltetik meg a főemlősökben megtalálható orbitofrontalis kéregnek [17]. Funkcionális és anatómia szempontból két fő részre osztható: a medialis (mOFC) és lateralis orbitofrontalis kéregre (lOFC) (3. ábra).

Az OFC vizuális, íz, szag és szomatoszenzoros inputot egyaránt kap. Caudo-lateralis régiójában ízre reagáló sejteket azonosítottak [110], melyek a primer íz-kéreg projekciójának nagy részét kapva, szekunder íz-kéregként funkcionálnak [10]. Az orbitofrontalis kérgen belül medialisan egy a szagérzésért felelős terület található [128], ugyanakkor a posterior régió is közvetlen bemenettel rendelkezik a primer szagló- és az ezzel közvetlenül szomszédos piriformis kéreg felől. Az inferior temporalis lebeny, a sulcus temporalis superior és a temporalis lebeny pólusa felől érkeznek ide a vizuális információk. Az OFC-t a szomatoszenzoros kéreg, a pericentralis operculum és az insula irányából hallási és szomatoszenzoros információk érik el.



3. ábra – A medialis (mOFC) és lateralis (lOFC) orbitofrontalis kéreg elhelyezkedése Paxinos és Watson szerint [101].

Mindezzel egyidőben orbitofrontalis kérgi afferensek projiciálnak az inferior temporalis lebeny, az entorhinalis kéreg, a cingulum, a preopticus area, a VTA és a nucleus caudatus irányába.

2.3.2. Az orbitofrontalis kéreg funkciói

Az orbitofrontalis kéreg számos szenzoros, percepciós, motivációs, tanulási és emlékezési működés szabályozásával hozták eddig összefüggésbe. Az OFC a limbikus előagyi ideghálózat részeként időlegesen tárolja a szenzoros információkat, illetve időbeli késéssel, adekvát válaszmintákkal kapcsolja össze ezeket [25]. Meghatározza a különféle magatartási mintázatok motivációs, emocionális töltetének az érvényesülését [53], fontos szerepet játszik a szociális, szexuális és általános adaptációs viselkedési mintázatok kialakításában [85], valamint a spontán és komplex magatartásformák létrejöttében [52]. Alapvető jelentőségű a különböző szagok egymástól való elkülönítésében, szagok által meghatározott vagy általuk vezérelt viselkedési folyamatok szervezésében [22, 129]. A caudolaterális OFC-t Rolls és munkatársai másodlagos ízérző kéregként azonosították [110], s mint ilyen, komplex, percepciós-motivációs folyamatok integrációjáért tesszük felelőssé.

Mindezek mellett széles körben ismert, hogy az OFC az egyik legfelsőbb szintű központi irányítóként részt vesz a testtömeg mindenkori fenntartásában, a táplálék- és folyadékfelvétel kontrolljában, továbbá a metabolikus szabályozó működések ellenőrzésében is [51].

3. Célkitűzések

Amint az előző fejezet is bemutatta, a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásáról már számos tanulmány született. Ennek ellenére sok tekintetben még mindig hiányosak az ismereteink. Kutatócsoportunk évtizedek óta aktívan részt vesz a NAcc [100, 126, 127] és az OFC [47, 48, 64-67, 120-122] táplálék- és folyadékfelvételi ill. metabolikus regulációs folyamatokban betöltött szerepének tanulmányozásában. Kutatásaink során a következő vizsgálatokat végeztük:

1. A nucleus accumbens neuronok endogén és exogén kémiai érzékenységének meghatározásához extracelluláris egysejttevékenységet vezettünk el mikroelektroforetikus anyagbeadások, intraorális íz-ingerlések és kémiai anyagok intragasztrikus infúziója során.
2. A medialis és lateralis orbitofrontalis kéregben található neuronok endogén és exogén kémiai érzékenységének meghatározásához extracelluláris egysejttevékenységet vezettünk el mikroelektroforetikus anyagbeadások, intraorális íz-ingerlések és intragasztrikus infúziók során.
3. Olyan műszaki és informatikai fejlesztések elkészítése, melyek segítségével mind az adatgyűjtés, mind a kísérletek során használt eszközök számítógéppel irányíthatók lettek, valamint a gyűjtött adatok pontosan és gyorsan elemezhetőkké váltak.
4. A glukóz-monitorozó neuronokat szelektíven elpusztító lokális agyi streptozotocin mikroinjekciós anyagbeadást követően vizsgáltuk a medialis orbitofrontalis kérgi idegsejtek
 - a. vércukorszintet szabályozó funkcióit intraperitonealis glukóz-tolerancia teszt során;
 - b. metabolikus működésekre gyakorolt hatását farokvénából vett vérminta metabolit koncentrációinak meghatározásával;
 - c. íz-percepció, továbbá az íz-információk tanult viselkedési mintázatba ültetésében betöltött szerepét íz-reaktivitási magatartási tesztek során;
 - d. az utóbbival kapcsolatos tanulási folyamatokban való szerepét kondicionált íz-averziós vizsgálatokban.

4. Kísérletek

4.1. Módszerek

4.1.1. Alanyok

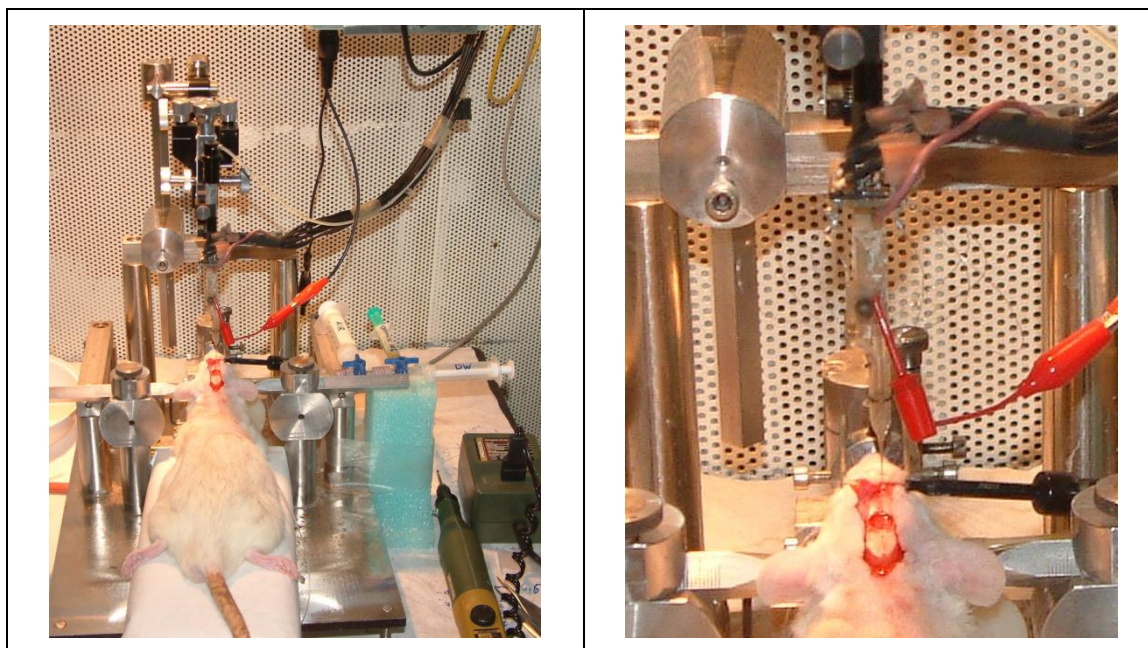
Kísérleteinkben 337 felnőtt hím Wistar és Sprague-Dawley patkányt használtunk. A kísérleti állatok testtömege a vizsgálatok kezdetén 250-350 g volt. A patkányszobában állandó hőmérsékletet (21 ± 2 °C) és páratartalmat (55-60%) biztosítottunk. Az állatokat 12/12 órás világos/sötét ciklusban tartottuk.

A kísérleti állatok tartása és a velük való foglalkozás során, a megfelelő engedélyek (BA02/2000; BA0104L 12; ZOHU0104L 08; BA02/2000-8/2012) birtokában a helyi, egyetemi rendelkezéseken túl betartottuk a hazai (1998. évi XXVIII. tv. az állatok védelméről és kíméletéről; 40/2013 Kormányrendelet, 2013. II.) és a nemzetközi előírásokat, európai uniós irányelveket (NIH Guidelines, 1997; 86/609/EEC Európa Tanács előírás, 1986, 2006; 2010/63/EU Európa Parlament előírás) is.

4.1.2. Elektrofiziológiai vizsgálatok

4.1.2.1. Műtét

A patkányok altatásához intraperitonealisan adott uretánt (0,6 ml/100 ttg, 25% friss oldat, Sigma) alkalmaztunk. Fejüket sztereotaxiás készülékben rögzítettük (*4. ábra*), és hogy a kísérletek során az íz-oldatok lehetséges aspirációja miatti fulladásukat elkerüljük, a befogó keretet 15°-os szögben előre felé döntött helyzetbe állítottuk. A fejbőr felvágása és a koponyacsont letisztítása után a koponyatetőn fogászati fúróval 4-5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk, majd a dura bemetszése után a mikroelektrodát mikromanipulátorral (MN-33, Narishige, Japán) pozícionáltuk, ezt követően hidraulikus mikrotovábbító rendszer (Narishige MO-10, Japán) segítségével vezettük le a célterületre. A vizsgált agyi struktúrák koordinátái Pellegrino [102], ill. Paxinos és Watson agyatlasza [101] alapján az *1. táblázatban* láthatóak.



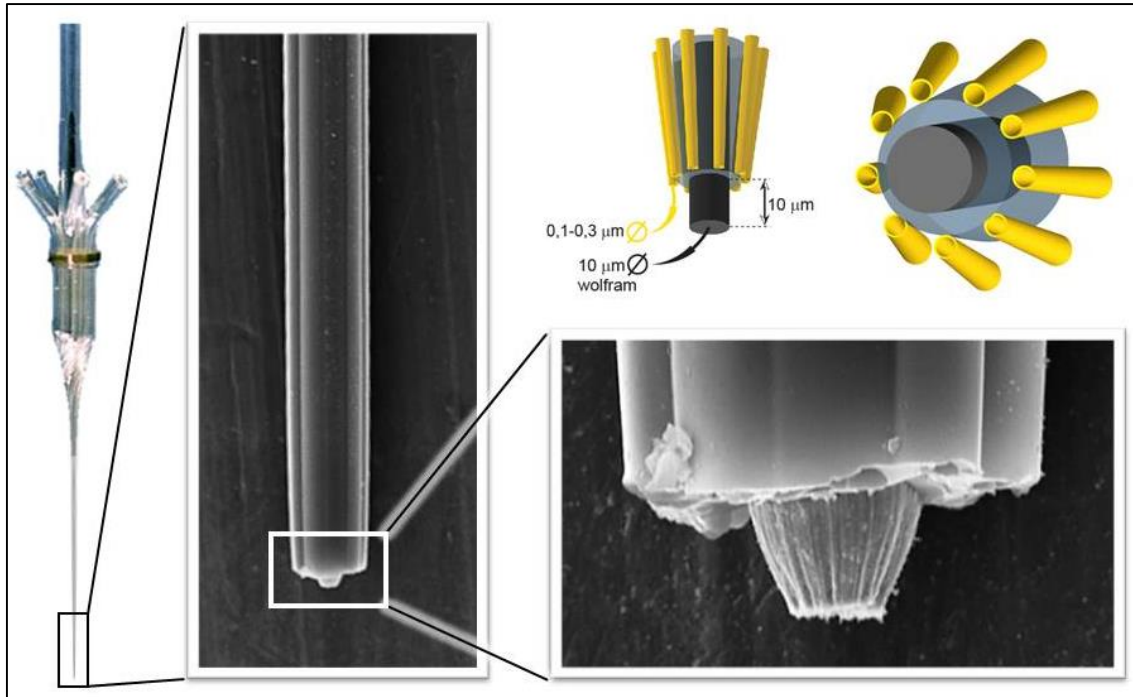
4. ábra – A mikroelektróda levezetése a műtét során

1. táblázat – A nucleus accumbens (NAcc), a medialis (mOFC) és a lateralis (lOFC) orbitofrontális kéreg koordinátái Pellegrino* [102], ill. Paxinos és Watson** agyatlasza [101] alapján (mm-ben; B: Bregma).

	anteroposterior (AP)	mediolateralis (ML)	ventralis (V)
NAcc*	B+3,2-3,7	1,2-1,6	5,6-7,6
mOFC**	B+3,8-4,4	0,8-1,2	3,0-3,5
lOFC**	B+3,8-4,4	2,5-3,5	2,5-3,5

4.1.2.2. Mikroelektróda

Az extracelluláris egysejttevékenység elvezetéséhez és a neurokémiai anyagok mikroelektroforetikus beadásához munkacsoportunk által készített wolframszálas, multibarrel üveg mikroelektródát (5. ábra) használtunk. Az egysejttevékenységet a központi csőben lévő wolframszál segítségével regisztráltuk, az e központi csövet körülvevő 9 db környéki kapilláriscsőbe töltöttük a mikroiontoforézishez használt oldatokat. A wolframszál átmérője 10 μm és kb. 10 μm hosszan nyúlik ki az üvegelektróda hegyéből. A környéki csövek nyílásának átmérője 0,1-0,3 μm közötti. Az elvezetésekhez használt mikroelektródák impedanciája 50 Hz-en mérve 1,5-6 $\text{M}\Omega$ volt.

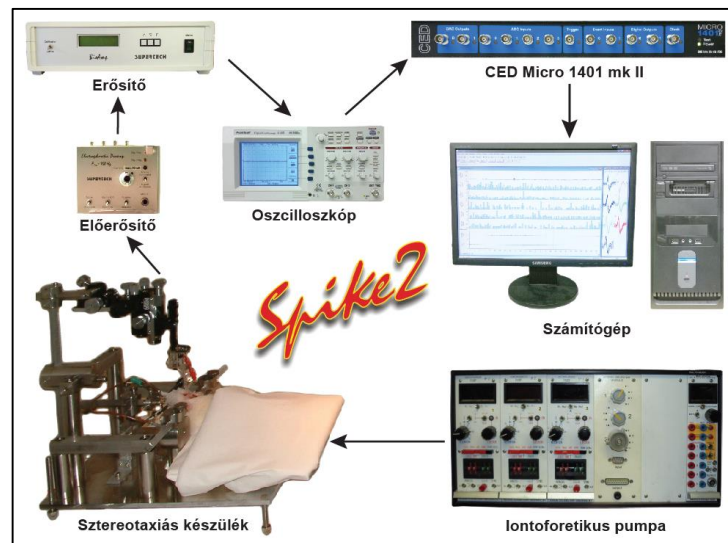


5. ábra – A multibarrel mikroelektróda felépítése és a hegyéről készült pásztázó elektronmikroszkópos képe.

4.1.2.3. Jelfeldolgozás

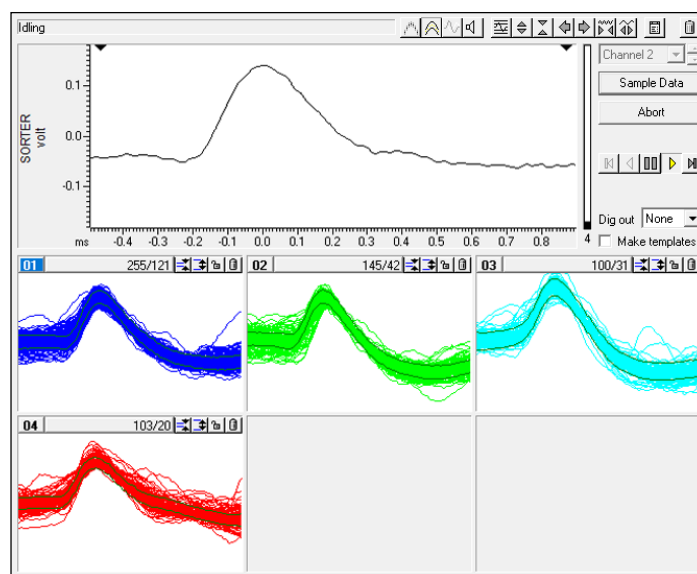
Az extracellulárisan felvett akciós potenciálok az elektróda központi csövében lévő wolframszálon keresztül, szűrést és erősítést (BioAmp A1-v6, Supertech Kft., Magyarország) követően egy analóg/digitális konverterbe (CED Micro 1401 mk II, Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) kerülnek (6. ábra felső része), így a jeleket számítógép segítségével rögzíthetjük és elemezhetjük. Az analóg jeleket oszcilloszkópon (PeakTech P-1145, Heinz-Günter Lau GmbH, Ahrensburg, Németország) folyamatosan követtük. A Spike2 program (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) segítségével minden egyes idegsejt aktivitásából frekvencia hisztogram készült, az on-line és off-line analízisek az általam írt scriptek használatával történtek. Az elvezetés közben futó script fontos szerepet tölt be a vizsgálatok során a különböző készülékek irányításában, a kísérlet közben történő események rögzítésében, a bejövő adatok azonnali elemzésében és ezáltal a kísérlet folytatási lehetőségeinek mérlegelésében. A vizsgálat teljes időtartama alatt a vizsgált állat egy Faraday-kalitkában helyezkedett el, ezzel biztosítva az elvezetett elektromos jelek külső elektromos zajoktól való elszigetelését. A Faraday-kalitkában csak

egyenáramú eszközöket használtunk, a jelek feldolgozásáért és a készülékek irányításáért felelős eszközök és a számítógép a kalitkán kívül helyezkedtek el.

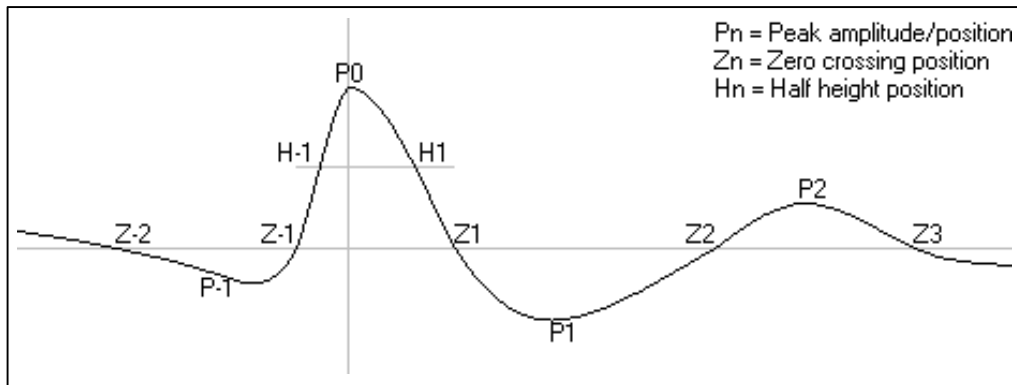


6. ábra – Kísérleti elrendezés.

Első lépésként a bejövő elektromos jelből egy diszkriminációs ablak segítségével kiszűrjük az akciós potenciálokat (7. ábra), amiket minta alapján (8. ábra) klaszterekbe sorol. Ezek a klaszterek tartalmazzák az egymáshoz hasonló akciós potenciálokat, amelyeket a program WaveMark-ok formájában tárol, amik nem csak az akciós potenciálok adatait, hanem a klaszterek kódját is tartalmazza. Megfelelő szűrés esetén biztosított, hogy az adott klaszterbe tartozó jelek ugyanazon idegsejthez tartoznak.



7. ábra – WaveMark-ok készítése (akciós potenciálok kiszűrése) az analóg jelből.



8. ábra – A WaveMark-ok készítéséhez (akciós potenciálok kiszűréséhez) figyelembe vett pontok.

A szűrést követően az online script elindításával elindul az adatok gyűjtése is. A vizsgálat során a program a következő adatokat rögzíti (zárójelben a Spike2 program által használt azonosító számok láthatóak) (9. ábra):

- UNIT (1): a kísérleti állat agyából elvezetett, erősített jelek csatornája (analóg jel);
- SORTER (2): az elvezetésből kiszűrt akciós potenciálok (WaveMark);
- Module1-3 (3-5): az iontoforetikus készülék moduljainak visszajelzései (analóg jel);
- Infusion (8): az intragasztrikus beadásokhoz használt mikroinfúziós pumpa visszajelzése (TTL-jel);
- TB (9): az íz-adás során használt nyomógomb visszajelzése (TTL-jel);
- TextMark (30): a gombok lenyomásakor, vagy megjegyzés beírásakor az adott időkhöz tartozó szöveges tartalom, mely négy bites azonosító kódot is tartalmaz.

Type	Port	Title	Evt Rate	Adc Rate	Scale	Offset	Units	Points	Pre
1	Waveform	0	UNIT		28571	1	0	volt	
2	WaveMark	0	SORTER	1500	28571	1	0	volt	100 35
3	Waveform	1	Module1		10	200	0	nA	
4	Waveform	2	Module2		10	200	0	nA	
5	Waveform	3	Module3		10	200	0	nA	
8	Level	2	Infusion	10					
9	Level	6	TB	10					
30	TextMark		TextMark	10					

9. ábra – A rögzített analóg és digitális csatornák beállításának panelje.

A vizsgálat során a program nem csak a bejövő adatokat rögzíti, hanem a script segítségével virtuális csatornákat is létrehoz, melyen az iontoforetikus pumpa moduljainak irányítását rögzíti úgy, mintha a készülék TTL-jelek segítségével jeleznék vissza, hogy elkezdődött vagy leállt a beadás. Ezeket a csatornákat (m1-3) a fájl mentésekor valódi digitális csatornaként menti a script a fájlba.

A script futtatásától kezdve a vezérlőgombokkal egy sorban a Toolbar bal oldalán folyamatosan látható a legutóbbi beavatkozás óta eltelt idő másodpercben, valamint az éppen aktuálisan folyamatban lévő vizsgálat típusa, a beadott anyag és annak koncentrációja (10. ábra). A Toolbar jobb oldalán szereplő vezérlőgombok egy része minden esetben elérhető, míg a különböző beavatkozásokhoz tartozó gombok csak az aktuális vizsgálat során használhatóak.



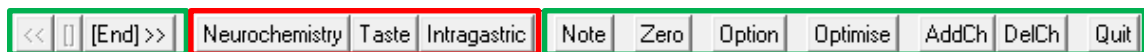
10. ábra – A kísérlet során a script által generált elrendezés.

A bal oldali oszlopban a vizsgálatokhoz tartozó információk szerepelnek (fentről lefelé):

- Analysis: a legutóbbi vagy kiválasztott beavatkozás elemzése, mely tartalmazza az adott beavatkozás típusát, a használt anyag nevét és koncentrációját, a beavatkozás hosszát, valamint csatornánként a változás mértékét százalékban.

- Result: egy adott anyaghoz tartozó összes eddigi beavatkozás eredményének kijelzése mennyiségként/koncentrációként, melynek segítségével eldönthető, hogy szükséges-e ismételni egy beavatkozást. Minden egyes csatorna változását egyetlen karakterrel kódolja, a sorrendjük megegyezik az Analysis ablakban kijelzett sorrenddel. $\pm 30\%$ -on belüli változást „0”-val jelez, emelkedés esetén 30 %-onként számmal jelzi (pl. 30-60% \rightarrow „1”; 60-90% \rightarrow „2”; stb.), csökkenés esetében betűkkel (pl. -30 - -60% \rightarrow „a”; -60 - -90% \rightarrow „b”; stb.). A nem értékelhető a változást „?”-lel jelzi.
- Note: Az összes eddigi beavatkozás listája. Ha beavatkozás típust változtatunk, azt címként jelzi, ez alatt felsorolva láthatóak az anyagok a használt mennyiséggel/koncentrációval. A beírt megjegyzéseket „#”-tel jelzi.

A középső ablakban láthatóak a rögzített csatornák, míg a jobb oldali Spike Monitor (programba beépített funkció) mutatja csatornánként az aktuálisan rögzített akciós potenciálokat (WaveMark-ok).

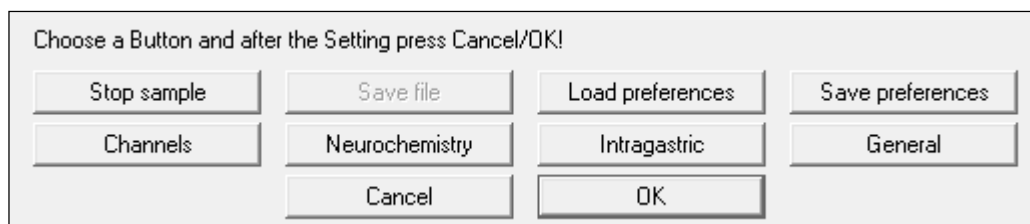


11. ábra – A script indításakor elérhető vezérlőgombok. A zöld színnel jelölt gombok mindig láthatóak, a piros blokkban elhelyezkedők az adott beavatkozástól függően változnak.

A Toolbar-on megjelenő gombok segítségével lehet beállítani és vezérelni a teljes vizsgálatot. A gombok egy része mindig látható, míg mások az adott beavatkozástól függően változnak (11. ábra). A script indításakor az alábbi gombok érhetőek el:

- : vezérlőgombok előző beadások megtekintéséhez, csak akkor érhető el, amikor épp nem történik beavatkozás:
 - vagy : ugrás az előző beadáshoz, vagy az elejére, kiírja, hogy mi volt a beadott anyag és milyen koncentrációban;
 - : az aktuálisan megtekintett beadásnál használt anyag neve és koncentrációja;
 - vagy : ugrás a következő beadáshoz, vagy a végére, kiírja, hogy mi volt a beadott anyag és milyen koncentrációban;

- **Neurochemistry**: intracerebralisán bejuttatott neurokémiai oldatok beadásának vezérlése;
- **Taste**: intraorális stimulációra használt oldatok beadásának vezérlése;
- **Intragastric**: intragasztrikus stimulációra használt oldatok beadásának vezérlése;
- **Note**: megjegyzés írása egy adott időpillanathoz a TextMark csatornára;
- **Zero**: a legutóbbi beadástól mért idő lenullázása;
- **Option**: beállítások panel (alább részletezve);
- **Optimise**: a kijelzett csatornák megjelenítésének optimalizálása (vertikálisan a maximum kitéréshez igazítja a kitérést csatornánként);
- **AddCh** / **DelCh**: WaveMark-okat tartalmazó csatorna hozzáadása vagy elrejtése a képernyőn (minden kiszűrt idegsejt külön csatornára kerül);
- **Quit**: kilépés a script-ből.

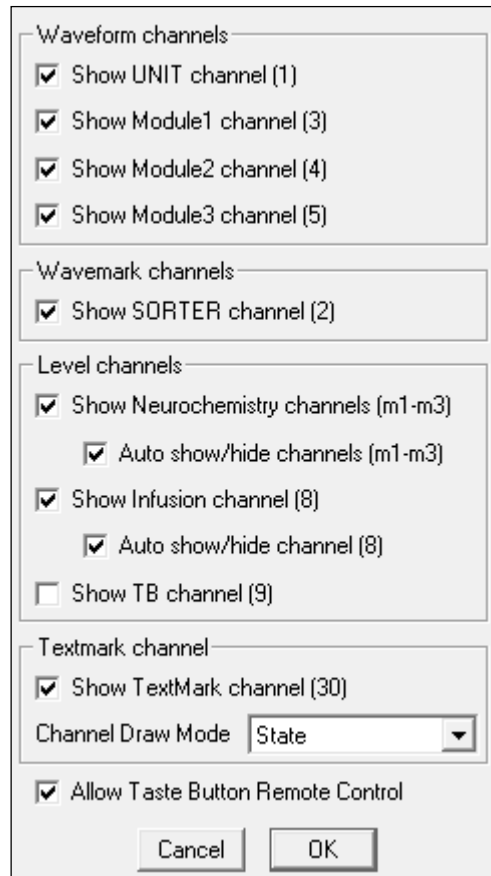


12. ábra – Beállítások kiválasztásának panelje.

Mielőtt a kísérletet megkezdenénk, szükséges beállítani az elvezetés körülményeit (**Option** gomb a Toolbar-on), melyek egy részét a vizsgálat alatt is módosíthatjuk (12. ábra):

- **Stop sample**: adatgyűjtés leállítása, a vizsgálat legvégén alkalmazzuk;
- **Save file**: miután leállítottuk az adatgyűjtést, elmenthetjük a fájlt;
- **Load preferences** / **Save preferences**: a beállításokat vizsgálónként elmenthetjük és betölthetjük, hogy ne kelljen minden egyes paramétert átállítani, amikor másik agyterületet vagy más anyagokat vizsgálunk;
- **Channels**: csatornák megjelenítéseinek beállításai (alább részletezve);

- **Neurochemistry**: neurokémiai ingerlés során beadott anyagok beállításai (alább részletezve);
- **Intragastric**: intragasztrikus stimuláció beállításai (alább részletezve);
- **General**: általános beállítások (alább részletezve).



13. ábra – Csatornák megjelenítési beállításának panelje.

A csatornák megjelenítési opciónál (**Option** → **Channels**) lehetőség van be- és kikapcsolni a csatornák megjelenítéseit (13. ábra):

- Waveform channels: a bejövő analóg csatornák (az elvezetett agyi jelek és a mikroiontoforetikus készülék moduljainak visszajelzései) be- és kikapcsolása;
- Wavemark channels: az analóg jelből kiszűrt akciós potenciálokat tartalmazó csatornák be- és kikapcsolása;
- Level channels: TTL-szinteket jelző csatornák be- és kikapcsolása:
 - Neurochemistry channels: neurokémiai ingerlés során a modulok használatát jelző csatornák be- és kikapcsolása; beállítható, hogy csak akkor mutassa azokat, amikor neurokémiai ingerlést folytatunk;

- Infusion channel: intragasztrikus beadás során az infúziós pumpa használatát jelző csatorna be- és kikapcsolása; beállítható, hogy csak akkor mutassa, amikor intragasztrikus ingerlést folytatunk;
- TB channel: intraorális ingerlés során használt nyomógomb lenyomását jelző csatorna be- és kikapcsolása;
- Textmark channel: a Textmark csatorna be- és kikapcsolása, valamint a megjelenítés típusának (Channel Draw Mode) beállítása;
- Taste Button Remote Control: az íz-adás során használt gombok külső irányításának engedélyezése vagy tiltása.

Module 1	
Channel 1	Glutamate
Channel 2	GABA
Channel 3	
Channel 4	Ach
Module 2	
Channel 5	
Channel 6	NA
Channel 7	DA
Channel 8	Glucose
Module 3	
Channel 9	
Channel 10	
Channel 11	SCH
Channel 12	Sulpirid

Allow Iontophoresis Pump Remote Control

Cancel OK

14. ábra – Neurokémiai ingerlés beállításának panelje.

A neurokémiai ingerlés során használt oldatok beállításai esetében (**Option** → **Neurochemistry**) modulonként be lehet állítani, hogy melyik csatornán melyik oldat található (14. ábra). Minden modul esetében maximum 3 oldat beállítására van lehetőség, mivel az ingerlés idején kívül a script automatikusan az üres csatornákra állítja be a modulokat. Ha ugyanazt az anyagot több csatornára is beállítjuk, arról figyelmeztetést is küld a rendszer, hogy ezzel elkerüljük a véletlen rossz beállítást. A

csatornák beállításáért felelős eszközök irányítását is ezen a beállítási panelen belül tudjuk be- és kikapcsolni.

Section	Allow Remote Control	Volume (ml)	Flow Rate (ml/h)	Time duration
Filling Up	<input checked="" type="checkbox"/>	0.65	18	130 s
Administration	<input checked="" type="checkbox"/>	3	18	600 s
DW	<input checked="" type="checkbox"/>	0.75	18	150 s
Air	<input checked="" type="checkbox"/>	0.3	18	60 s

15. ábra – Intragasztikus infúzió beállításainak panelje.

Az intragasztikus infúzió során (**Option** → **Intragastric**) beállítható a beavatkozás különböző lépéseiben használt oldatok térfogata és a beadásokhoz használt sebességük, amiből rögtön ki is számolja a script a szükséges időtartamokat másodpercben (15. ábra):

- Filling up: a gyomorba helyezett cső feltöltéséhez szükséges volumen és a feltöltés sebessége;
- Administration: a gyomorba helyezett cső feltöltése után történő tényleges intragasztikus infúzió térfogata és sebessége;
- DW: az intragasztikus infúzió utáni desztillált vízzel történő átmosás térfogata és infúziójának sebessége;

- Air: a desztillált vizes atmoszféra után használt levegő térfogata és beadásának sebessége, amivel elkerüljük a víz és a következő oldat keveredését.

16. ábra – Általános beállítások panelje.

Az általános beállítások panelen (**Option** → **General**) a kísérlet általános információi és a megjelenített elrendezéssel kapcsolatos beállítások érhetőek el (16. ábra):

- Brain area & rat: mely agyterületet vizsgáljuk és milyen fajtájú patkányt használunk;

- Bin size: beállítható a frekvencia hisztogramok szélessége másodpercben;
- Optimise: beállítható, hogy mely csatornákat optimalizálja, amikor a Toolbar-on az Optimise gombra kattintunk (Duplicate Sorter: az egyes idegsejtek csatornáit; Unit: a bejövő analóg jel csatornája; Sorter: az összes WaveMark-ot tartalmazó csatorna);
- Analysis: a bal oldali információablakok közül az Analysis és Result ablakok beállításai:
 - Show Analysis: mutassa-e az Analysis ablakot, beállítható a magassága és a szélessége a képernyő százalékában;
 - Auto Analysis Window size: bekapcsolása esetén a vizsgált csatornák számának megfelelően állítja be az Analysis ablak magasságát, ez esetben a Result ablak mérete automatikusan igazodik hozzá;
 - Result Window: beállítható a magassága a képernyő százalékában, ha az Auto Analysis Window size nincs bekapcsolva;
 - Show Cursors: bekapcsolása esetén függőleges kurzorokkal jelöli a vizsgálat elemzése során összehasonlított szakaszokat;
- Notes: a bal oldali Notes ablak beállításai:
 - Show Notes: mutassa-e a Notes ablakot. Csak a szélessége állítható be, változtatás esetén az Analysis ablak szélessége is ugyanúgy változik, mert az oszlop szélessége állandó; magassága nem állítható, automatikusan kitölti függőlegesen a fennmaradó helyet;
 - Delete Notes: törölhetjük a Notes ablak tartalmát;
- Spike Monitor: be- és kikapcsolhatjuk a Spike Monitort, valamint bekapcsolás esetén beállíthatjuk a szélességét;
- Time Information: a vizsgálatból eddig eltelt időt és a még hátralévő időt mutatja (a bejövő analóg csatornák mintavételezésétől függ a vizsgálat maximális időtartama).

A csatornákat jelző középső ablak mérete nem változtatható, automatikusan kitölti a fennmaradó helyet. Amennyiben kikapcsoljuk a Spike Monitort, az Analysis és a Notes ablakokat, a teljes képernyőn az elvezetés csatornáit láthatóak.

17. ábra – Megjegyzés hozzáadása panel.

A Toolbar-on a **Notes** gombot kiválasztva tetszőleges megjegyzést szűrhatunk be (17. ábra), ami a TextMark csatornára kerül, valamint „#” kezdéssel megjelenik a bal oldali Notes ablakban is. A felugró ablakban azonnal szerepel az aktuális idő, a Notes sorba írhatjuk be a megjegyzést. A Time ablak manuálisan módosítható, de csak a legutóbbi TextMark bejegyzés utáni időpont lehet (a Spike2 program nem engedélyez korábbi beillesztést), ellenkező esetben közvetlenül a legutóbbi TextMark bejegyzés után kerül be. A **Set Time** gombra kattintva frissíti az időt az éppen aktuális időpontra.

18. ábra – Fájl mentése panel.

A teljes vizsgálat végeztével az **Option** → **Stop sample** gombjával leállítjuk az adatgyűjtést, majd az **Option** → **Save file** gombbal elmentjük a teljes fájlt. A

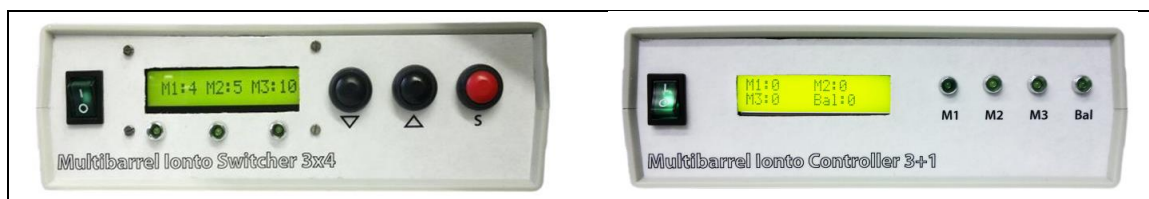
mentés előtt a beállítás panelen lehetőség van módosítani néhány beállítást, valamint megjegyzést írni a vizsgálathoz (18. ábra):

- Experiment: beállítható, hogy melyik agyterületről és melyik oldalról történt az elvezetés;
- File comments: a fájlba menthető megjegyzések:
 - az elvezetés koordinátái: AP, ML, V;
 - a megtörtént beavatkozások típusai, amit automatikusan bejelöl a script, de manuálisan is módosítható;
 - a vizsgálatban használt patkány fajtája;
 - 2 db egyéb megjegyzés;
- File: a fájl mentési útvonalát és a fájlnevet automatikusan hozza létre a script:
 - File name: tartalmazza a vizsgált agyi régió nevét, a vizsgálat dátumát, a vizsgált oldalt és a fájl sorszámát;
 - Path: egy előre megadott könyvtárba menti a fájlt, azon belül a vizsgált agyterület és a vizsgálat évének alkönyvtárába.

A **Save file** gombra kattintva elmenti a fájlt, a háttérben ilyenkor alakítja át a script a virtuális modul visszajelző csatornákat valódi csatornákká. A mentés eredményét a script jelzi, sikeres mentés esetén kiírja a mentett fájl elérési útvonalát (pl. D:/Electrophysiology/NAcc/2018/NAcc-20180318-1-1.smr)

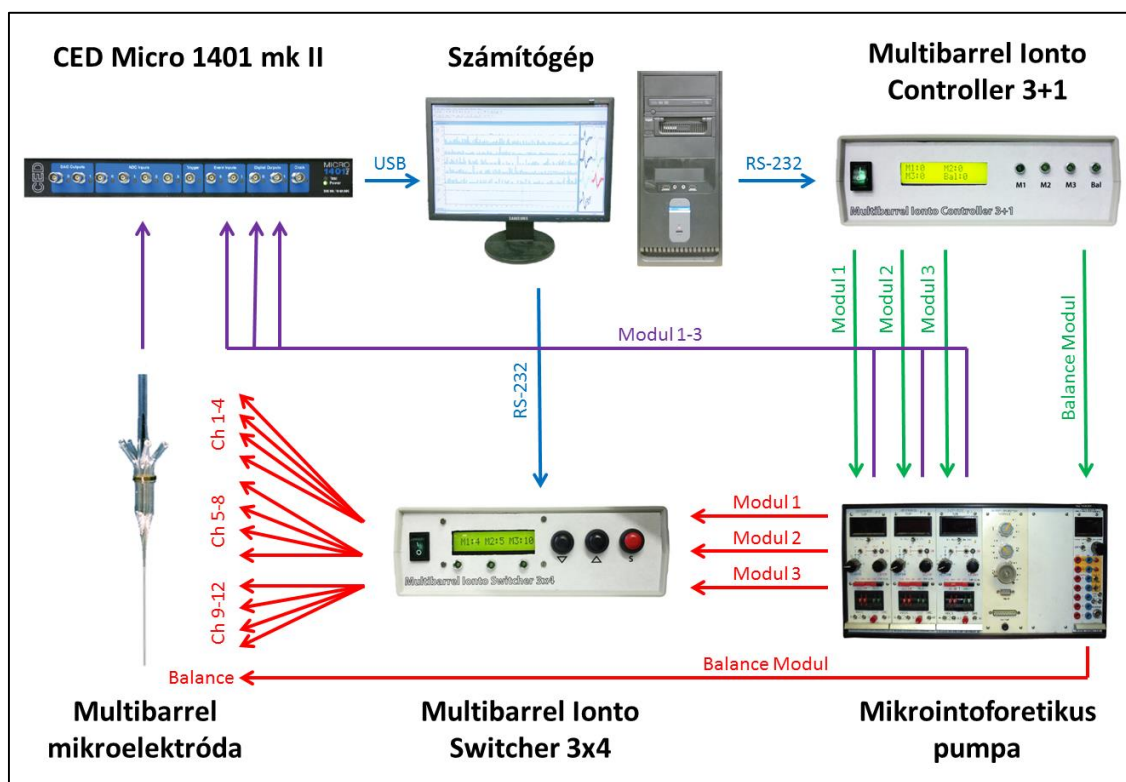
4.1.2.4. Mikroiontoforézis

Az elektróda környéki csöveibe töltött oldatok idegsejtek környezetébe való juttatására mikroiontoforézis készüléket (NeuroPhore BH-2, Medical Systems, Great Neck, New York, USA) használtunk (6. ábra alsó része és 20. ábra). Ezen készülék segítségével a környéki csövek és az adott agyterület extracelluláris tere között elektromos potenciál grádiens hozunk létre, ezáltal a töltéssel rendelkező részecskék az idegsejtek közvetlen környezetébe juttathatók. Az anyagkiáramlást meghatározó legfontosabb tényezők az ejekciós áram nagysága, az anyagra jellemző diffúziós állandó, a hidrosztatikus nyomásgrádiens és az elektrooszmózis [13, 54, 103].



19. ábra – A mikroiontoforetikus pumpa irányítására használt készülékek: Multibarrel Ionto Switcher 3x4 és Multibarrel Ionto Controller 3+1

A vizsgálat során használt mikroiontoforetikus pumpa egy analóg készülék, így számítógépről közvetlenül nem irányítható. Ahhoz, hogy a készülék a Spike2 programból irányítható legyen, szükség volt két készülék kifejlesztésére (19. ábra), amely beállítja modulonként a beadó áram erősségét (Multibarrel Ionto Controller 3+1) valamint a 3 modult szétosztja 12 csatornára és beállítja a beadó csatornát (Multibarrel Ionto Switcher 3x4) (20. ábra). Mindkét készülék teljes tervezését, nyomtatott áramkörének elkészítését, és azok megépítését magam hajtottam végre. A vezérlő mikrokontroller (ATmega32) felprogramozását az Arduino programnyelv segítségével végeztem.

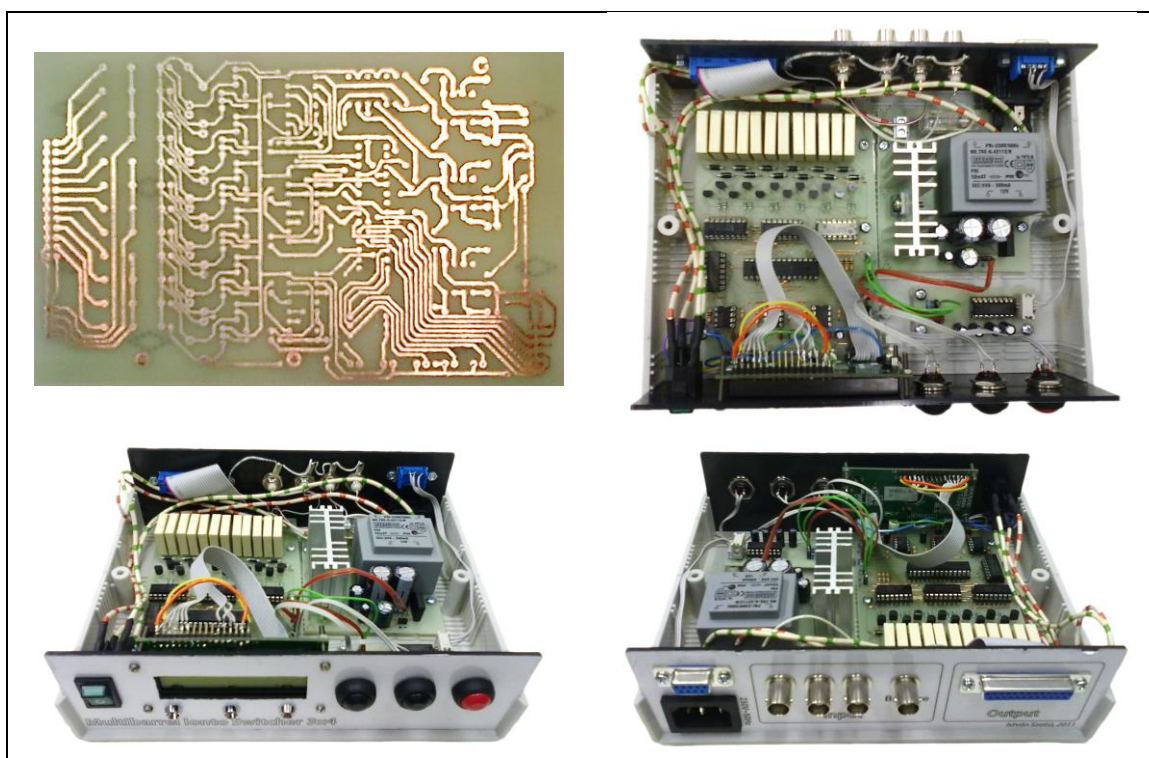


20. ábra – A mikroiontoforetikus ingerlés és elvezetés vázlatos elrendezése. A nyilak jelentése: kék: számítógépes kommunikáció (USB és RS-232); zöld: a mikroiontoforetikus pumpa beállításához szükséges áram ($1 \text{ nA} = 5 \text{ mV}$); piros: a mikroiontoforetikus pumpa által létrehozott nA-es áramerősségek ($\pm 250 \text{ nA}$ -ig); lila: az adatgyűjtő készülék által feldolgozott analóg jelek a multibarrel mikroelektrodából és a mikroiontoforetikus pumpa moduljaiból.

A Multibarrel Ionto Switcher 3x4 készülék három fő egységből áll (21. ábra):

- a transzformátor, ami a bejövő 220V-os váltóáramot alakítja át 5V-os egyenárammá;
- a kommunikációs egység, mely a bejövő és kimenő RS-232 (soros port) adatokat alakítja át TTL jelekké, amiket a mikrokontroller értelmezni tud;
- a fő egység, mely a mikrokontrolleren kívül tartalmaz 12 relét 3 csoportban, melyek segítségével a mikroinfúziós pumpa bejövő 3 moduljának jelét osztja le tizenkét csatornára: Modul 1 → 1-4 csatorna; Modul 2 → 5-8 csatorna; Modul 3 → 9-12 csatorna (20. ábra). Ezen kívül ez az egység vezérli az LCD-kijelzőt és dolgozza fel a gombok megnyomásából származó jeleket is.

A készüléket a számítógépről soros porton keresztül (vagy USB-RS-232 átalakító kábel segítségével), vagy a készülék elején található gombok segítségével állíthatjuk be. Amikor valamelyik modulon csatornaváltás történik, azt a kijelző alatt egy fénykibocsátó dióda (LED) felvillanása jelzi. Az „S” gombot (Select) megnyomva 1-2-3-szor kiválasztjuk az 1-2-3. modult, majd a le/fel nyilakkal tudjuk modulonként beállítani a kiválasztott csatornát, majd az „S” gomb 4. megnyomására a beállításokat véglegesíti és beállítja a modulokat a kiválasztott csatornákra (19. ábra).

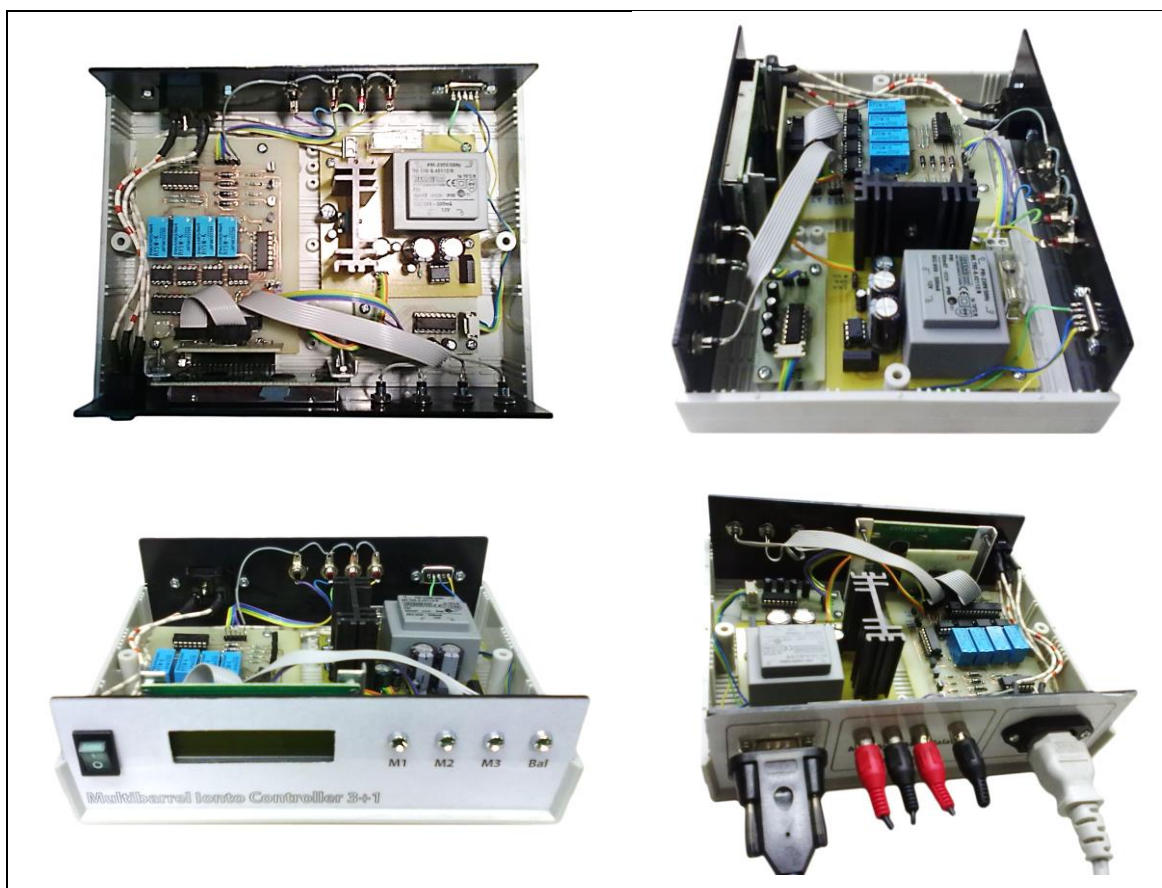


21. ábra – Multibarrel Ionto Switcher 3x4 nyomtatott áramköri lemeze és a készülék belső elrendezése, elülső és hátsó panelje.

A Multibarrel Ionto Controller 3+1 készülék három fő egységből áll (22. ábra):

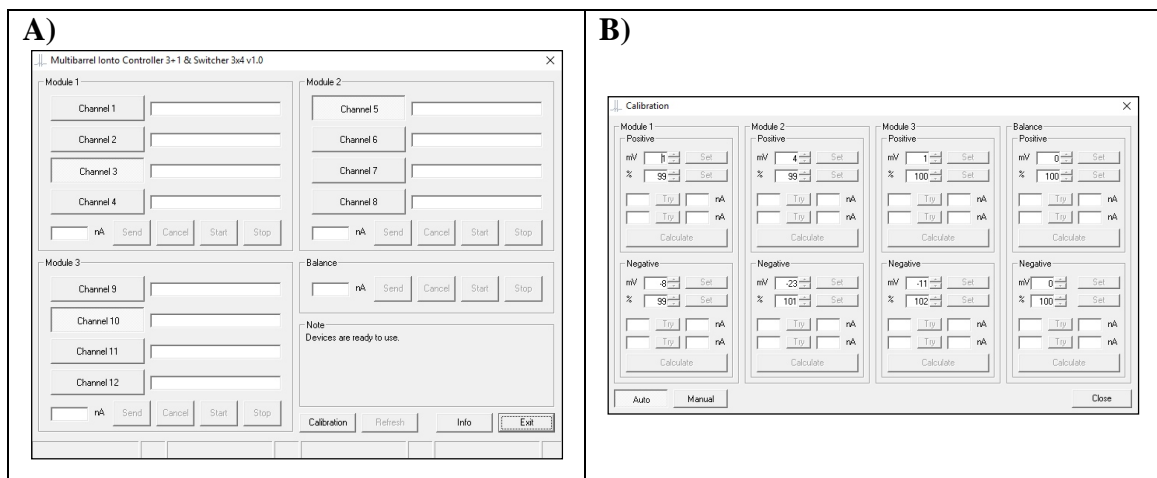
- a transzformátor, ami a bejövő 220V-os váltóáramot alakítja át 5V-os egyenárammá;
- a kommunikációs egység, mely a bejövő és kimenő RS-232 (soros port) adatokat alakítja át TTL jelekké, amiket a mikrokontroller értelmezni tud;
- a fő egység, mely a mikrokontrolleren kívül tartalmaz 4 digitális/analog konvertert, valamint egy 4-csatornás invertert. A mikroiontoforetikus pumpa beállítható külső forrásból vezérelve, ahol a beállított 1 nA 5 mV-os bejövő feszültségnek felel meg, tehát 30 nA-t 150 mV-tal lehet beállítani (20. ábra). A digitális/analog konverter létrehozza a megfelelő feszültséget, míg az inverter szükség esetén negatívvá alakítja azt át. Ez az egység vezérli az elülső panelen található LCD-kijelzőt és fénykibocsátó diódákat is.

A készülék csak számítógépről soros porton keresztül (vagy USB-RS-232 átalakító kábel segítségével) irányítható. Először beállítja az adott modulon használandó áramerősséget, majd a beadás közben az előlapon egy LED fényforrás jelzi a beadást, végül leállításakor törli a beállítást is (19. ábra).



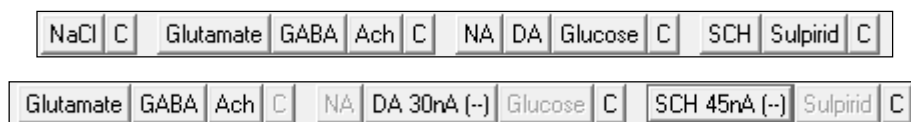
22. ábra – Multibarrel Ionto Controller 3+1 készülék belső elrendezése, elülső és hátsó panelje.

A készülékek nem csak a Spike2 programhoz írt script-tel irányíthatóak, hanem saját vezérlőprogramot is készítettem hozzá Visual Basic 6 programnyelven (23. ábra). Ennek segítségével – soros kommunikáció révén – kiválasztható modulonként a használni kívánt csatorna, beállítható az áramerősség, elindítható, leállítható és törölhető a beadás. A beállító feszültség nem mindig pontosan jelenik meg a modulokon, kismértékű eltérés lehetséges. Ennek a programnak a segítségével lehet kalibrálni az irányító áram feszültségét modulonként, külön a pozitív és külön a negatív áramerősségeket (23. ábra, B).

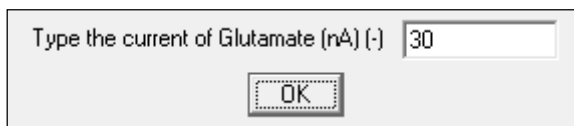


23. ábra – Multibarrel Ionto Controller 3+1 & Switcher 3x4 v1.0 program (A) és kalibrációs panelje (B).

A Spike2 programban, miután a vezérlőgombok közül kiválasztottuk a neurokémiai ingerlést (**Neurochemistry**), megjelennek a beállításokban megadott, az iontoforetikus beadáshoz használt anyagok modulonként blokkokba rendezve (24. ábra, felső sor). Az első blokk segítségével ellenőrizhetjük a balance modult, amikor pozitív és negatív áram segítségével tesztelhetjük a Na^+ és a Cl^- ionok hatását a vizsgált idegsejtek működésére (**NaCl**). A következő blokkokban állíthatjuk be a 3 modulon használt oldatokat. Egy modulon csak egy adott anyag választható ki, viszont párhuzamosan akár mindhárom blokkot is használhatjuk különböző agonisták és antagonisták hatásainak vizsgálatához. Az adott anyag kiválasztásakor egy felugró ablakban meg kell adni a beadó áram erősségét (a pozitív vagy negatív előjel előre deklarálva van minden oldat esetében, 25. ábra), ami meg is jelenik a beállító gombon (24. ábra, alsó sor), valamint a TextMark csatornán elmenti a beadandó anyag nevét és áramerősségét. Ugyanekkor a Multibarrel Ionto Controller 3+1 készülék kijelzőjén is megjelenik a beállított érték.



24. ábra – A neurokémiai ingerlés vezérlésének gombjai kiválasztás előtt (felső) és után (alsó).
Blokknként balról-jobbra: balance modul, 1. modul, 2. modul, 3. modul.



25. ábra – A neurokémiai ingerlés erősségének beállítása.

Ilyenkor az adott modulon másik anyag nem állítható be, azok a gombok inaktívvá válnak. Szükség esetén törölhető a beállítás a **C** gomb (Cancel) segítségével. Ilyenkor minden gomb újra aktívvá válik az adott modulon, és a készüléken is törlődik a beállított érték. A gombra kattintva lehet elindítani a beadást, amikor is a következő események játszódnak le:

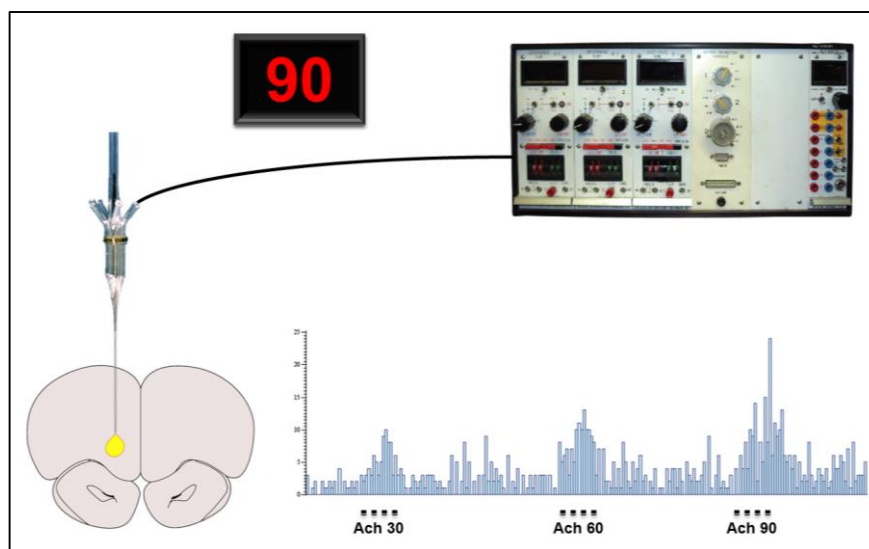
- a TextMark csatornán jelzi a beadás elindítását;
- a modulhoz tartozó virtuális csatornán (m1-3) TTL-jelként menti a beadás elindítását;
- a Multibarrel Ionto Switcher 3x4 átváltja a használt modult a megfelelő csatornára, mivel a beadási szünetekben egy üres csatornán áll a készülék, elkerülvén az esetleges véletlen beadásokat;
- a Multibarrel Ionto Controller 3+1 készülék elindítja a beadást a megadott áramerősséggel, amit egy fénykibocsátó dióda jelez is a készüléken,
- a gombon zárójelben mutatja, hány másodperce indult el a beadás, minden egyes modul esetében külön-külön (pl. **DA 30 nA (12s)**);
- a script elkezd elemezni az iontoforetikus készülék visszajelzését a beadásról. A kimeneten 1 nA 5 mV feszültségnek felel meg, így monitorozható a valós beadás. Amennyiben a csatorna valami oknál fogva blokkolódik (pl. eltömődik a mikrokapilláris), a beadó áram erőssége lecsökken. Amennyiben a program azt érzékeli, hogy a beadó áram legalább 30%-ot csökken, automatikusan leállítja a beadást, és megjegyzésként rögzíti a blokkolódás tényét a TextMark csatornán.

A beadás leállítása a gombra való ismételt kattintással érhető el, ekkor a következő események zajlanak le:

- a TextMark csatornán jelzi a beadás leállítását;
- a modulhoz tartozó virtuális csatornán (m1-3) TTL-jelként menti a beadás leállítását;
- a Multibarrel Ionto Controller 3+1 készülék leállítja a beadást;
- a modul gombjai visszaállnak alapállapotba (24. ábra, felső sor);
- a script leállítja az iontoforetikus készülékből érkező jelek elemzését;
- elemzi a script a beadás hatását. A program a beadás időtartama alatt rögzített idegi jeleket hasonlítja össze a beadás előtti, azonos időtartam alatt gyűjtött akciós potenciálokkal. Az elemzett időtartamokat kurzorokkal (függőleges vonalak a regisztrátumon) jelzi, majd a bal oldalon található Analysis ablakban kiírja a beadás időtartamát valamint neurononként a változásokat százalékban (10. ábra).

4.1.2.5. Neurokémiai vizsgálatok

Neurokémiai ingerlés során az elektróda környéki csöveibe különböző neurotranszmittereket és neuromodulátorokat töltöttünk. Többek között a következő anyagok neuronokra gyakorolt hatását vizsgáltuk: D-glukóz, noradrenalin (NA), dopamin (DA), acetilkolin (ACh), GABA, valamint D₁-receptor antagonistá SCH 23390 és D₂-receptor antagonistá szulpirid.



26. ábra – Neurokémiai ingerlés acetilkolin neurotranszmitterrel.

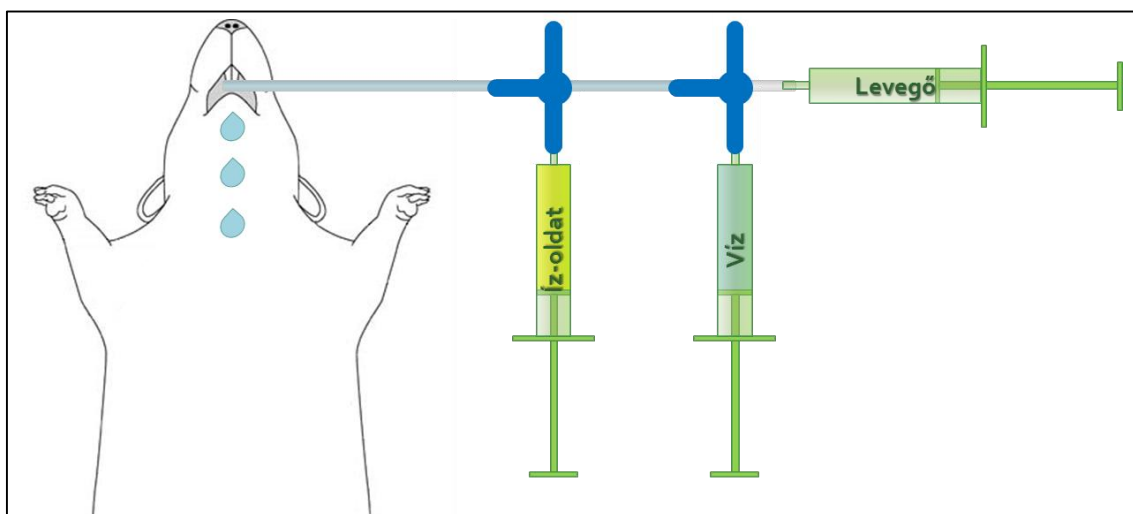
Minden neurokémiai anyag hatását három különböző áramerősséggel ($\pm 15-90$ nA, alacsony-közepes-magas) teszteltük. A beadás 10-15 másodpercig történt, majd a hatás lecsengése után legalább egy perc szünetet tartottunk a következő mikroelektroforetikus anyagbeadás előtt (26. ábra).

4.1.2.6. Intraorális íz-ingerlés

Egysejttevékenység elvezetése közben megvizsgáltuk az idegsejtek íz-válaszkészségét is. Ehhez a patkányok szájüregébe polietilén csövet helyeztünk, amelyen keresztül az öt alapíznek megfelelő oldatokat adtuk két különböző koncentrációban. Komplex ízként megvizsgáltuk a narancslé hatását is (2. táblázat).

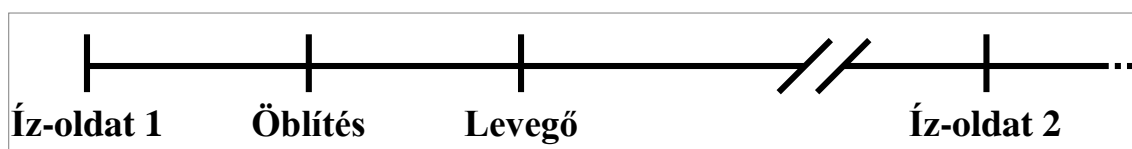
2. táblázat – Az intraorális ingerléshez használt oldatok.

Íz-oldat	Alacsony koncentráció	Magas koncentráció
Szukróz – édes	0,1 M	0,3 M
NaCl – sós	0,1 M	0,3 M
HCl – savanyú	0,01 M	0,03 M
QHCl – keserű	0,001 M	0,003 M
MSG – umami	0,1 M	0,3 M
Narancslé	10%	25%



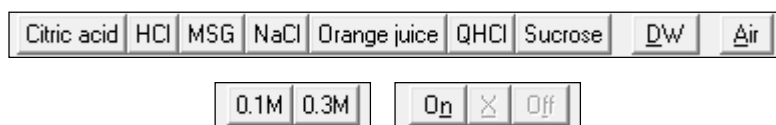
27. ábra – Az intraorális íz-ingerlés beadása.

Az íz-oldatok mennyisége 1-1,5 ml volt, amit 3-5 másodperc alatt fecskendeztünk az állat szájüregébe (27. ábra). A cső végét úgy alakítottuk ki, hogy az íz-oldat a szájüreg minden részébe eljuthasson. A beadást desztillált vizes atmoszféra és levegő befecskendezése követte, amellyel a rendszert megtisztítottuk a benne lévő íz-oldattól. Két íz-adás között a hatás lecsengése után legalább egy percet vártunk (28. ábra). A befogó készüléket olyan helyzetben rögzítettük, hogy a kísérleti állat feje alacsonyabban legyen, mint a teste, így a befecskendezett íz-oldat spontán kicsöpögött a szájüregből, ezáltal elkerültük, hogy az állat az oldatot lenyelje vagy aspirálja.



28. ábra – Az intraorális íz-ingerlési eljárás sémás rajza.

A Spike2 programban, miután a vezérlőgombok közül kiválasztottuk az intraorális ingerlést (), megjelennek a beadáshoz használt oldatok nevei, valamint az átöblítéshez használt desztillált víz és a levegő gombjai (29. ábra, felső sor). Az adott íz-oldat kiválasztása után megjelennek az oldatok előre definiált koncentrációi, melyek közül az egyiket kiválasztva elkezdhetjük a beadást (29. ábra, alsó sor bal oldali ábra). A gombokra kattintva a program a TextMark csatornára menti a beadáshoz használt oldat nevét és koncentrációját.



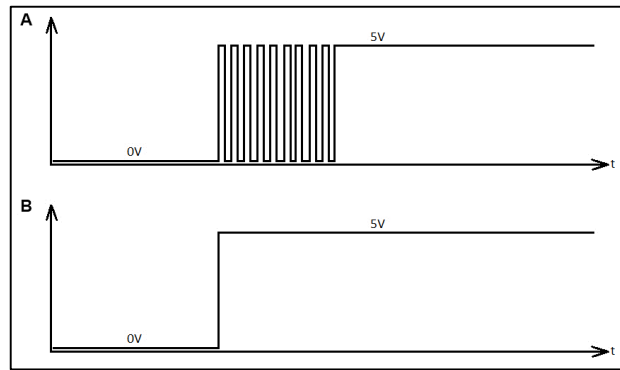
29. ábra – Az intraorális íz-ingerlés vezérlésének gombjai.

Felső sorban a kiválasztható oldatok (valamint desztillált víz és levegő az öblítéshez), az alsó sorban bal oldalon a kiválasztható koncentrációk, jobb oldalon a beadás gombjai.

Az ingerlés során korábban két személy volt szükséges a kivitelezéshez, az egyik személy juttatta be az oldatokat az állat szájüregébe a fecskendők segítségével a Faraday-kalitkában (27. ábra), míg a másik személy a számítógépen a gombok segítségével rögzítette a beadás indítását, az oldat szájüregbe való beérkezését, valamint a beadás végét (, ,) (29. ábra, alsó sor jobb oldali ábra). Azon ok miatt, hogy ne legyen szükség külön személyre a beadás eseményeinek rögzítéséhez,

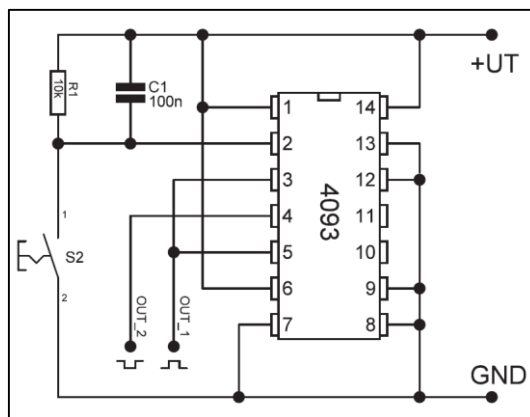
elkészítettem egy irányító és visszajelző rendszert a kísérlethez. Ez áll egy pergésmentesített nyomógombból, ami TTL-jelekkel jelzi a programnak az eseményeket, valamint egy visszajelző rendszerből, ami fénykibocsátó diódák segítségével jelzi a kutatónak a Faraday-kalitkában, hogy ténylegesen mi történik.

Amennyiben bekapcsoljuk a külső irányítás lehetőségét (13. ábra, Taste Button Remote Control), elég csak kiválasztani a használt oldatot és beállítani a koncentrációt, a beadás eseményeit már TTL-jelekkel irányíthatjuk. Ehhez egy 5V-os TTL-jelet generáló gombra volt szükség, ugyanis egy átlagos nyomógomb kontaktusainak zárás-nyitása közben az úgynevezett pergés, prellezés jön létre, amit az érintkezők és a mechanika tökéletlenségei okoznak. Így a képződött jelet a program nem egy, hanem több külön jelnek érzékelné (30. ábra).



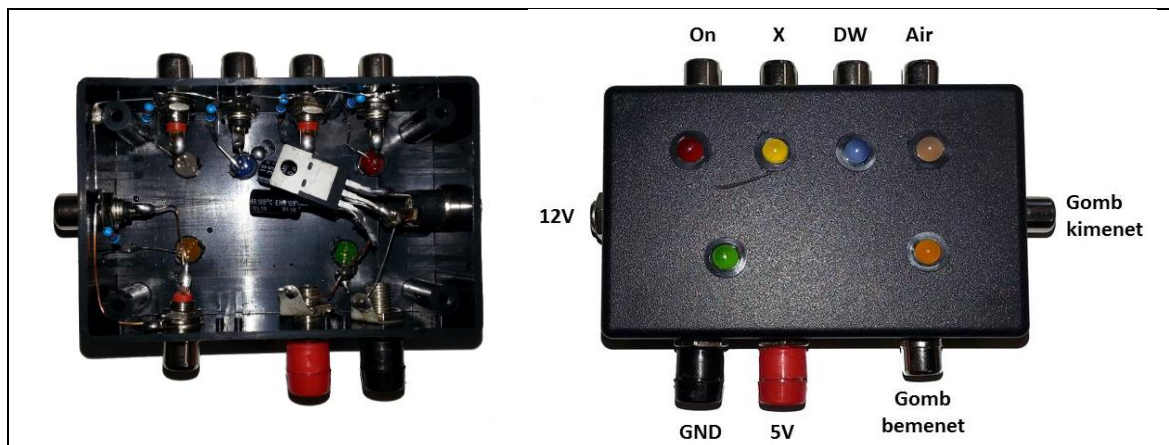
30. ábra – Nyomógomb lenyomásakor létrejövő jelek hagyományos nyomógomb (A) és pergésmentesített nyomógomb esetén (B)

Egy hagyományos nyomógomb pergésmentesítése megoldható volt egy CD4093 típusú NAND Schmitt Trigger segítségével, egy egyszerű áramkör megépítésével (31. ábra), mellyel már tökéletes TTL-jeleket küldhetünk a szoftver felé.



31. ábra – Nyomógomb pergésmentesítő áramköre.

A visszajelző készülék egyik feladata, hogy fénykibocsátó diódák segítségével nyomon követhessük a script által mentett eseményeket, valamint a Faraday-kalitkában található 12V-os egyenáramból a nyomógomb számára 5V-os feszültséget (TTL-jel) állítson elő egy 7805 típusú feszültségszabályozó segítségével (32. ábra). A készülék aljához csatlakozik a nyomógomb (5V és földelés a pergésmentesítéshez, valamint a nyomógomb bemenete), bal oldalon csatlakoztatjuk az eszközt a 12V-os feszültséghez, a jobb oldali csatlakozón keresztül jut el a jel az adatgyűjtő készülékbe. A bal alsó zöld LED jelzi, hogy a készülék áram alatt van, a jobb alsó narancssárga LED pedig a nyomógomb lenyomását mutatja. A felső sor csatlakozói a CED Micro 1401 mk II készülék által generált TTL-jelek fogadására szolgál, az alattuk található LED-ek jelzik a bejövő jeleket.



32. ábra – Az intraorális iz-ingerlés visszajelzéséhez használt készülék.

Miután kiválasztottuk a megfelelő oldatot és koncentrációt, minden egyes esemény kezdetekor meg kell nyomni a gombot, majd a script a folyamat során következő lépését hajtja végre. Ezen lépések a következők (a sorszám a gombnyomás sorszámát jelzi, a script minden egyes eseményt rögzít a TextMark csatornára):

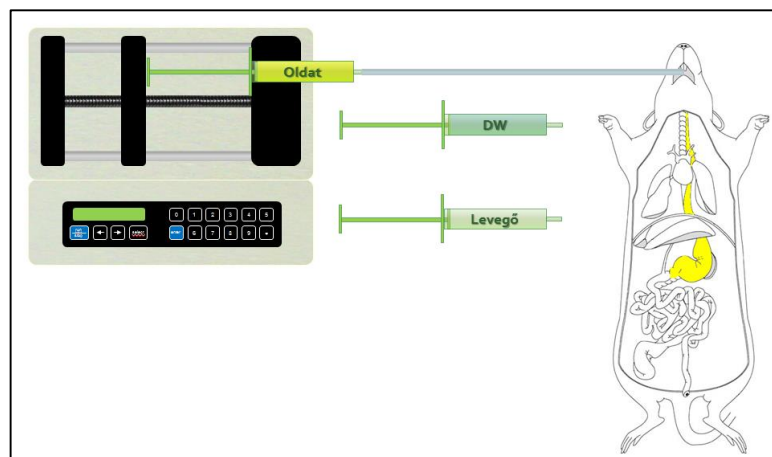
1. elindítja a beadást (On), felkapcsol a bal felső piros LED;
2. elérte az oldat a szájüreget (X), a piros LED elalszik és felkapcsol a sárga LED;
3. leállítja a beadást (Off), elalszik a sárga LED;
4. kiválasztja a desztillált vizes atmoszfért (DW), felkapcsol a kék LED;
5. elindítja a desztillált vizes atmoszfért (On), felkapcsol a piros LED is;
6. leállítja a desztillált vizes atmoszfért (Off), lekapcsol a piros és a kék LED is;

7. kiválasztja a levegős öblítést (Air), felkapcsol a jobb felső fehér LED;
8. elindítja a levegős öblítést (On), felkapcsol a piros LED is;
9. leállítja a levegős öblítést (Off), lekapcsol a piros és a fehér LED is.

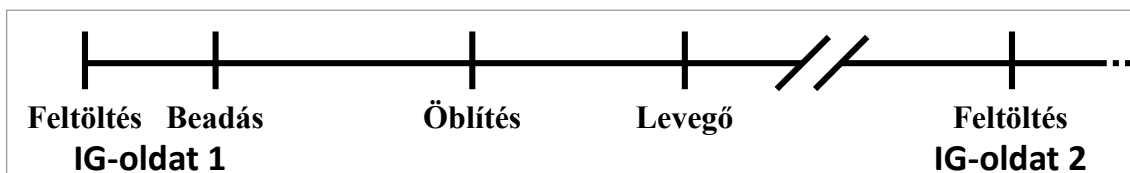
Ezután a program nem reagál több gombnyomásra, csak a következő oldat kiválasztása után. Az oldat beadásának végeztével a script elemzi az ingerlés hatására létrejött változást: a beadás időtartama (X és Off között) alatt rögzített idegi jeleket hasonlítja össze a beadás kezdete (On) előtti 30 másodperc alatt gyűjtött akciós potenciálokkal. Az elemzett időtartamokat kurzorokkal (függőleges vonalak a regisztrátumon) jelzi, majd a baloldalon található Analysis ablakban kiírja a beadás időtartamát valamint neurononként a változásokat százalékban (10. ábra).

4.1.2.7. Intragasztrikus infúzió

Az intragasztrikus (IG) infúzióhoz vékony polietilén csövet (Hibiki 3, Japán) használtunk, melyet az anesztéziát követően vezetünk le egy gyomorszonda segítségével a kísérleti állat gyomrába (33. ábra). Az egysejttevékenység elvezetése közben a következő oldatok hatását vizsgáltuk: NaCl (60 mM és 150 mM), D-glukóz (60 mM) és MSG (60 mM). Az oldatokat infúziós pumpa segítségével (Cole-Parmer EW-74900 Multichannel Syringe Pumps, Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA) adtuk be 1 ml/100 ttg mennyiségben. A beadó cső feltöltése után 1 percet vártunk, ezután indult az anyagbeadás 18 ml/h-s sebességgel. A rendszert ezután desztillált vízzel és levegővel átöblítettük, majd a következő feltöltésig 7 perc szünetet tartottunk (34. ábra).



33. ábra – Intragasztrikus ingerlés elrendezése.



34. ábra – Az intragasztrikus infúzió menetének sémás rajza.

A Spike2 programban, miután a vezérlőgombok közül kiválasztottuk az intragasztrikus ingerlést (**Intragastric**), megjelennek a beadáshoz használt oldatok nevei, valamint az átöblítéshez használt desztillált víz és a levegő gombjai (35. ábra, felső sor). Az adott oldat kiválasztása után megjelenik a feltöltés (**Filling up**) és beadás (**Administration**) lehetőségei, melyek közül az egyiket kiválasztva indíthatjuk el a pumpát (35. ábra, alsó sor). A gombokra kattintva a program a TextMark csatornára menti a beadáshoz használt oldat nevét és koncentrációját, valamint a feltöltés és beadás indítását és leállítását.



35. ábra – Az intragasztrikus infúzió vezérlésének gombjai.
Felső sorban a kiválasztható oldatok (valamint desztillált víz és levegő az öblítéshez), az alsó sorban bal oldalon a feltöltés és beadás, jobb oldalon az indítás gombjai.

A beadáshoz használt pumpa irányítása soros porton keresztül történik: először beállítja a beadandó oldat térfogatát, majd a beadás sebességet, amelyet már előzőleg beállítottunk a script-ben (15. ábra), majd elindítja pumpát. A pumpa automatikusan leáll, amikor eléri a beadandó mennyiséget, de mi is leállíthatjuk a programból, amennyiben arra van szükség. A pumpa beadás közben TTL-jelet küld az adatgyűjtő eszközhöz, így pontosan követhető utólag is, hogy mikor történt az infúzió. A beadás automatizálható is, ebben az esetben az oldat kiválasztása után a gombokat letiltja, a legutolsó beadás után vár 7 percet, feltölti az intragasztrikus csövet a megadott térfogattal, majd egy perc szünet után indítja a tényleges beadást. Mivel a fecskendőt cserélni kell a desztillált vizes öblítés és a levegő befecskendezéséhez, ezért ez a folyamat nem automatikus.

Az oldat beadásának végeztével a script elemzi az ingerlés hatására létrejött változást: a beadás időtartama alatt rögzített idegi jeleket hasonlítja össze a feltöltés kezdete előtti 5 perc alatt gyűjtött akciós potenciálokkal. Az elemzett időtartamokat

kurzorokkal (függőleges vonalak a regisztrátumon) jelzi, majd a baloldalon található Analysis ablakban kiírja a beadás időtartamát valamint neurononként a változásokat százalékban (10. ábra).

4.1.2.8. Elvezetési pontok jelölése

A vizsgálatok végeztével az elvezetési pont megjelölésére elektrokoagulációs technikát alkalmaztunk. A vizsgálat során használt elektródát – az elvezető és adatgyűjtő rendszerről leválasztva – egy elektromos stimulátorhoz (BioStim STC-7a és STE-7c, Supertech Kft., Magyarország) kapcsoltuk, melynek segítségével 5 percig 100 μ A áramerősséggel hoztuk létre a jelölési pontot a vizsgált agyterületen.

4.1.2.9. Szövettan

Vizsgálataink végeztével az elektróda pozíciójának megállapításához a kísérleti állatokat uretánnal (20%, 8 ml/ttkg) való túlaltatás után transzkardiálisan perfundáltuk, előbb fiziológiás sóoldattal, majd 4%-os formalinnal. A mintát 4%-os formalinban fixáltuk, az ebből készített 50 μ m-es metszeteket 0,5%-os krezil-violával festettük meg.

4.1.2.10. Adatok elemzése

Az elektrofiziológiai kísérleteink során az on-line és off-line analízisek saját, a Spike2 v6.16 szoftverhez írt scriptek használatával történtek. Az értékeléskor azokat a változásokat tekintettük gátlásnak ill. serkentésnek, amely esetekben a vizsgált idegsejtek tüzelési frekvenciája legalább 30%-kal (vagy 2 SD-vel) lefelé ill. felfelé megváltozott a spontán tüzelési frekvenciához képest, továbbá akkor, ha a válaszreakciók intenzitás (dózis) függőnek és ismételhetőnek bizonyultak. A csoporthatások statisztikai értékelésére χ^2 próbát alkalmaztunk az SPSS Statistics 25 (IBM, Armonk, New York, USA) programcsomag használatával.

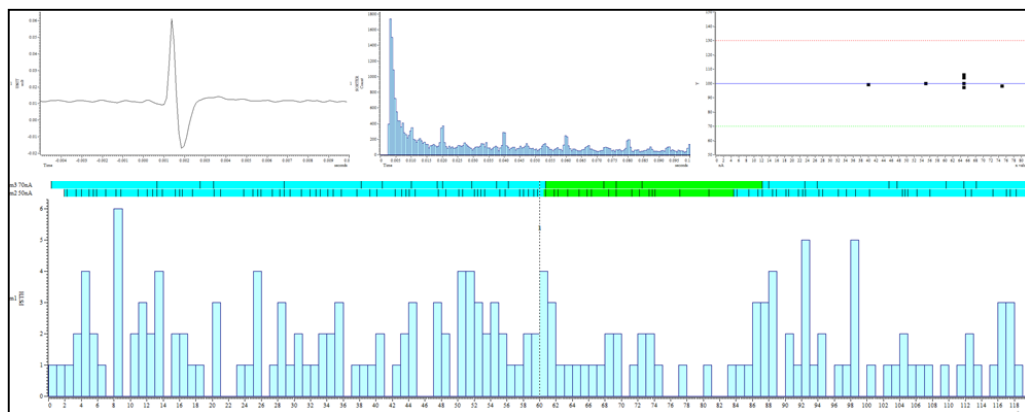
4.1.2.10.1. On-line elemzés

Az elvezetés során az on-line script folyamatosan regisztrálta (külön marker-csatornán) a beadások típusát (neurokémiai, intraorális vagy intragasztrikus

ingerlés), kezdetét és végét, a beadott anyag minőségét és mennyiségét. Minden egyes stimulus végén összehasonlította a változás mértékét az alapfrekvenciához képest, így a vizsgáló azonnali információt kapott arról, hogy történt-e stimuláció vagy gátlás, valamint ezek alapján szükséges-e ismételni az adott anyaggal való stimulációt. A script lehetőséget biztosít a vizsgáló általi, adott időpillanathoz menthető megjegyzések hozzáadására is.

4.1.2.10.2. Off-line elemzés

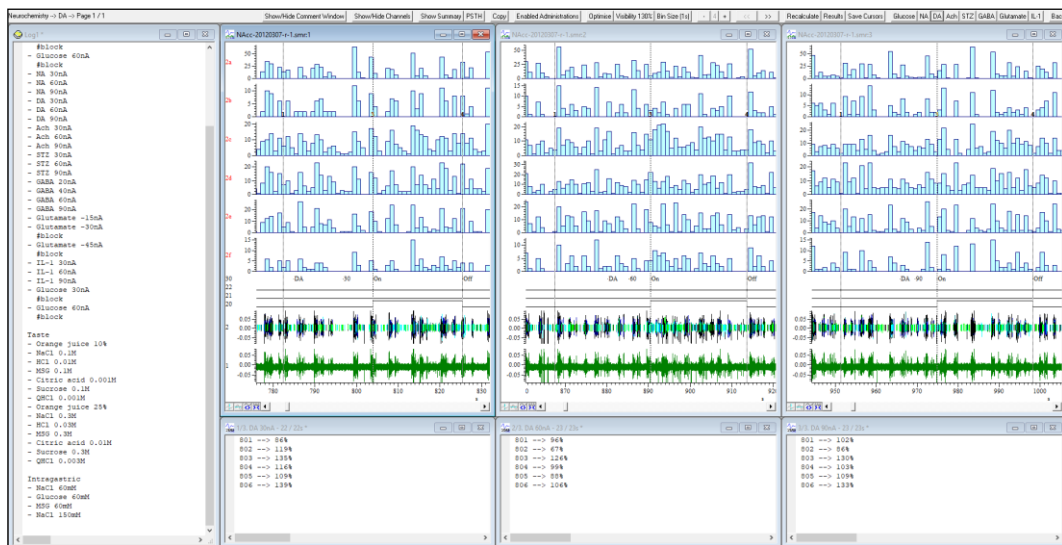
Az off-line elemzés során egy másik, erre a célra írt script segítségével részletesen kielemezhető a vizsgálat teljes menete. A script indításkor megvizsgálja a fájlt az on-line script által a TextMark csatornán elhelyezett markerek segítségével, kigyűjtve az összes stimulációt és megjegyzést. Az akciós potenciálok megfelelő szűrésének eldöntésére kétféle lehetőség is rendelkezésre áll: megvizsgálhatjuk az adott idegsejt összes akciós potenciáljának átlagát, (Waveform Average), annak alakját és időtartamát, valamint az akciós potenciálok között eltelt időtartamok hisztogramját (Interval Histogram) (36. ábra bal felső és középső kép).



36. ábra – Az off-line scriptben használható, az elemzést segítő funkciók
Waveform average (bal fent), Interval Histogram (fent középen),
Summary (jobb fent), Peristimulus Histogram (alul).

A script képes minden beadott anyaghoz tartozó összes stimulációt kikeresni, szimultán megjeleníteni és sejtenként kiszámolni a változások mértékét (37. ábra). Az elemzést segítő megtekinthetjük az adott anyaghoz tartozó összes változást egy diagramon (Summary), ahol a vízszintes tengelyen a mikroiontoforetikus áram intenzitása vagy a használt oldat koncentrációja szerepel, a függőleges tengelyen pedig a változás mértéke látható százalékban kifejezve. Vízszintes kék vonal jelzi az

alapfrekvenciát, a piros és zöld pedig a $\pm 30\%$ -os határt (serkentődés/gátlás) (36. ábra jobb felső kép).



37. ábra – Az off-line script elemző elrendezése.

Többszörös stimuláció esetén a beadások összegezhetőek, így Peristimulus Histogram formájában egyértelműen ábrázolható a serkentő vagy gátló hatás (36. ábra alsó kép). Az elemzés során lehetőség van a sikertelen beadások kizárására, a vizsgált időtartamok módosítására is. Minden beállítás és változtatás menthető, így a következő megnyitáskor már a módosított adatokkal dolgozhatunk tovább.

Exported file(s)		
Source	Actual file	
1 file	Select Folder	
NAcc-20120307-r-1.smr		
<input checked="" type="checkbox"/> Administrations		
Administration preferences		
<input checked="" type="checkbox"/> Figures		
- visibility (%)	130	
- bin size NC (s)	1	
- bin size Taste (s)	0.1	
- bin size IG (s)	1	
<input checked="" type="checkbox"/> Data		
<input checked="" type="checkbox"/> Waveform average		
Waveform average preferences		
<input checked="" type="checkbox"/> Figures	<input checked="" type="checkbox"/> with cursors	
<input checked="" type="checkbox"/> Data		
<input checked="" type="checkbox"/> INTH	<input checked="" type="checkbox"/> Summary	<input checked="" type="checkbox"/> PSTH
<input checked="" type="checkbox"/> Note	<input checked="" type="checkbox"/> Result	
<input checked="" type="checkbox"/> Add time extension to the end of file/folder names		
Cancel		OK

38. ábra – A kísérleti adatok exportálási lehetőségei.

Az exportálási funkció segítségével minden egyes stimuláció, valamint a fent említett összes funkció kimenthető kép formájában, nem csak az aktuálisan elemzett elvezetésből, hanem egy könyvtárban található összes fájlból is. A képek mellett az adatokat is exportálhatjuk Excel formátumban, így a későbbi statisztikai elemzéshez az eredmények egyből felhasználhatóak (38. ábra).

4.1.3. Metabolikus és magatartási vizsgálatok

A mOFC-beli GM neuronok metabolikus szerepének tisztázására intracerebrális STZ mikroinjekciót végeztünk, melyhez a kísérleti állatok koponyájára előzetes műtéti ülésben vezető kanült rögzítettünk, ezen keresztül tudtuk – a patkány éber állapotában – a beadó kanüloket a megfelelő helyre pozicionálni.

4.1.3.1. Műtét

Intraperitonealisan adott ketamin (Calypsol, 50 mg/ml; Richter Gedeon Nyrt., Magyarország; 0,3 ml/100 ttg) injekcióval végeztük az altatást. Az állatok fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, ezután a fejbőrön hosszanti metszést ejtettünk. Miután megtisztítottuk a koponyafelszínt, fogászati fúró segítségével kb. 4-5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk a Bregma elé. A vezető kanült Paxinos és Watson agyatlasza [101] alapján mikromanipulátorral (MN-33, Narishige, Japán) pozicionáltuk (AP: B+4,2 mm; ML: 0,9 mm).

Az általunk rozsdamentes acélcsőből (23 G) készített vezető kanült a dura felszínére helyeztük, majd fogászati akriláttal a csontba csavart csavarokhoz, illetve a koponyához rögzítettük. A műtét végén antiszeptikus hintőport (Tetran, Richter Gedeon Nyrt., Magyarország) alkalmaztunk és kapcsokkal zártuk a sebet.

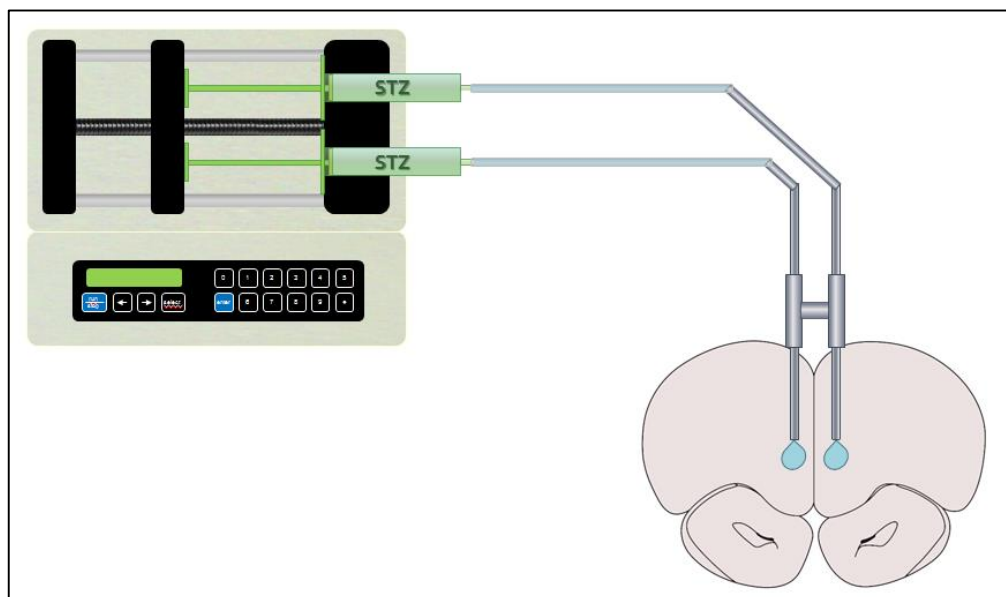
Azoknál az állatoknál, melyek az íz-reaktivitási tesztben részt vettek, egy polietilén csőből (Hibiki No. 4, Inter Medical Co., Ltd., Tokyo, Japán; külső átmérő: 1,33 mm) készített krónikus intraorális íz-kanül is beültetésre került. Az íz-kanülok buccalis végét láng fölötti olvasztással kiszélesítettük, hogy ezáltal elkerüljük azok szájüregből való kimozdulását. Az íz-kanült a szájüregből a felső első moláris fog mellett vezettük ki és vittük fel a bőr alatt egészen a nyaki részig, ahol sebészeti fonállal kiöltöttük a bőrhöz, hogy helyzetét rögzítsük. A műtét után a vizsgálat napjáig folyamatosan ellenőriztük az íz-kanülok helyzetét (nem csúsztak-e ki, nem

akadályozzák-e az állatokat a táplálkozásban, nincs-e gyulladás), valamint átjárhatóságukat.

A műtét utáni egyhetes felépülési periódust követően történt a bilaterális intracerebrális STZ vagy vehiculum mikroinjekció.

4.1.3.2. Mikroinjekció

Éber, kézben tartott állatokban bilaterális mikroinjekciót végeztünk 7,5 µg STZ-t (Sigma S-0130, 10 µg/µl fiziológiás sóoldatban oldva) tartalmazó oldattal (STZ csoport), illetve 0,75 µl fiziológiás sóoldattal (kontroll csoport). A műtét során beültetett rozsdamentes acél vezető kanülökön keresztül vezettük le az ugyancsak rozsdamentes acél beadó kanülöket (30 G) a mOFC területére (Paxinos agyatlasza [101] alapján: AP: B+4,2 mm; ML: 0,9 mm; V: 2,3 mm a durától). A beadó kanülök polietilén csövön keresztül 25 µl-es Hamilton mikrofecskendőhöz csatlakoztak, az anyagbeadás mikroinfúziós pumpa segítségével történt (Cole-Parmer EW-74900 Multichannel Syringe Pumps, Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA) 0,75 µl/perc sebességgel, amit további 1 perc várakozás követett annak érdekében, hogy teljes legyen az oldat diffúziója a célterületen és megakadályozzuk az oldat visszaáramlását a kanülök eltávolításakor (39. ábra).



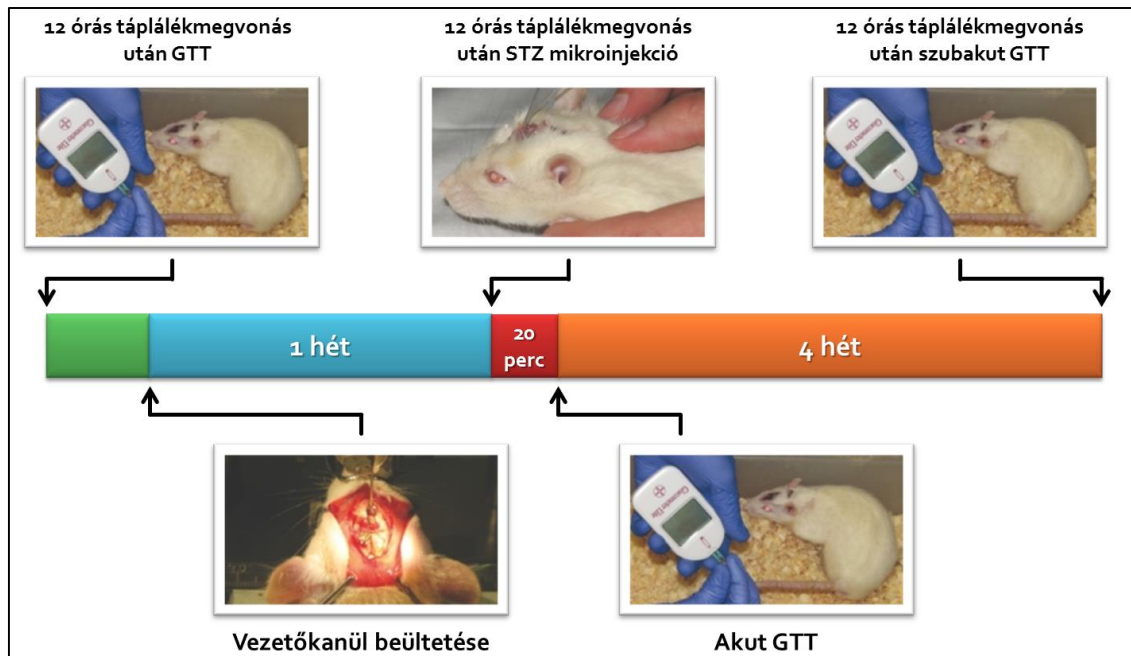
39. ábra – Bilaterális mikroinjekció.

4.1.3.3. Metabolikus vizsgálatok

Éber állatokban bilaterális STZ vagy fiziológias sóoldat mikroinjekciója után intraperitoneális glukóz tolerancia tesztet végeztünk, valamint megmértük az állatok metabolit plazmaszintjeit is.

4.1.3.3.1. Intraperitoneális glukóz tolerancia teszt

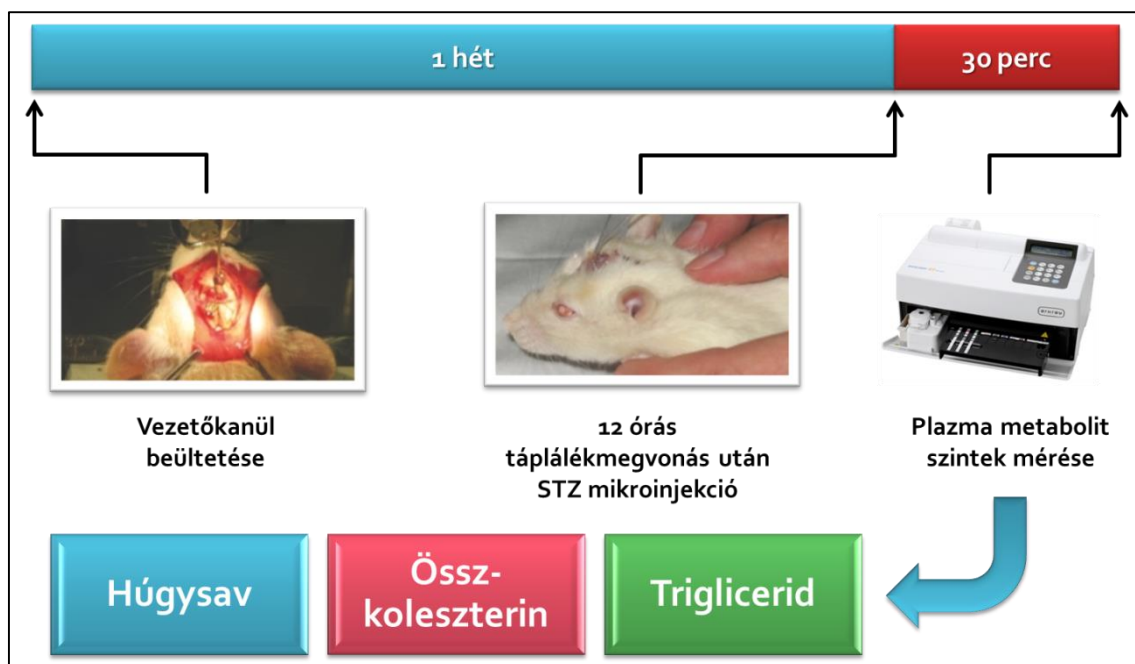
A kísérleti állatok 12 órás éheztetését követően – a nemzetközi standardoknak megfelelően – került sor a glukóz tolerancia teszt (GTT) elvégzésére. A cukorterhelést intraperitoneálisan adott 20%-os D-glukóz oldattal (0,2 g/100 ttg/ml) végeztük két alkalommal, először az agyi mikroinjekció után 20 perccel (akut GTT), majd 4 héttel később (szubakut GTT) (40. ábra). A vérmintát az elemzéshez a patkány farokvénájából nyertük először cukorterhelés előtt, majd 9, 18, 30, 60 és 120 perccel a terhelés után. A méréseket kézi glukométerrel (Glucometer Elite, Bayer, Németország) végeztük.



40. ábra – Intraperitoneális glukóz tolerancia teszt elvégzésének menetrendje.

4.1.3.3.2. Metabolitok plazmaszintjének mérése

Az össz-koleszterin, a trigliceridek és a húgysav plazmaszintjének meghatározására – a nemzetközi standardoknak megfelelően – 12 órás táplálékmevönást követően került sor. Az agyi mikroinjekció után 30 perccel farokvénából vérmintát nyertünk, amiből szárazkémiai kis laborautomata (Spotchem EZ SP4430, Arkay, Japán) segítségével határoztuk meg a vérplazmában a metabolit szinteket (41. ábra).



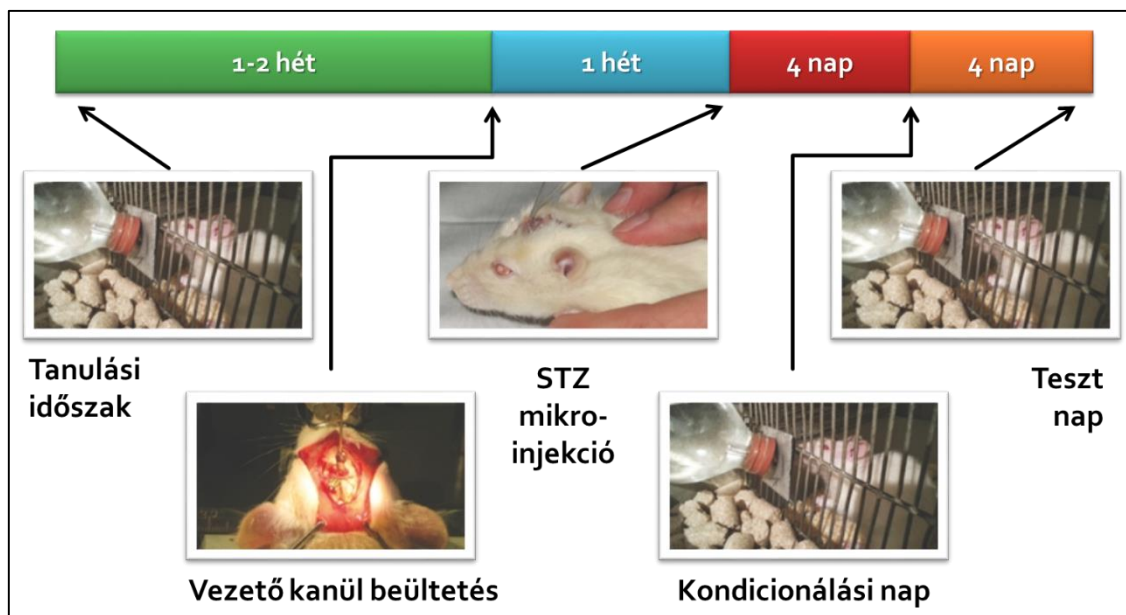
41. ábra – Plazma metabolitszintek mérésének menetrendje.

4.1.3.4. Magatartási vizsgálatok

Éber állatokban bilaterális STZ vagy fiziológias sóoldat mikroinjekciója után kondicionált íz-averziós és íz-reaktivitási teszteket végeztünk.

4.1.3.4.1. Kondicionált íz-averzió vizsgálata

A kondicionált íz-averzió olyan tanult magatartási forma, melynek segítségével elkerülhetjük a potenciálisan veszélyes táplálékot. Ha egy adott táplálék elfogyasztása után gasztrointesztinális diszkomfort jön létre, akkor azt a táplálékot a jövőben kerüljük, elutasítjuk. A kondicionált íz-averzió már az első társítást követően kialakul, még akkor is, ha a feltételes (táplálék íze) és a feltétlen inger (megbetegedés) között órák telnek el.



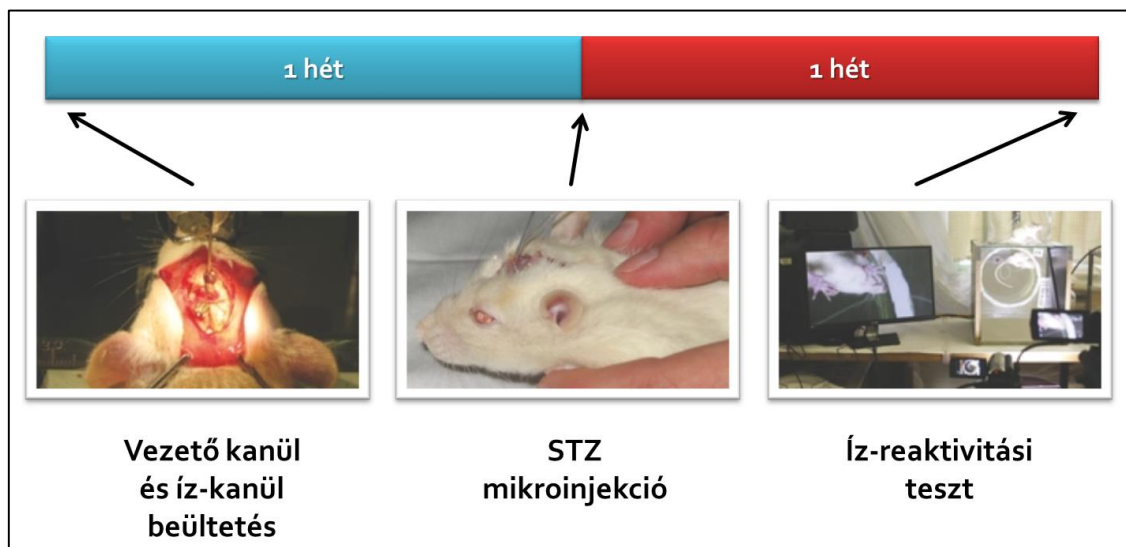
42. ábra – A kondicionált íz-averzió vizsgálatának menetrendje.

A kísérlet során először megtanítottuk a patkányoknak, hogy napi folyadékmennyiségüket 30 perc alatt fogyasszák el délelőtt 10:00 és 10:30 között (42. ábra). A sikeres tanulási fázis után került sor a vezetőkanülök beültetésére, mely után a felépülési periódusban *ad libitum* fogyaszthattak folyadékot. A kondicionálási napon (négy nappal a STZ vagy a fiziológias NaCl mikroinjekció után) az állatok 30 percig fogyaszthattak szacharin oldatot, majd 30 perc múlva gasztrointesztinális diszkomfortot váltottunk ki intraperitonealisan adott lítium kloriddal (0,15 M,

20 ml/ttkg). Ezután az állatok 3 napig ismét naponta 30 percig kaptak vizet, majd a negyedik (teszt) napon a vizet ismét szacharin oldatra cseréltük az itatási időszakban. A statisztikai számítások során összehasonlítottuk a szacharin oldat fogyasztását a STZ kezelt és a kontroll csoportban a kondicionálási és a teszt napon is.

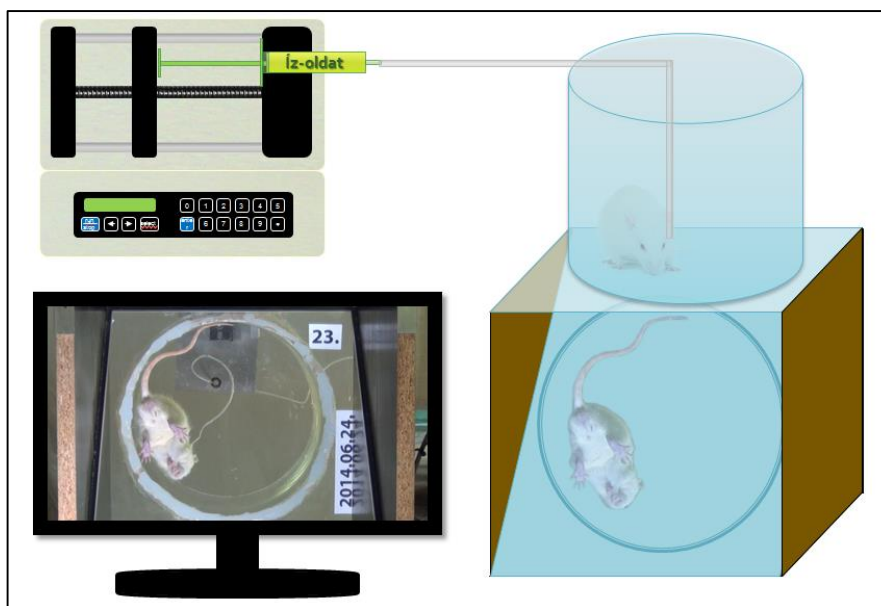
4.1.3.4.2. Íz-reaktivitási teszt

Az íz-reaktivitási teszt előkészítéseként az operáció során a fejtetőre beépített vezető kanül mellett egy íz-inger oldatok befecskendezésére szolgáló íz-kanült is beültettünk az állatok szájüregébe (ld. 47. oldal). Az egy hetes felépülési periódust követően került sor a STZ vagy a NaCl bilaterális intracerebrális mikroinjekciójára. A következő 6 napban az állatokat hozzászoktattuk a kísérlet során használt plexiüveg cylinderben való tartózkodáshoz, mely során az íz-kanült desztillált vízzel mostuk át. Az íz-reaktivitási tesztet 1 héttel az agyi mikroinjekció után végeztük (43. ábra).



43. ábra – Az íz-reaktivitási teszt elvégzésének menetrendje.

A kísérleti állatok viselkedésének és szájának megfigyeléséhez az üvegcylinder (magasság és átmérő: 30 cm) alá tükröt rögzítettünk 45°-os szögben (44. ábra). A patkányok viselkedését Full HD videókamerával (Panasonic HC-V270) rögzítettük és a felvételt képkockánként elemeztük.



44. ábra – Az íz-reaktivitási teszt elvégzésére használt elrendezés.

3. táblázat – Íz-reaktivitási teszt során használt oldatok

Íz-oldat	Alacsony koncentráció	Magas koncentráció
Szukróz – édes	0,05 M	0,5 M
NaCl – sós	0,05 M	0,5 M
HCl – savanyú	0,03 M	0,3 M
QHCl – keserű	0,03 mM	3 mM
MSG – umami	0,05 M	0,5 M

Az állatok két különböző koncentrációban kapták az öt alapíznek megfelelő íz-oldatokat (3. táblázat). Mikroinfúziós pumpa segítségével (Cole-Parmer EW-74900 Multichannel Syringe Pumps, Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA) állandó sebességgel (0,5 ml/min) kétszer 0,5 ml íz-oldatot fecskendeztünk be 1-1 perc alatt a kísérleti állatok szájüregébe az íz-kanülon keresztül, a két beadás között rövid, kb. egyperces szünetet tartva. Ezután az íz-kanült desztillált vízzel átöblítettük és levegővel átfújtuk. A pumpa irányítása számítógépről történt soros porton keresztül egy általam írt script segítségével. A program nem csak beállítja a megfelelő sebességet és térfogatot, hanem egy diagramon ki is rajzolja a beadott mennyiséget, így követhető, hogy hol is tartunk a vizsgálat során. A pumpa digitális (TTL) visszajelzését felhasználva a vizsgálat során használt készülékre egy fénykibocsátó diódát helyeztem el, így a videón pontosan látható, hogy mikor is történt beadás.

Az értékeléshez Grill és Norgren módosított, laboratóriumunkban adaptált, nemzetközileg elfogadott protokollját [30, 80, 118, 125] alkalmaztuk, mely során az állatok fajspecifikus mimikai, poszturális és lokomóciós válaszait vizsgáltuk. A protokoll szerint ingerstív, vagyis elfogadó reakciónak számít a ritmikus szájmozgás, a középső és oldalsó ritmikus nyelvöltögetés és a mancsnyalás. Averzív, vagyis elutasító magatartás a száj tátás, az álldörzsölés, a fejrázás, a mancsrázás és a komplex lokomotoros mozgássor.

Az értékelés során minden egyes íz-oldat esetében a válaszmintázatok előfordulása, intenzitása és időtartama alapján mind az ingerstív, mind az averzív magatartásformákat minimum három, gyakorlott bíráló pontozta 0-tól 3-ig. A bírálók nem ismerték a vizsgált egyedek csoportbeosztását. Az ingerstív és averzív íz-reaktivitási index kiszámításához a bírálók által adott pontszámok átlagát a maximálisan adható pontszámmal elosztottuk, így minden egyes íz-oldat esetében az íz-reaktivitási indexek 0 és 1 közötti értéket vehettek fel.

4.1.3.5. Szövetteni vizsgálat

Vizsgálataink végeztével a kísérleti célterület pozíciójának megállapításához a kísérleti állatokat uretánnal (20%, 8 ml/ttkg) való túlaltatás után transzkardiálisan perfundáltuk, előbb fiziológias sóoldattal, majd 4%-os formalinnal. Ezután az agyakat a koponyából kiszabadítva 4%-os formalinban fixáltuk, s az ezt követően belőlük készített 50 µm-es metszeteket 0,5%-os krezil-violával festettük meg.

4.1.3.6. Az adatok statisztikai értékelése

Magatartási és metabolikus kísérleteink eredményeit Student féle t-próbával, valamint többszemponos varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltük az SPSS Statistics 25 (IBM, Armonk, New York, USA) programcsomag használatával. Post-hoc összevetésre a Tukey-tesztet használtuk. A különbségeket $p < 0,05$ esetén értékeltük szignifikánsnak.

4.2. A nucleus accumbens vizsgálatok eredményei

4.2.1. Elektrofiziológiai eredmények

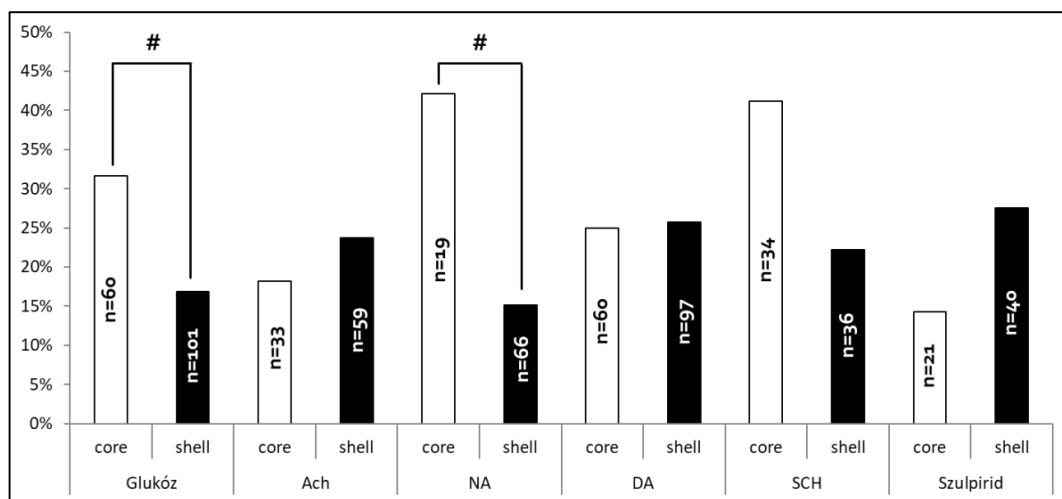
4.2.1.1. Neurokémiai vizsgálatok

A nucleus accumbens-ben összesen 161 neuron aktivitását vizsgáltuk mikroelektroforetikus anyagbeadás során: 60 sejtet a core régióban, míg 101-et a shell-ben vezetünk el. A neurokémiai stimuláció eredményeit a 4. és 5. táblázat, valamint a 45. és 46. ábra foglalja össze.

4. táblázat – A NAcc core és shell idegsejtjeinek válaszkészsége mikroelektroforetikusán adott anyagokra.

	D-glukóz		Ach		NA		DA		SCH		Szulpirid	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
core	19	41	6	27	8	11	15	45	14	20	3	18
shell	17	84	14	45	10	56	25	72	8	28	11	29

+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.



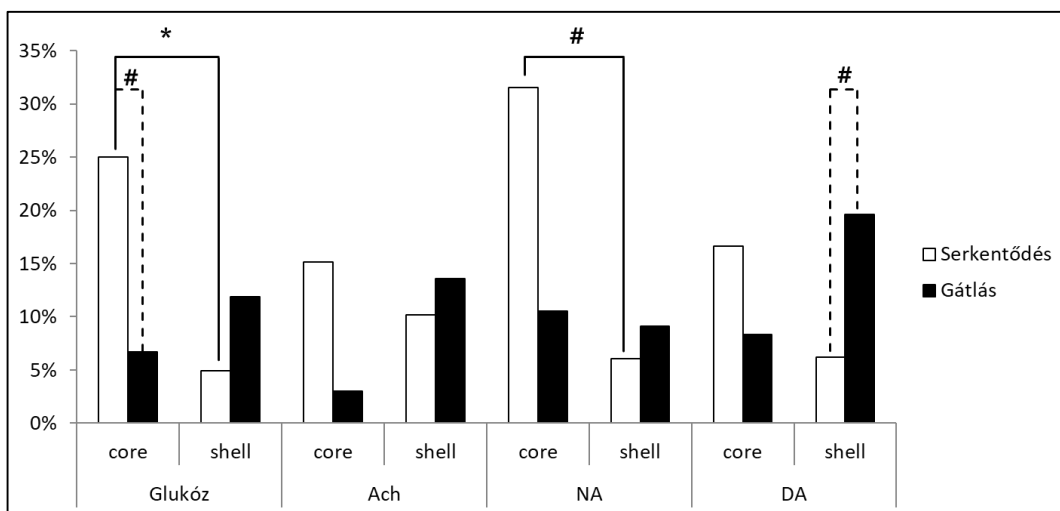
45. ábra – Mikroelektroforetikusán adott D-glukózra, acetilkolinra (Ach), noradrenalinra (NA), dopaminra (DA), SCH 23390-re (SCH) és szulpiridre mutató válaszkészség patkány NAcc core és shell régiójában (# $p < 0,05$).

A core régióban a 60 neuronból 19 (31,7%) mutatott válaszkészséget glukózra, míg a shell-ben 101 idegsejtből mindössze 17 (16,8%) bizonyult glukóz-monitorozó neuronnak (45. ábra). A core-ban a GR sejtek voltak nagyobb arányban, a shell-ben

viszont glukóz hatására gátlódó sejteket találtunk nagyobb számban. A core régióban a GR sejtek aránya szignifikánsan nagyobb, mint a GS sejteké (46. és 47. ábra).

5. táblázat – Mikroelektroforetikusan adott D-glukóz, acetilkolin (Ach), noradrenalin (NA) és dopamin (DA) serkentő (+) és gátló (-) hatása patkány NAcc core és shell régiójában.

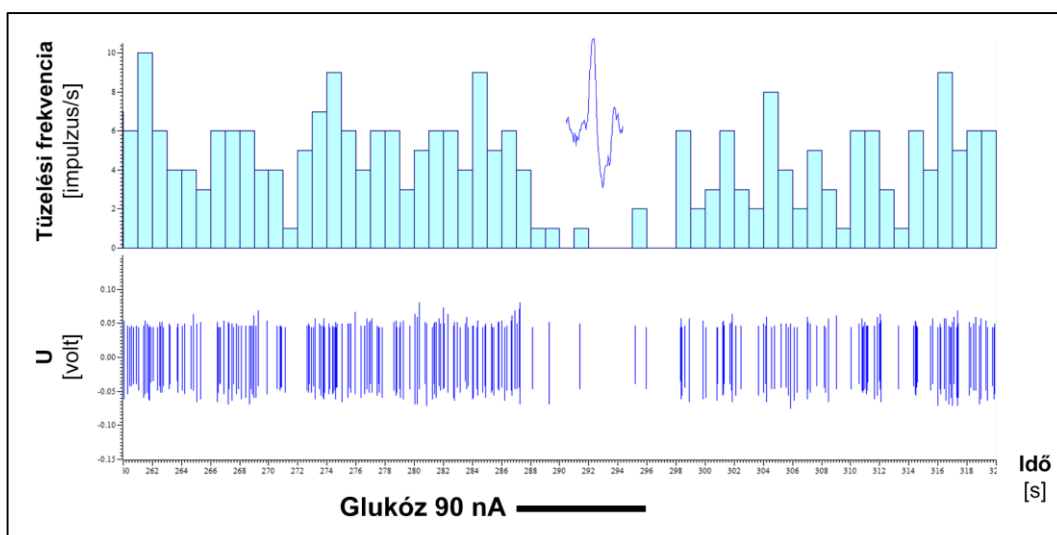
	D-glukóz		Ach		NA		DA	
	+	-	+	-	+	-	+	-
core	15	4	5	1	6	2	10	5
shell	5	12	6	8	4	6	6	19



46. ábra – Mikroelektroforetikusan adott D-glukóz, acetilkolin (Ach), noradrenalin (NA) és dopamin (DA) idegsejt működést serkentő ill. gátló hatása patkány NAcc core és shell régiójában (# $p < 0,05$; * $p < 0,001$). A sejszámok megegyeznek a 45. ábra adataival.

Ach mikroelektroforetikus adására hasonló arányban reagáltak mindkét régió idegsejtjei. NA esetében a core régióban szignifikánsan nagyobb volt a reagáló – ezen belül is a serkentődő – sejtek aránya, mint a shell-ben (45. és 46. ábra).

A dopamin-érzékenység azonosnak mondható a két régióban, viszont a shell régióban szignifikánsan nagyobb volt DA hatására gátlódó neuronok aránya a serkentődő idegsejtekhez viszonyítva (46. ábra). A dopamin D₁-receptor antagonist SCH 23390 a core-ban 34 idegsejtből 14-nek (41,2%), míg a shell-ben mindössze 36-ból 8 (22,2%) neuronnak módosította a kisülési alaphérfrekvenciáját. A dopamin D₂-receptor antagonist szulpirid által kiváltott változások aránya fordított volt a két régióban: a core-ban 21-ből 3 (14,3%), míg a shell-ben 40-ből 11 (27,5%) neuron reagált a használt D₂-receptor antagonistára (45. ábra).



47. ábra – Glukóz mikroelektroforétikus adásának hatása a NAcc-ben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Vastag vízszintes vonal: a mikroelektroforézis időtartama; szám: ejekciós áramerősség nA-ban. Abszcissa: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben; alsó ordináta: potenciál voltban.

4.2.1.2. Intraorális íz-ingerlés

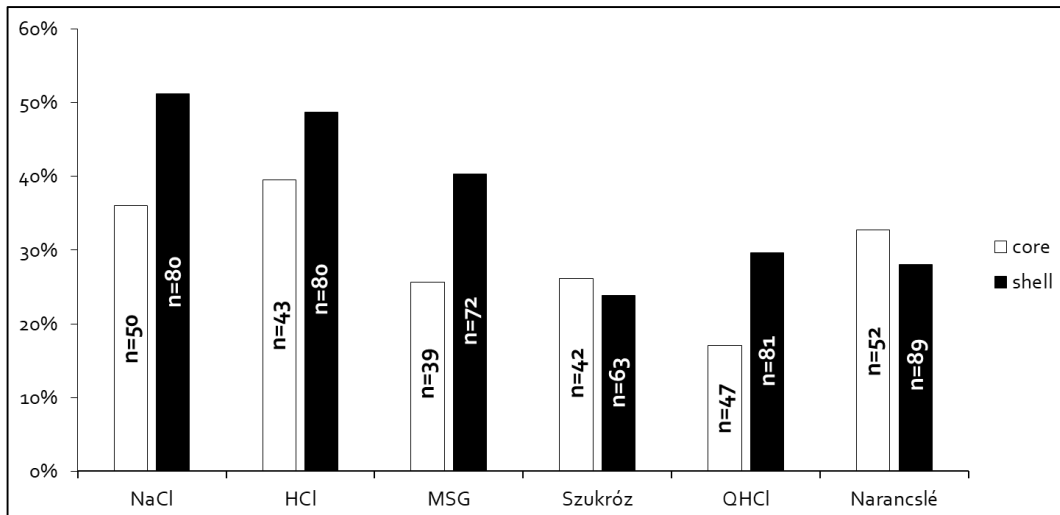
A nucleus accumbens-ben összesen 141 neuron aktivitását vizsgáltuk intraorális íz-ingerlés során: 52 sejtet a core régióban és 89-et a shell-ben regisztráltunk. Az intraorális íz-stimuláció eredményeit az 6. táblázat és a 48. ábra foglalja össze.

6. táblázat – Nucleus accumbens core és shell régióbeli idegsejtek válaszkészsége intraorálisan adott íz-oldatokra.

	NaCl		HCl		MSG		Szukróz		QHCl		Narancslé	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
core	18	32	17	26	10	29	11	31	8	39	17	35
shell	41	39	39	41	29	43	15	48	24	57	25	64

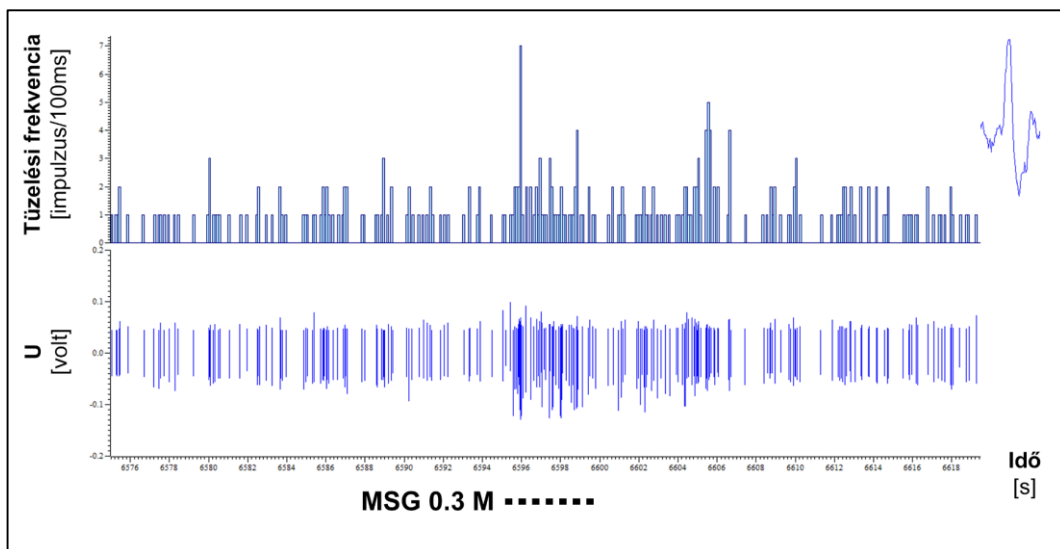
+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.

A shell régióban a sós, a savanyú, az umami (49. ábra) és a keserű ízre nagyobb arányban változtatták meg a működésüket a vizsgált idegsejtek, mint a core-ban. A szukróz édes ízére, valamint a narancslére mindkét régióban közel azonos arányban reagáltak a vizsgált neuronok (48. ábra).



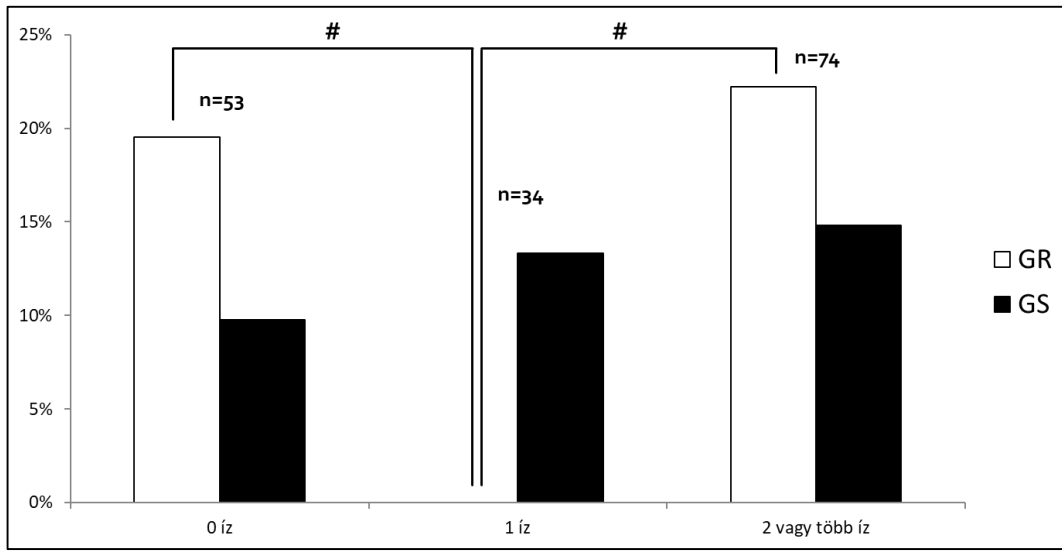
48. ábra – Intraorálisan adott oldatokra mutató neuronális érzékenység patkány NAcc core és shell régiójában.

A core régióban a legnagyobb válaszkésztséget a savanyú íz esetében tapasztaltuk, míg a keserű ízre mutató a legalacsonyabb neuronális aktiváció. A shell régióban a sós ízre a vizsgált neuronok több mint fele reagált, míg szukróz adásakor mindössze 1/4-ük (48. ábra).

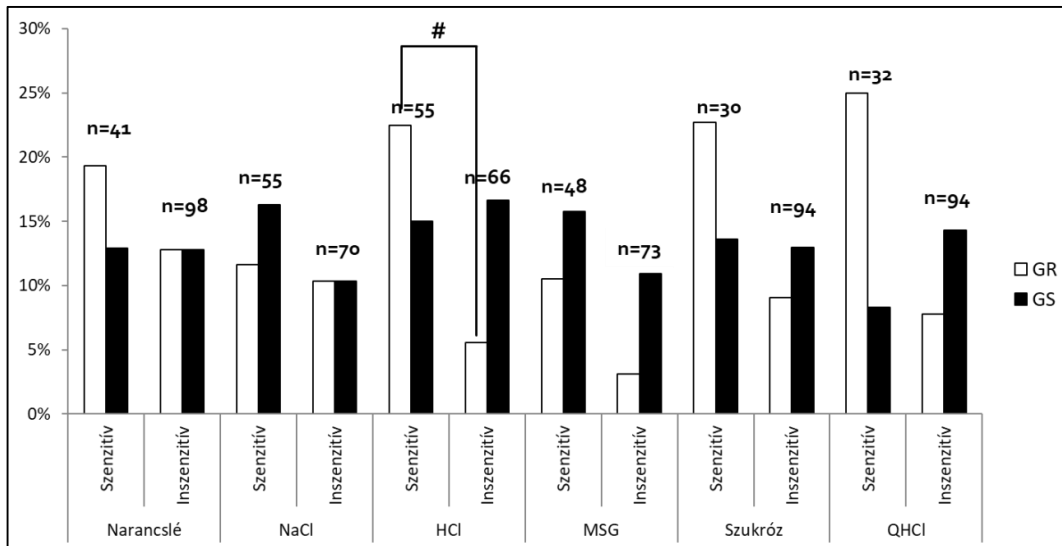


49. ábra – Intraorálisan alkalmazott MSG hatása a NAcc-ben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Szaggatott vonal: intraorális íz-adás ideje; szám: az oldat koncentrációja. Abszcissa: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/100 milliszekundumban; alsó ordináta: potenciál voltban.

A glukóz-monitorozó idegsejtek eltérő válaszkészséget mutattak az íz-oldatokkal való stimulációra. A glukóz-receptor neuronok vagy egyáltalán nem reagáltak az íz-oldatokra, vagy válaszkészség esetén minimum 2 különböző ízre is megváltoztatták a tüzelési frekvenciájukat. Olyan GR sejtet, amelyik 1 íz-oldatra volt csak érzékeny, nem találtunk. A glukóz-szenzitív sejtek esetében nem volt különbség a válaszkészségek tekintetében (50. ábra).



50. ábra – Glukóz-receptor (GR) és glukóz-szenzitív (GS) neuronok összesített íz-érzékenysége patkány NAcc-ben (# $p < 0,05$).



51. ábra – Glukóz-receptor (GR) és glukóz-szenzitív (GS) neuronok íz-érzékenysége patkány NAcc-ben (# $p < 0,05$).

A glukóz-receptor neuronok több íz-oldat esetében is nagyarányú válaszkészséget mutatnak. Azon GR sejtek, melyek megváltoztatták tüzelési frekvenciájukat savanyú íz

hatására, szignifikánsan nagyobb arányban találhatóak a NAcc-ben, mint amelyek nem reagáltak HCl intraorális ingerlésére. Hasonló tendenciát mutattak ezen GM sejtek az édes és keserű ízek esetében is (51. ábra).

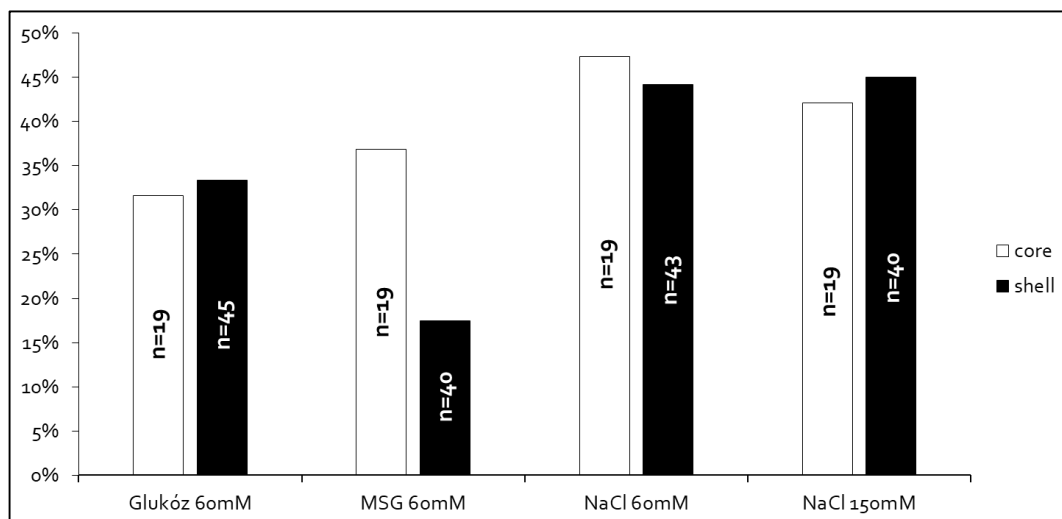
4.2.1.3. Intragasztrikus ingerlés

A nucleus accumbens-ben összesen 64 neuron működését vizsgáltuk intragasztrikus infúzió kapcsán: 19 sejt aktivitását a core régióban, míg 43-ét a shell-ben vezettük el. Az intragasztrikus stimuláció eredményeit a 7. táblázat és az 52. ábra foglalja össze.

7. táblázat – Nucleus accumbens core és shell régióbeli idegsejtek válaszkészsége intragasztrikusan adott oldatokra.

	Glukóz 60mM		MSG 60mM		NaCl 60mM		NaCl 150mM	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
core	6	13	7	12	9	10	8	11
shell	15	30	7	33	19	24	18	22

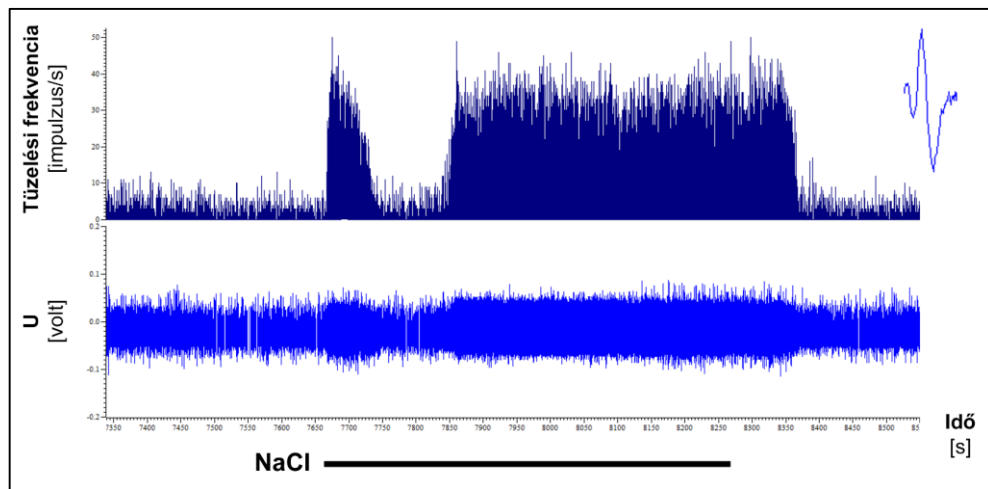
+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.



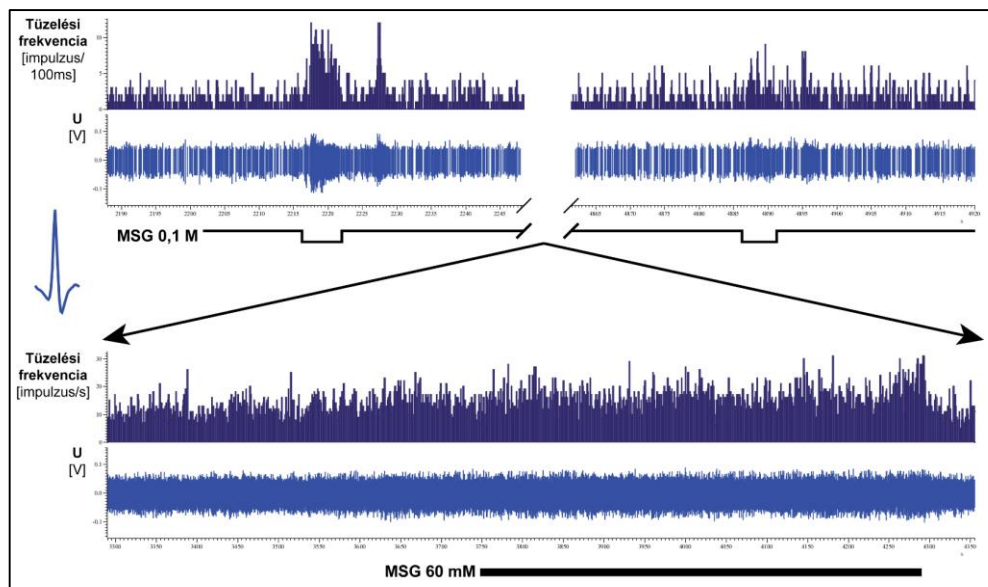
52. ábra – Intragasztrikusan adott oldatokra mutató neuronális érzékenység patkány NAcc core és shell régiójában.

Intragasztrikus infúziókra a vizsgált két nucleus accumbens régió között egyedül a 60 mM-os MSG adásakor tapasztaltunk különbséget: a core régióban a neuronok több mint harmada, míg a shell régióban mindössze 1/6-a reagált az ingerlésre. Mind az

alacsonyabb, mind a magasabb koncentrációjú NaCl (53. ábra) mindkét régióban a vizsgált idegsejtek közel felének megváltoztatta a tüzelési frekvenciáját (52. ábra).



53. ábra – A koncentráltabb NaCl oldat intragasztrikus infúziójának hatása NAcc-ben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Vízszintes vonal: intragasztrikus infúzió ideje. Abszcissa: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben; alsó ordináta: potenciál voltban.



54. ábra – Intragasztrikus infúzió hatása az intraorális íz-érzékenységre.

Néhány esetben az intragasztrikus infúzió megváltoztatta az idegsejtek intraorális stimulációra adott válaszkészségét. Az 54. ábra egy ilyen változást mutat be. Az ábra felső részén láthatóak a gyasztorikus stimulációk 0,1 M MSG oldat hatására a 60 mM MSG oldat intragasztrikus infúziója (ábra alsó része) előtt (bal felső kép) és után (jobb felső kép). Hasonló hatást tapasztaltunk egyes idegsejtek esetében az édes ízű szukróz és intragasztrikusan beadott glukóz vizsgálata során is.

4.3. Orbitofrontalis kérgi vizsgálatok eredményei

4.3.1. Elektrofiziológiai eredmények

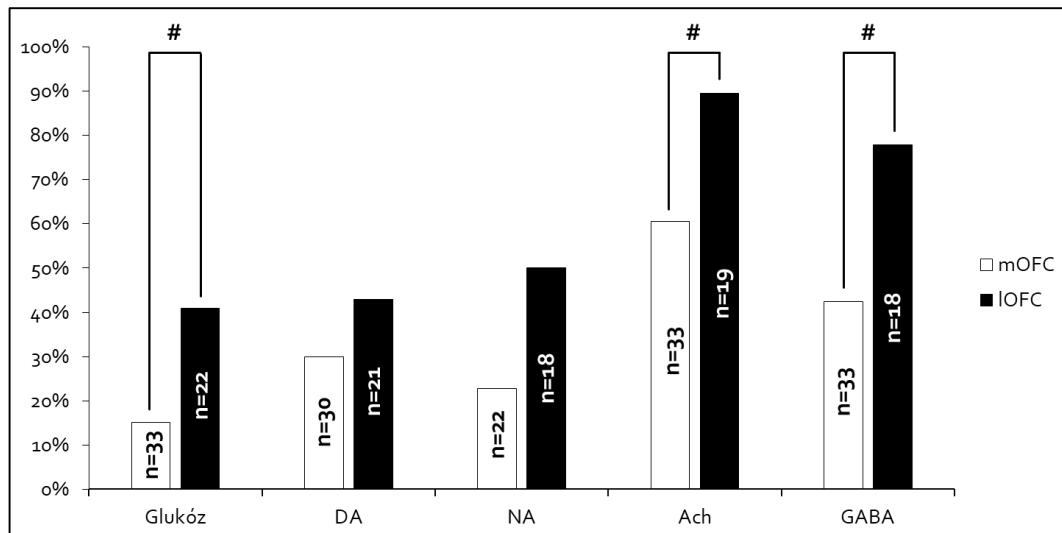
4.3.1.1. Neurokémiai vizsgálatok

Az orbitofrontalis kéregben, Sprague-Dawley patkányokban, összesen 55 neuron aktivitását vizsgáltuk mikroeletroforetikus ingerlés során: 33 sejtét a mOFC-ben, illetve 22-ét a IOFC-ben. A neurokémiai stimuláció eredményeit a 8. táblázat és az 55. ábra foglalja össze.

8. táblázat – A medialis (mOFC) és lateralis (IOFC) orbitofrontalis kéreg idegsejtjeinek válaszkészsége mikroeletroforetikusán adott anyagokra.

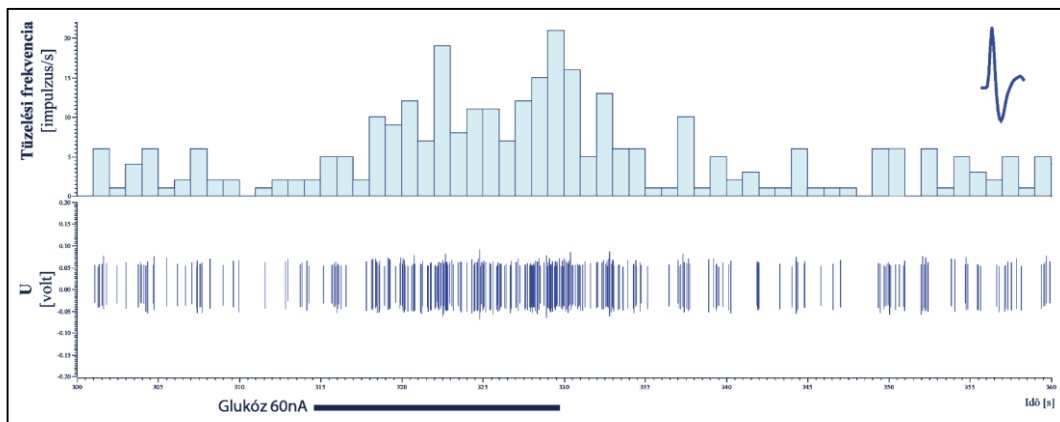
	D-glukóz		DA		NA		Ach		GABA	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
mOFC	5	28	9	21	5	17	20	13	14	19
IOFC	9	13	9	12	9	9	17	2	12	4

+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.



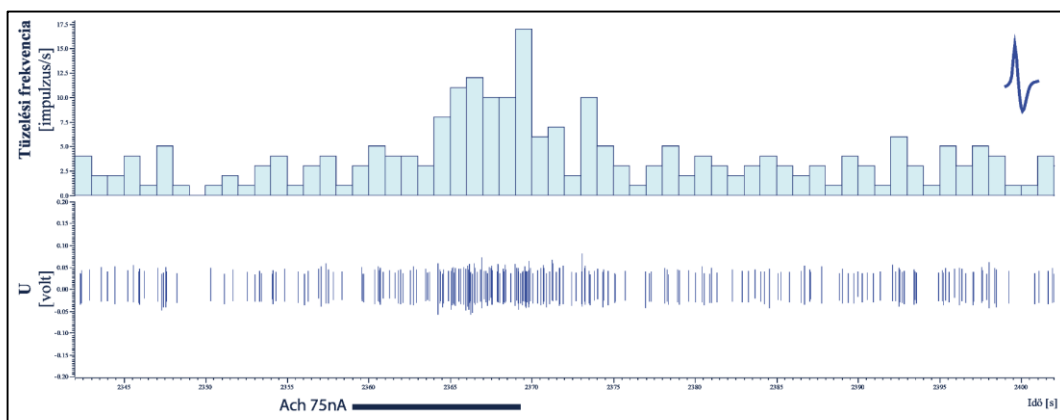
55. ábra – Mikroeletroforetikusán adott D-glukózra, dopaminra (DA), noradrenalinra (NA), acetilkolinra (Ach) és GABA-ra mutató válaszkészség patkány medialis (mOFC) és lateralis (IOFC) orbitofrontalis kérgében (# $p < 0,05$).

Neurokémiai ingerlés során a IOFC-ben a vizsgált sejtek 40%-a bizonyult GM neuronnak, míg a mOFC-ben 15%-uk mutatott érzékenységet D-glukózra (55. ábra és 56. ábra).



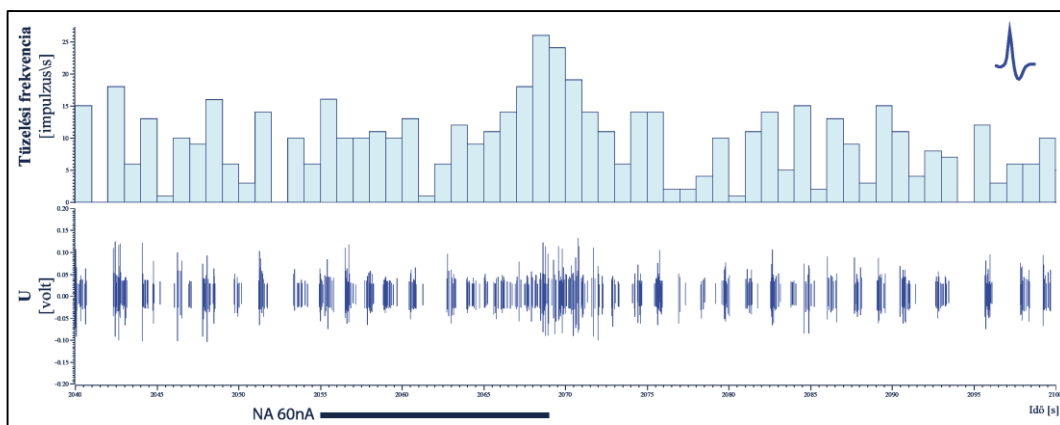
56. ábra – Glukóz mikroelektroforetikus adásának idegsejtműködésre gyakorolt hatása patkány orbitofrontális kéregben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Vastag vízszintes vonal: a mikroelektroforézis időtartama; szám: ejekciós áramerősség nA-ban. Abszcissza: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben; alsó ordináta: potenciál voltban.

Mindkét régióban az Ach-ra volt a legnagyobb az idegsejtek válaszkészsége: a IOFC-ben 90%, a mOFC-ben 61% (55. és 57. ábra).



57. ábra – Ach mikroelektroforetikus adásának hatása patkány orbitofrontális kéregben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Vastag vízszintes vonal: mikroelektroforézis időtartama; szám: ejekciós áramerősség nA-ban. Abszcissza: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben; alsó ordináta: potenciál voltban.

A IOFC területen a neuronok kb. 40%-a változtatta meg aktivitását DA-ra, míg a mOFC-ben a sejtek több mint negyede válaszolt. NA-ra a IOFC-ben az idegsejtek fele reagált, míg a mOFC-ben mintegy negyedük (55. és 58. ábra).



58. ábra – NA mikroelektroforitikus adásának hatása patkány orbitofrontalis kéregben. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Vastag vízszintes vonal: mikroelektroforézis időtartama; szám: ejekciós áramerősség nA-ban. Abszcissa: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/másodpercben; alsó ordináta: potenciál voltban.

GABA adásakor az inhibitoros válaszok domináltak: a neuronok háromnegyede gátlódott a IOFC-ben, a mOFC-ben viszont csak 42%-uk.

A medialis orbitofrontalis kérgi GM idegsejtekről sajátos, a mOFC-beli glukóz-inszenzitív neuronoktól jellemzően eltérő endogén kémiai válaszkészségük bizonyosodott be. Az itt található DA-érzékeny sejtek egyike sem volt GM sejt, ugyanakkor a DA-ra nem érzékenyek negyede aktivitásváltozást mutatott D-glukózra. A NA esetében nem volt ilyen különbség a GM és a GIS sejtek érzékenysége között. Az Ach-ra nem válaszolóknak mindegyike GIS neuron volt, míg az Ach-szenzitív sejtek negyede glukóz-monitorozó idegsejtnak bizonyult ($p < 0,05$). A GABA-ra gátlódott neuronok között közel kétszer akkora arányban voltak a GM-k, mint a GABA-inszenzitívek között (9. táblázat).

9. táblázat – Glukóz-monitorozó (GM) és glukóz-inszenzitív (GIS) neuronok dopamin- (DA), noradrenalin- (NA), acetilkolin- (Ach) és GABA-érzékenysége patkány medialis orbitofrontalis kérgi neuronokban.

	DA		NA		Ach		GABA	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
GM	0	5	1	4	5*	0	3	2
GIS	9	16	4	13	14	13	11	16

+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma (* $p < 0,05$).

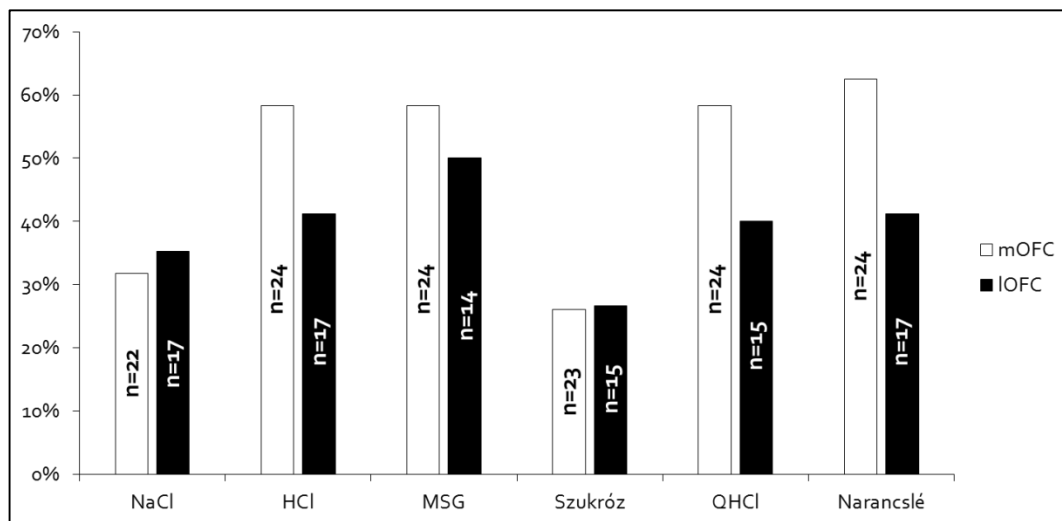
4.3.1.2. Intraorális íz-ingerlés

Az orbitofrontalis kéregben összesen 41 neuron aktivitását vizsgáltuk intraorális íz-ingerlés során Sprague-Dawley patkányokban: 24 sejtét a mOFC-ben, és 17-ét a IOFC-ben. Az intraorális íz-stimuláció eredményeit a 10. táblázat és az 59. ábra foglalja össze.

10. táblázat – A medialis (mOFC) és lateralis (IOFC) orbitofrontalis kéreg idegsejtjeinek válaszkészsége intraorálisan adott íz-oldatokra.

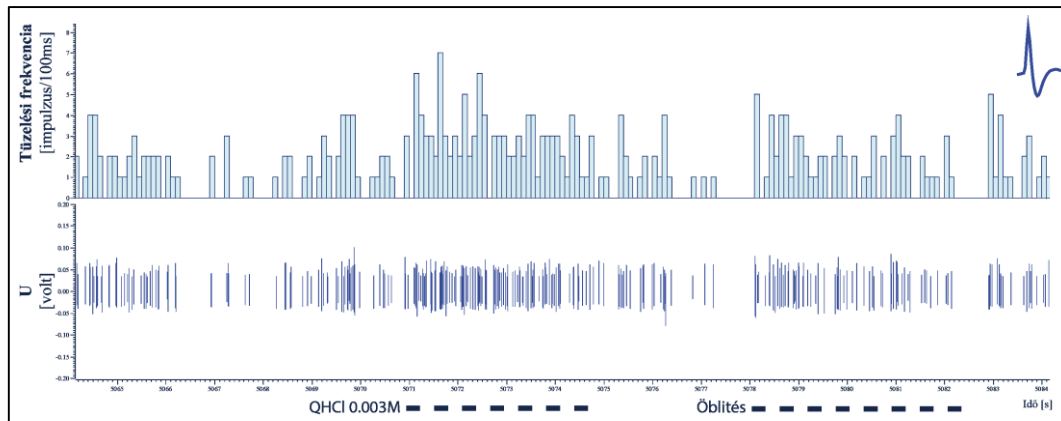
	NaCl		HCl		MSG		Szukróz		QHCl		Narancslé	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
mOFC	7	15	14	10	14	10	6	17	14	10	15	9
IOFC	6	11	7	10	7	7	4	11	6	9	7	10

+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.



59. ábra – Intraorálisan adott oldatokra mutató neuronális érzékenység patkány medialis (mOFC) és lateralis (IOFC) orbitofrontalis kérgi régiójában.

Intraorális íz-ingerlések hatására a IOFC-ben nátrium-glutamát (umami) ízére a vizsgált sejtek 50%-a, narancslére, sósavra és kininre (60. ábra) pedig mintegy 40%-a bizonyult érzékenynek, míg a mOFC-ben ez az arány ugyanezen ízek esetében kb. 60% volt. Mindkét régióban a sós ízre a neuronok harmada, az édesre negyede reagált (59. ábra).



60. ábra – Intraorálisan alkalmazott kinin (QHCl) orbitofrontális kérgi idegsejtre gyakorolt hatása. Inzert: jellegzetes extracelluláris akciós potenciál. Szaggatott vonal: intraorális íz-adás és desztillált vizes öblítés ideje; szám: az oldat koncentrációja. Abszcissa: időskála másodpercben; felső ordináta: tüzelési frekvencia impulzus/100 milliszekundumban; alsó ordináta: potenciál voltban.

Mivel a mOFC-ben az íz-ingerlés 96%-ban (24 sejtből 23 esetében) hatásosnak bizonyult legalább egy íz-kvalitás esetén, íz-érzékenységet tekintve a GM és a GIS sejtek között nem találtunk szignifikáns különbséget. A tüzelési frekvenciájukat legalább egy íz-ingerre megváltoztató íz-érzékeny neuronok több, mint 10%-a glukóz-monitorozó unit volt.

4.3.1.3. Intragasztrikus ingerlés

Az orbitofrontális kéregben 37 neuron működését vizsgáltuk intragasztrikus infúzió kapcsán: 30 sejtet a mOFC-ben, 7-et a IOFC-ben. Intragasztrikus infúzió során mindkét régióban találtunk 60 mM-os MSG, valamint 150 mM-os NaCl oldat hatására aktiválódó idegsejteket, de a 60 mM-os NaCl oldat csak a IOFC-ben váltott ki választ, hasonló arányban serkentődést és gátlást. Egyik vizsgált régióban sem találtunk a 60 mM-os glukóz oldatra aktivitásváltozást mutató neuront (11. táblázat).

11. táblázat – A medialis (mOFC) és laterális (IOFC) orbitofrontális kéreg idegsejtjeinek válaszkészsége intragasztrikusan adott oldatokra.

	Glukóz 60mM		MSG 60mM		NaCl 60mM		NaCl 150mM	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
mOFC	0	30	2	28	0	30	4	26
IOFC	0	7	1	6	5	2	1	3

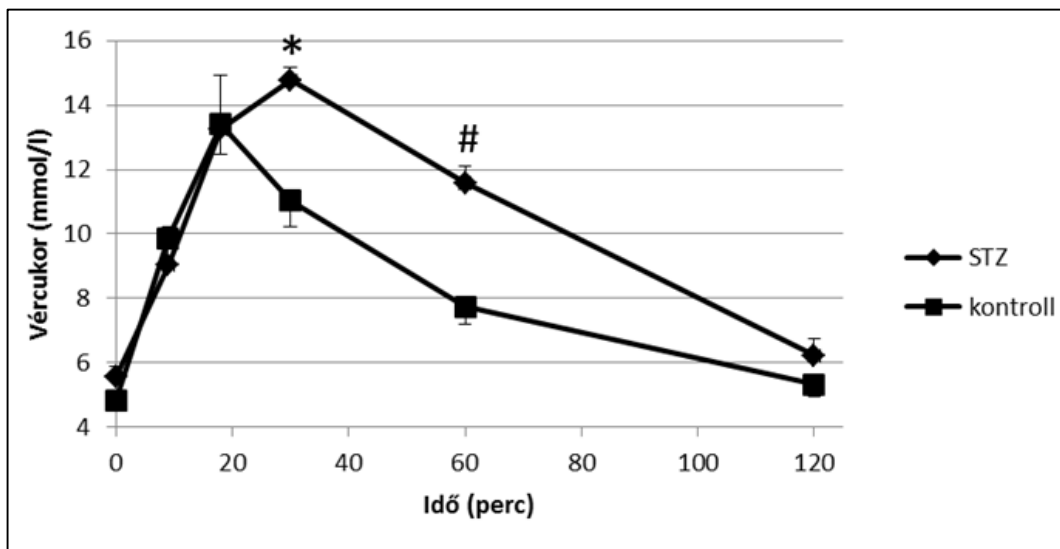
+/-, serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø, válaszkészséget nem mutató idegsejtek száma.

4.3.2. Metabolikus változások

4.3.2.1. Vércukorszint változások

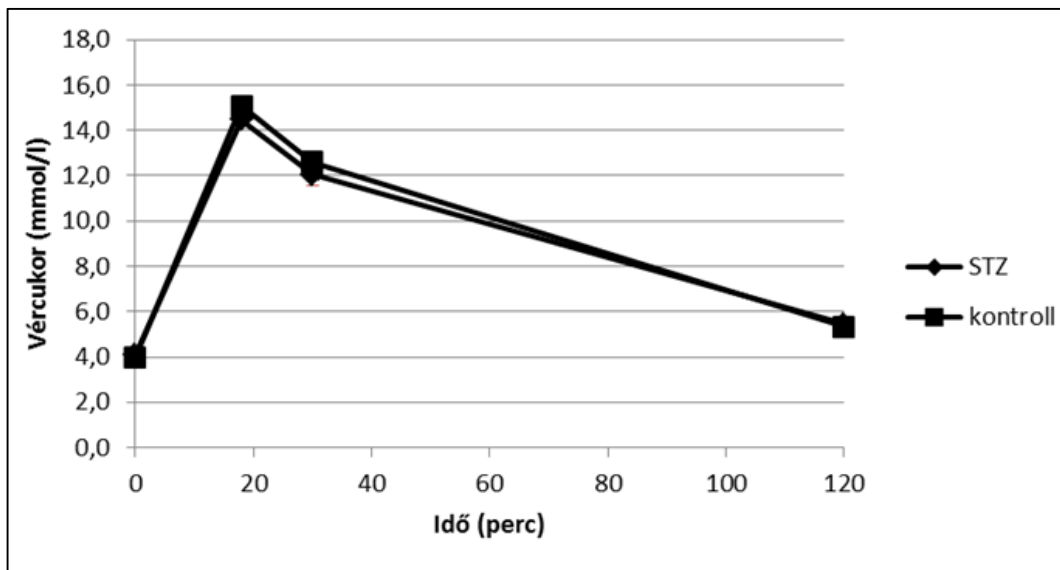
Akut és szubakut glukóz-tolerancia tesztben 12 felnőtt hím Wistar patkányt vizsgáltunk streptozotocin (STZ csoport, $n = 6$) vagy fiziológias sóoldat (kontroll csoport, $n = 6$) mOFC-beli agyi mikroinjekciója után.

Akut GTT során (20 perccel az agyi mikroinjekciós kezelés után) a 9. és 18. percben nem mutatkozott különbség a két csoport értékei között, azonban az ezt követő időszakban a streptozotocinnal kezelt állatok vércukor paraméterei változásának dinamikája eltérő volt, s a kontroll csoporthoz viszonyítva a további két mérési időpontban ezekénél jóval nagyobb értékeket kaptunk (30': $p < 0,01$; 60': $p < 0,005$). A 120. percben – bár a STZ mikroinjekciós patkányok vércukorszintje ekkor is a kontrollokénál magasabb volt – a statisztikai elemzés nem igazolt szignifikáns eltérést a két csoport között (61. ábra).



61. ábra – A medialis orbitofrontalis kéregbe juttatott streptozotocin (STZ) és vehiculum (kontroll) mikroinjekció után mért vércukorszintek (akut glukóz-tolerancia teszt) (* $p < 0,01$, # $p < 0,005$).

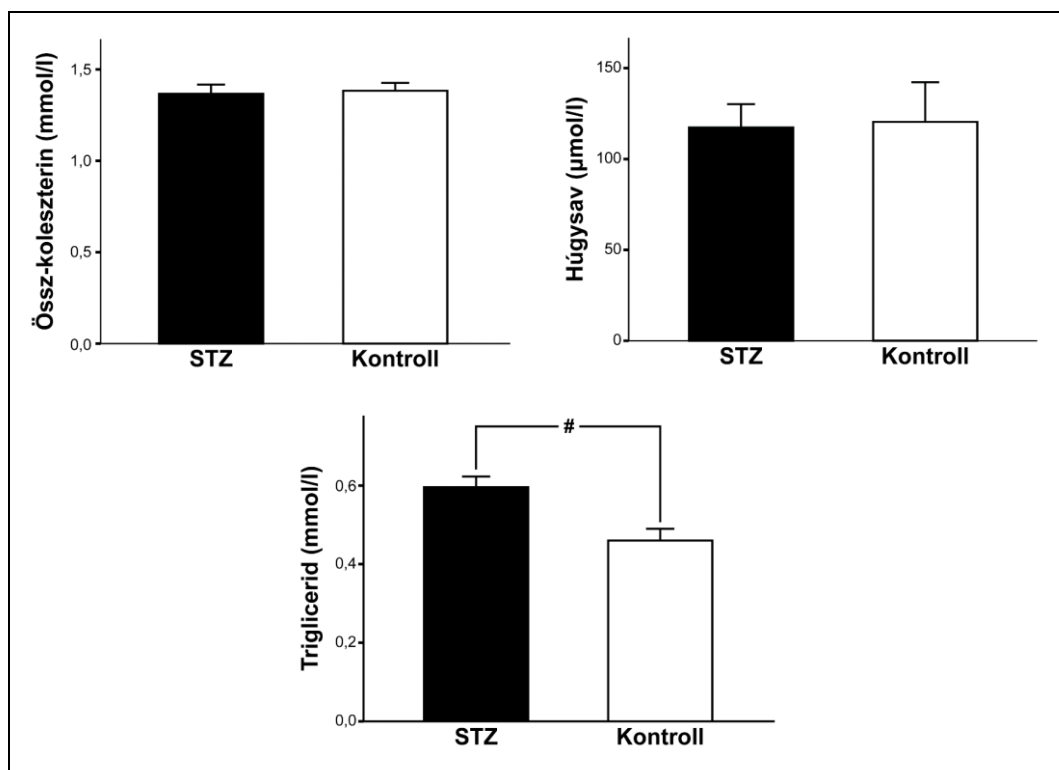
A mikroinjekció beadását követő negyedik héten végzett szubakut GTT a két csoport között nem mutatott szignifikáns különbséget (62. ábra).



62. ábra – A medialis orbitofrontalis kéregbe juttatott streptozotocin (STZ) és vehiculum (kontroll) mikroinjekció utáni negyedik héten mért vércukorszintek (szubakut glukóz-tolerancia teszt).

4.3.2.2. Plazma metabolit eltérések

A plazma metabolit szinteket 28 felnőtt hím Wistar patkányban vizsgáltuk. A mOFC mikroinjekciót 30 perccel követően szérumszintű össz-koleszterin, triglicerid és húgysav meghatározást végeztünk a STZ-kezelteknél (n = 16) és a kontroll csoportban (n = 12). A vizsgált metabolitok közül a koleszterin és a húgysav koncentrációk érdemben nem különböztek, a trigliceridek esetében viszont szignifikáns eltérés mutatkozott: a STZ-kezelés hatására a szérumszintű triglicerid szint számottevően megemelkedett ($p < 0,005$, 63. ábra).

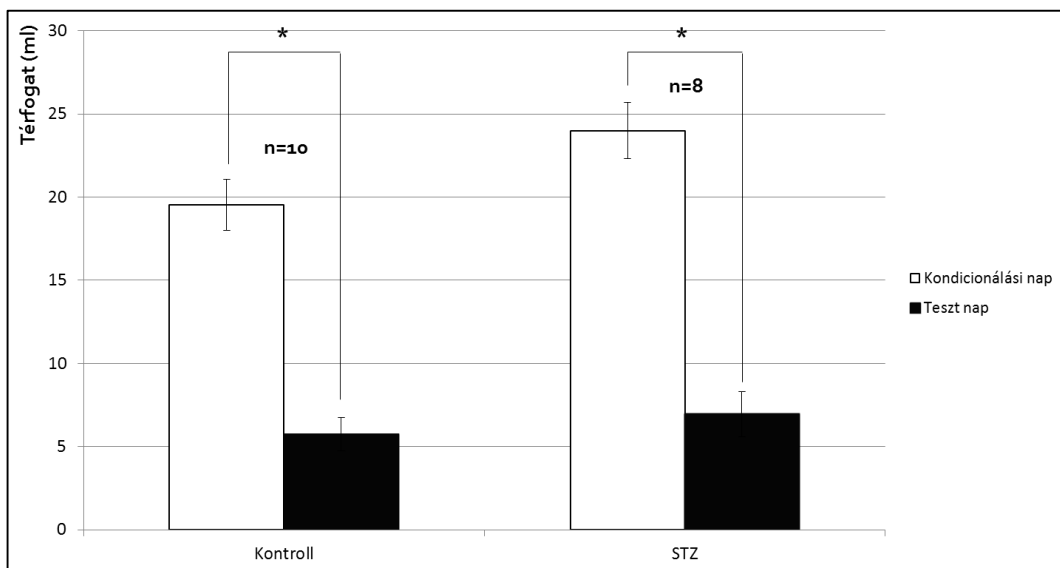


63. ábra – A medialis orbitofrontalis kéregbe juttatott streptozotocin (STZ) és vehiculum (Kontroll) mikroinjekció után mért plazma metabolit szintek (# $p < 0,001$).

4.3.3. Magatartási vizsgálatok

4.3.3.1. Kondicionált íz-averzió

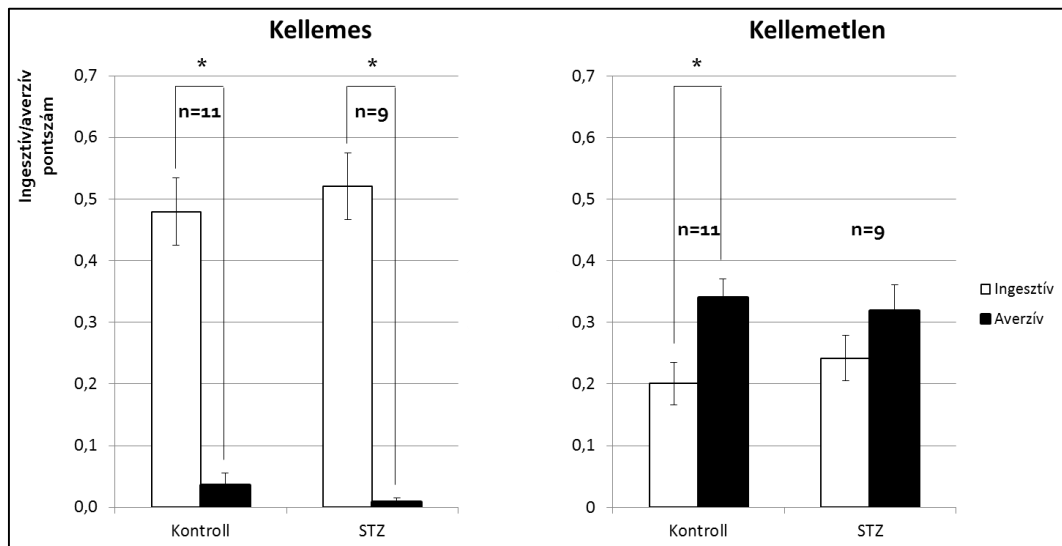
A kondicionált íz-averziós tesztekben 18 felnőtt hím Wistar patkány tanulását vizsgáltuk. A mOFC mikroinjekciót 4 nappal követően került sor a kondicionálásra: a STZ-kezelt ($n = 8$) patkányok több szacharint fogyasztottak, mint a kontroll csoport ($n = 10$) állatai, de ez a különbség nem volt szignifikáns. A kondicionálás utáni 4. napon (teszt nap) mindkét csoport állatai szignifikánsan kevesebb szacharint fogyasztottak, mint a kondicionálási napon, de a két csoport tanulása között nem volt különbség (64. ábra).



64. ábra – A medialis orbitofrontalis kéregbe juttatott streptozotocin (STZ) és vehiculum (Kontroll) mikroinjekció hatása a kondicionált íz-averzió kialakulására (* $p < 0,01$).

4.3.3.2. Íz-reaktivitási változások

Az íz-reaktivitási tesztekben 20 felnőtt hím Wistar patkány magatartás-mintázatát vizsgáltuk. 1 héttel a STZ (n = 9) vagy a NaCl (n = 11) bilaterális mOFC-beli mikroinjekciója után az 5 alapíznek megfelelő oldatokat juttattuk az állatok szájüregébe az előzetesen beültetett íz-kanülökön keresztül. Kellemes ízek esetén mindkét csoportban szignifikáns volt a különbség az ingerzív és az averzív pontszámok között, a kellemetlen íz-oldatok esetében csak a kontroll csoportban volt ez az eltérés megfigyelhető. A csoportok pontszámai között nem volt szignifikáns eltérés, de megfigyelhető, hogy a STZ mikroinjekciós állatok mind a kellemes, mind a kellemetlen ízeket kellemesebbnek találták, mint a kontroll csoport állatai (65. ábra).



65. ábra – A medialis orbitofrontalis kéregbe juttatott streptozotocin (STZ) és vehiculum (Kontroll) mikroinjekció utáni íz-reaktivitási változások (* $p < 0,01$)

5. Megbeszélés

5.1. Műszaki és informatikai fejlesztések

A kutatók gyakran szembesülnek azzal a problémával, hogy hiába van egy új ötletük vagy találnak ki egy új módszert, nincs meg hozzá a megfelelő felszerelésük, eszközük. Ha létezik is olyan termék a piacon, amely használható lenne, azok gyakran nagyon drágák és sokszor nem is specifikusan az adott funkcióra lettek fejlesztve, és ha nincs a kutató mögött egy komolyabb pályázat vagy ösztöndíj, nem tudja ezeket beszerezni. A laboratóriumokban sokszor találhatunk olyan régebbi eszközöket, amelyek funkcionálisan megfelelőek lennének az igényeknek, viszont analóg tulajdonságaik miatt nem csatlakoztathatóak közvetlenül számítógéphez vagy más eszközökhöz, emiatt nehézkes a használatuk modern körülmények között.

Az internet korában már szinte minden tudásanyag elérhető online, így ha valaki szeretne megtanulni programozni, nyomtatott áramköröket tervezni és építeni vagy digitálisan vezérelhető rendszereket felépíteni analóg eszközökből, akkor nincs szüksége nagy beruházásra, sokszor akár ingyen, otthonról is megszerezheti a szükséges információt. Óriási segítséget nyújtanak azok a fórumok is, ahol hasonló érdeklődésű, az adott témában járatos emberek próbálnak segíteni egymásnak egy-egy probléma megoldásában, így akár a világ bármely pontjáról kaphatunk válaszokat a kérdéseinkre. Ma már viszonylag olcsón beszerezhetők olyan 3D nyomtatók, amelyek segítségével könnyedén elkészíthetjük azokat az alkatrészeket, eszközöket, amelyeket megtervezünk.

Elektrofiziológiai kutatásaim során szükségem volt arra, hogy a vizsgálat összes lépését irányíthassam, valamint az adatokat minden készülékből ugyanazon adatgyűjtő rendszerhez kapcsolva rögzíthessem. Az ehhez szükséges informatikai programozási nyelveket (Visual Basic, Spike2 script, Arduino), valamint a nyomtatott áramkörök tervezési és építési módszereit autodidakta módon, szakkönyvekből (Spike2 scriptek) és az internet segítségével szereztem. A központi adatgyűjtő rendszer egy CED Micro 1401 mk II (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) készülék volt, ami képes egyaránt gyűjteni és létrehozni is analóg és digitális jeleket. Az eszközhöz tartozó Spike2 program (6.16-os verzió) a bejövő adatok feldolgozásán kívül képes azok elemzésére is, valamint irányítja a CED készülék kimeneteit és a számítógép soros portjait is. Ezen tulajdonságai miatt a készülék és a program a megfelelő eszközök

csatlakoztatásával és a vezérlő script megírásával tökéletesen alkalmas egy bonyolult rendszer irányítására és a különböző forrásokból származó jelek feldolgozására.

A laborunkban korábban is használt analóg, 3 modul tartalmazó mikroiontoforetikus eszközhöz készítettem egy számítógép által soros porton vezérelhető elosztó készüléket, így a 3 modulós pumpából 12 csatornás eszközt sikerült kialakítani, amivel szimultán 3 különböző anyag is beadható. A modulok beadó áram intenzitásának beállításához a készülék analóg bemenetét használtam (5 mV bemenő feszültség = 1 nA beadó áram), amit szintén soros portról irányítható digitális/analóg konverterrel oldottam meg. Így mindhárom modulon (és a balansz modulon is) ± 250 nA áramerősség állítható be. Az iontoforetikus pumpa analóg kimenetét használva mérhető a valós beadó áram intenzitása is (1 nA beadó áram = 5 mV kimenő feszültség), amit a CED készülék analóg bemenetére kötve a Spike2 program rögzít és elemez. Ezen új, általam tervezett és megépített eszközökkel már teljes mértékben irányíthatóvá és követhetővé vált a neurokémiai ingerlés a vizsgálatok során. A Spike2 script már most is rögzíti és elemzi az ingerléshez használt oldatok paramétereit és hatásait, valamint a csatorna blokkolódása esetén automatikusan le is állítja a beadást, viszont jelenleg fejlesztés alatt van egy olyan opció is, amikor a program saját maga dönti el, hogy mikor, hányszor és milyen dózisban használja az oldatokat. Ehhez folyamatosan elemzi az alapfrekvenciát, a beadás hatására történő változásokat (amennyiben túl erős a serkentés vagy gátlás, leállítja azt, elkerülve a negatív következményeket), valamint az adott anyag kiváltotta összes hatást. Így elkerülhetjük, hogy az off-line elemzés során utólag észleljük, hogy nem egyértelmű a hatás, és ismételni kellett volna azt a vizsgálat során.

Intraorális íz-stimuláció során korábban két kutató közreműködésére volt szükség: egyikük a Faraday-kalitkában tartózkodott és végezte a beavatkozást, míg a másik a számítógépnél ülve rögzítette az eseményeket. Az általam fejlesztett távirányító rendszer használatával a kutató a vizsgálat közben saját maga mentheti az eseményeket a regisztrátumba, amit egy visszajelző készülék segítségével nyomon is tud követni. Fejlesztés alatt van egy olyan egyenáramú pumpa is, amely számítógépről vezérelve adja be az oldatokat az állat szájüregébe, valamint egy érzékelő is, ami pontosan jelzi, hogy mikor ér el az íz-oldat az állat szájüregébe.

Az intragasztrikus stimuláció során használt pumpát (Cole-Parmer EW-74900 Multichannel Syringe Pumps, Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, USA) korábban minden beadás előtt be kellett állítani a megfelelő mennyiségekre, majd

manuálisan elindítani azt. A pumpán található egy soros port és egy digitális kimenet is, amely jelzi, ha a pumpa éppen beadást végez. A Spike2 programból soros kommunikáció segítségével egyből beállítható a beadandó anyag mennyisége, a beadás sebessége, a használt fecskendő átmérője/típusa, a beadás indítása/leállítása, valamint a pumpa TTL-kimenete segítségével rögzíthető a beadás pontos időtartama is, ezáltal a script segítségével a beadás egy része automatizálható is.

Az íz-reaktivitási tesztek során is a fent említett Cole-Parmer pumpát használtuk, így a számítógépről vezérelve azt, a megfelelő fecskendők csatlakoztatása után, a programból egy gombnyomással indíthattuk a feltöltést, a beadást vagy az öblítést. A pumpa digitális kimenetére kötött fénykibocsátó dióda segítségével elemzéskor a videón pontosan követhető, hogy mikor történt a beadás.

Az eddigi elektrofiziológiai és íz-reaktivitási tapasztalataink, valamint eredményeink alapján olyan új vizsgálatokat tervezünk, ahol éber szabadon mozgó állatokon íz-reaktivitási tesztek közben a NAcc és az OFC területéről vezetnénk el az idegsejtek elektromos tevékenységét. A Spike2 programból nemcsak a pumpát irányítjuk, hanem egy folyadékkristályos-kijelzőn jelezzük az éppen beadott oldat nevét és koncentrációját, amit így videóra is rögzítünk. A korábbi elemzési technika kiváltására és a viselkedési mintázatok pontos mentésére egy új videó elemző programot terveztem készíteni, amiből az adatokat a Spike2 programba importálva az eseményeket korreláltathatjuk az elvezetett neuronális tevékenységekkel. Ezen eredményekkel nem csak pontosabb képet kaphatunk majd az ízek központi idegrendszeri feldolgozásáról, hanem az általuk kiváltott motoros válaszok létrejöttéről is.

5.2. Endogén kémiai érzékenység

Glukóz-monitorozó neuronokat – vagyis D-glukóz lokális intracerebrális extracelluláris szintjének megemelkedésére tüzelési frekvenciájukat megváltoztató idegsejteket – már számos agyi régióban azonosítottak patkányban és rhesus majomban is, az agytörzstől [1] a magasabb előagy területen [45, 48, 49, 100] át a prefrontalis-orbitofrontalis kéregig [48, 49, 66, 79, 81]. Ezen idegsejteknek nem csak az endogén neurotranszmitterekre és neuromodulátorokra adott válaszaik különböznek a D-glukózra

válaszkésztséget nem mutató glukóz-inszenzitiv sejtekéitől [79, 81, 100], hanem exogén kémiai stimulusokra, így íz-ingerekre is eltérő módon reagálnak [79].

A NAcc core régiójában nagyobb volt azon neuronok aránya, amelyek megváltoztatták tüzelési frekvenciájukat D-glukóz mikroiontoforetikus adásának hatására, mint a shell-ben. Korábbi vizsgálatok azt is igazolták, hogy a kétféle (GR és GS) GM neuron típus eltérő dominanciájú a két szubdivízióban [100], ezt a mi kísérleteink is megerősítették.

A NAcc két régiójának eltérő neurokémiai érzékenységét korábbi kísérletek is bizonyították [100]. Ach-ra és DA-ra való érzékenységben a két régió között nem találtunk nagy eltérést, viszont míg a dopamin D₁-receptor antagonistá SCH 23390 a core-ban változtatta meg nagyobb arányban a sejtek válaszkésztségét, addig a D₂-receptor antagonistá szulpirid a shell-ben váltott ki ugyanilyen hatást. A NA-ra érzékeny sejtek, ezen belül is a serkentődő neuronok nagyobb arányban találhatóak a core régióban. Általánosságban elmondható, hogy az általunk vizsgált, mikroiontoforetikus beadott oldatok hatására a core régióban a serkentődő neuronok, míg a shell-ben a gátlódó neuronok találhatóak nagyobb arányban. Ezen differenciált neurokémiai érzékenységeknek nyilvánvalóan fontos szerepe lehet az érintett struktúrák szabályozó folyamatainak a finomhangolásában.

A IOFC-ben mindegyik mikroiontoforetikus beadott anyag hatására a vizsgált neuronok nagyobb százaléka mutatott válaszkésztséget, mint a mOFC-ben. A legszembetűnőbb különbség a D-glukóz, Ach és GABA hatásában jelentkezik. A GM és a GIS idegsejtek differenciált DA [79] és GABA [100] érzékenységét korábbi kísérletek leletei is bizonyítják.

Adataink, korábbi, rhesus majmok orbitofrontális kérgében azonosított neuronokból nyert leleteinkkel együtt [48, 49] feltétlenül alátámasztani látszanak azt a nézetünket, amely szerint ezen nucleus accumbens és orbitofrontális kérgi idegsejtek, a limbikus előagyi glukóz-monitorozó neuronhálózat fontos elemeiként, a belső és a külső környezet humorális szignáljainak egyidejű monitorozásával és a különféle bemenetek és kimenetek hatásainak integrációjával nélkülözhetetlen résztvevői a homeosztázis mindenkori egyensúlyát biztosító érzékeny szabályozó folyamatoknak.

5.3. Exogén kémiai érzékenység

A különféle íz-minőségekre érzékeny idegsejtek differenciált topográfiai megoszlására vonatkozóan állnak már rendelkezésre irodalmi adatok [111, 116]. A NAcc-ben az intraorálisan adott sós, savanyú, umami és keserű íz-oldatokra a shell régióban reagáltak nagyobb arányban a neuronok, míg az édes ízre mindkét régióban közel azonos százalékban. A komplex ízként használt narancslé azonos arányban hatott mindkét területen.

A savanyú, az umami és a keserű íz-oldatok, valamint a narancslé nagyobb arányban okozott aktivitásváltozást a mOFC-ben, mint a IOFC-ben. A sós és édes íz tekintetében nincs nagy különbség a két régió között.

Intragasztrikus infúzió során a NAcc-ben egyedül 60 mM-os MSG-oldat hatásában látható különbség: a core régióban az idegsejtek nagyobb arányú érzékenységet mutatnak, mint a shell régióbeliek. A többi vizsgált oldat (glukóz 60 mM, NaCl 60 és 150 mM) esetében azonos a hatás mértéke a NAcc mindkét szubdivíziójában. Az OFC-ben szintén kimutattunk NaCl és MSG intragasztrikus infúziójára érzékeny sejteket.

A nucleus accumbens szerepét már korábban kimutatták az ízekkel összefüggő motivációs és tanulási folyamatokban [140], valamint számos kutatás bizonyította az orbitofrontalis kéreg funkcióit az íz-érzékelésben, a táplálék- és folyadékfelvétel kontrolljában [10, 51, 110]. Kutatásunk során bizonyítottuk ezen agyterületek íz-érzékelésben betöltött szerepét mind az intraorálisan adott íz-oldatok, mind az intragasztrikus ingerlés esetén. Szintén jól ismert tény, hogy a NAcc core és shell régiója a táplálékfelvétel szabályozásában eltérő szerepet tölt be [68, 70, 119]. Vizsgálataink szintén rámutattak a két vizsgált régió eltérő endogén és exogén érzékenységére, eltérő szerepükre a gusztatórikus és intragasztrikus íz-érzékelésben. Bizonyítottuk, hogy a már korábban kimutatott [97, 113, 115] gyomor és vékonybélben elhelyezkedő édes, sós és umami receptorok kapcsolatban állnak az OFC és a NAcc neuronjaival, ezáltal szükségszerűen szerepet kell játszaniuk az íz-érzékelés mellett a metabolikus folyamatokban is.

Kutatásunk során bebizonyosodott, hogy a nucleus accumbens core és shell régiójának, valamint az orbitofrontalis kéreg medialis és lateralis területének GM neuronjaira a GIS unitoktól eltérő endogén és exogén kémiai érzékenység jellemző.

Ezek a kemoszenzoros idegsejtek a NAcc és az OFC minden vizsgált régiójában meglehetősen magas arányban képviseltetik magukat, akkorában, hogy működésük kellő erővel érvényesítheti sajátos funkcionális szerepüket e fontos limbikus kérgi struktúrák regulációs folyamataiban.

5.4. Metabolikus eltérések

Az egészséges szervezetben a központi idegrendszer fontos feladata az anyagcsere folyamatok igen finom ellenőrzésének irányítása, amiben egyaránt szerep jut metabolikus (lebomló tápanyagok, zsírsavak, aminosavak, különféle metabolitok, stb.), humorális-hormonális (inzulin, leptin, glukagon, GLP-1, stb.) és összetett idegi tényezőknek, amelyek között megtalálhatjuk nem csak a perifériáról, hanem a különböző agyterületek specifikus kemoszenzoros neuronjaiból érkező sajátos információkat is [48, 61, 98, 105]. Az élettani szempontból hatásos metabolizmus, ami igen szélsőséges környezeti feltételek közepette is fenntartja a homeosztázis egyensúlyát, nagyban függ a különféle perifériás jelzések megtartott centrális érzékelésétől. Ha az e feladatot ellátó specifikus kemoszenzoros neuronok működésében bármiféle zavar lép fel, súlyos metabolikus-homeosztatikus kórállapotok alakulhatnak ki, olyanok, mint pl. az obezitás vagy a diabetes mellitus [48, 61].

Jelen kísérleteink bizonyítékot szolgáltatottak arra vonatkozóan is, hogy a medialis orbitofrontalis kéregben található kemoszenzoros neuronok valóban fontos szerepet játszanak a metabolizmus központi szabályozásában. A szakirodalomban elsőként kimutattuk, hogy az e területre juttatott kétoldali STZ mikroinjekció hatására komplex metabolikus tünetegyüttes jön létre: GTT során kóros glukóz tolerancia eltérést, egyfajta sajátos intoleranciát, továbbá a metabolit-mérésekben emelkedett plazma triglicerid koncentrációt állapítottunk meg. Ezen elváltozások együttes jelenléte megerősíti a kórállapot komplex metabolikus betegségnek megfelelő súlyos megítélését, amit az is alátámaszt, hogy magas plazma triglicerid szint – a többi között – jellemzően diabetes mellitusban és elhízásban fordulhat elő. Mind a szénhidrát, mind pedig a zsír anyagcsere zavarai más előagyú struktúrák (VMH, mediodorsalis PFC) esetében is a streptozotocin kezelés szokásos következményei voltak [48, 82]. Az eddigiek alapján általánosságban szintén érvényes igazságként kell leszögeznünk, hogy különböző

agyterületeken a GM idegsejtek streptozotocinnal való elpusztítása sajátos táplálkozási és anyagcsere zavarok kialakulásához vezet [21, 48-50].

5.5. Magatartási változások

Ahhoz, hogy megértsük a GM neuronok íz-érzékelésben betöltött komplexebb szerepét, nem elég csak a kemoszenzoros funkcióikat ismernünk, hanem szükséges az íz-információk adaptív viselkedésbe illesztését kondicionált íz-averziós kísérletekkel is megvizsgálni. Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a NAcc-be juttatott kétoldali STZ mikroinjekció kondicionált íz-averzió deficitet okoz patkányokban [49]. Az OFC kéregbe juttatott streptozotocin, hasonlóan a mdPFC-hez [80] nem gátolta meg a kondicionált íz-averzió kialakulását, melyből arra következtethetünk, hogy az előagyi GM hálózat nem minden része szükséges a kondicionált íz-averzió kialakításához.

Már újszülöttkorban megfigyelhetők az elfogyasztott táplálék kellemes vagy kellemetlen értékelése által kiváltott, fajra jellemző mozgásmintázatai. Az orbitofrontalis kérgi GM neuronok ezen funkciókban való szerepének tisztázására íz-reaktivitási tesztek végeztünk STZ kétoldali mikroinjekciója után. Már korábban kimutatták, hogy az előagyi GM hálózat egyes elemeinek elpusztítása íz-reaktivitási változásokat okoz [21, 48, 49]. Vizsgálataink során nagymértékű változást nem tapasztaltunk a GM idegsejtek mOFC-ben való elpusztítása után, viszont ezen állatok mind a kellemes, mind a kellemetlen ízeket kellemesebbnek találták, mint a kezelést nem kapott állatok. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy az orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek részt vehetnek az előagyi GM hálózat részeként az állatok íz-reaktivitási mintázatainak kialakításában.

6. Általános következtetések

Világszerte egyre nagyobb figyelem irányul a népesség morbiditási és mortalitási statisztikáját jelentősen rontó, így rohamosan növekvő népegészségügyi jelentőségű kórképekre, melyek közül kiemelt jelentőségűek a táplálkozási és anyagcserezavarok, mint pl. az obezitás, az anorexia és bulimia nervosa, a metabolikus szindróma és a diabetes mellitus. Nemcsak az új terápiás lehetőségek kidolgozásához, hanem a jelenleginél hatékonyabb prevenciók eljárások kifejlesztéséhez is szükséges minél jobban megismernünk az ezen betegségek háttérében álló patofiziológiai elváltozásokat.

A homeosztázis fenntartása alapvető fontosságú a szervezet megfelelő működésének fenntartásához. Ennek egyik fontos összetevője a táplálkozás és az anyagcsere fiziológias szabályozása, amelynek során felismerjük és kiválasztjuk a szükséges táplálékot, s amelynek során figyelembe vesszük annak külső megjelenését, illatát, ízét, textúráját és hedonikus értékét is. A homeosztatisz működések szervezésében a külső ingerek mellett hasonlóan fontos szerepet játszik a belső környezet aktuális állapota is, így a humorális-metabolikus folyamatok pontos központi idegrendszeri szabályozása is elengedhetetlen a homeosztázis fenntartásához. Azon agyi struktúrák károsodása, melyek szerepet játszanak ezen folyamatok irányításában, a homeosztázis zavarain keresztül táplálkozási és anyagcsere betegségekhez vezethetnek. E megbetegedések kezelése – eddigi tudásunk alapján – elsősorban a perifériás folyamatokra koncentrált, de a kapcsolódó terápiás beavatkozások végső soron eredménytelenek voltak, valamint a legújabb kutatásaink leletei is egyre hangsúlyosabban arra mutatnak rá, hogy e betegségek teljes gyógyítása mindaddig nem lesz lehetséges, ameddig figyelmen kívül hagyjuk e kórfolyamatok központi idegrendszeri összetevőit.

Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy a nucleus accumbensben, a medialis és lateralis OFC-ben elhelyezkedő glukóz-monitorozó neuronok az endogén és exogén kémiai információk integrációjával, a humorális-metabolikus folyamatok szervezésével fontos szerepet játszanak az íz-információk feldolgozásában és a táplálkozás, továbbá az anyagcsere szabályozásának adaptív mechanizmusában. Leleteink nyomán az is joggal remélhető, hogy az utóbbi években a homeosztázis regulációjában újonnan felismerten szerepet játszó struktúrák – így az OFC is – egyre részletesebb megismerése hozzájárulhat új gyógyszer-celtek azonosításához, hatékony, új terápiás stratégiák kidolgozásához.

7. Vizsgálataink legfontosabb eredményeinek összefoglalása

1. Extracelluláris egysejtelvezetéseink során a NAcc és az OFC mindegyik vizsgált régiójában azonosítottunk glukóz-monitorozó neuronokat. A NAcc-ben a core-ban (elsősorban GR sejtek), míg az OFC-ben a lateralis régióban magasabb a GM-sejtek aránya.
2. A NAcc core régiójában szignifikánsan nagyobb arányban találhatóak NA-ra érzékeny sejtek, azon belül is a neurotranszmitterre serkentődő neuronok.
3. A NAcc-ben a mikroiontoforetikusan adott DA-ra mindkét területen az idegsejtek azonos arányban mutattak válaszkészséget, viszont régióként válaszmintázatukat tekintve ellentétes az arányuk: a shell régióban a neurotranszmitterre gátlódó neuronok találhatóak nagyobb arányban, a core-ban a serkentődőek. A D₁-receptor antagonistá a core-ban változtatta meg nagyobb arányban a neuronok válaszkészségét, a D₂-receptor antagonistá pedig a shell-ben váltott ki ugyanilyen hatást.
4. Az OFC-ben mindegyik mikroiontoforetikusan beadott anyag hatására a IOFC-ben vizsgált neuronok nagyobb százaléka mutatott válaszkészséget, mint a mOFC-ben.
5. A mOFC-ben a GM idegsejtekről sajátos, a glukóz-inszenzitív neuronokétól jellemzően eltérő endogén kémiai válaszkészség bizonyosodott be.
6. A NAcc-ben az intraorálisan adott sós, savanyú, umami és keserű íz-oldatokra a shell régióban reagáltak a neuronok nagyobb arányban.
7. A NAcc GR neuronjai vagy egyáltalán nem reagáltak az íz-oldatokra, vagy válaszkészség esetén minimum 2 különböző ízre is megváltoztatták a tüzelési frekvenciájukat. Ezen sejtek nagyobb arányú érzékenységet mutattak savanyú, édes és keserű ízek esetében.
8. Az OFC-ben az intraorálisan adott íz-oldatok a mOFC-ben nagyobb, vagy azonos arányban okoztak aktivitásváltozást, mint a IOFC-ben.
9. A NAcc-ben az intragasztrikusan infundált oldatokra (glukóz, MSG, NaCl) a core régióban az idegsejtek nagyobb vagy azonos arányban mutattak érzékenységet, mint a shell régióbeliek.

10. Az OFC-ben intragasztrikus infúzió során mindkét régióban kimutattunk MSG és NaCl oldatokra érzékeny neuronokat, de D-glukózza aktivitás változást mutató idegsejtet ezen területeken nem találtunk.
11. A mOFC-be adott bilaterális STZ mikroinjekciót követő glukóz tolerancia tesztben a kezelt állatok vércukorértékei a 30. és 60. percben szignifikánsan magasabbak voltak, mint a kontroll csoportban.
12. A mOFC GM idegsejtjeinek STZ-nal való elpusztítása után a kontroll csoporthoz viszonyítva a vér triglicerid szintje szignifikánsan magasabb volt a STZ kezelt állatokban, míg az általunk vizsgált többi metabolit (húgysav, koleszterin) esetében nem találtunk jelentős eltérést.
13. A mOFC-ben a kondicionált íz-averzió kialakulásában nem volt kimutatható különbség a STZ kezelt és a kontroll csoport között.
14. Az íz-reaktivitási tesztek során a STZ kezelt állatok mind a kellemes, mind a kellemetlen ízek esetében a kontroll csoport egyedeinél több ingerstív és kevesebb averzív mintázatot mutattak.
15. Mindezen új adatok feltárásában és értékelésében nagy segítségünkre voltak (ill. nélkülük részben ez ilyen formában meg sem történhetett volna) az általam végrehajtott műszaki és informatikai fejlesztések.

Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Karádi Zoltán professzor úrnak, a PTE ÁOK Élettani Intézet igazgatójának, hogy bekapcsolódhattam a vezetése alatt zajló kutatásokba. Hálával tartozom az elmúlt évek során kapott önzetlen segítségéért és támogatásáért, szakmai iránymutatásaiért és baráti tanácsaiért.

Hálásan köszönöm Dr. Lénárd László professzor úrnak, hogy az általa vezetett Doktori Iskola doktoranduszaként lehetővé tette kutatói munkám létrejöttét.

Külön köszönöm Dr. Nagy Bernadett adjunktus, László Bettina és Hormay Edina egyetemi tanársegédeknek és valamennyi diákkörös hallgatónknak áldozatos munkájukat és segítségüket.

Kiemelt köszönet illeti Fuchs Ildikó szakasszisztent a kísérletek megszervezésében és kivitelezésében nyújtott értékes segítségéért, valamint Kovácsné Korona Erzsébet laboratóriumi asszisztent a kísérleti állatok agyának szövettani feldolgozásáért.

Irodalomjegyzék

1. Adachi, A., et al., *Convergence of hepatoportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract*. Neurosci Lett, 1984. **46**(2): p. 215-8.
2. Adachi, A., et al., *Chemosensitive neurons in the area postrema of the rat and their possible functions*. Brain Res Bull, 1991. **26**(1): p. 137-40.
3. Adachi, A., M. Kobashi, and M. Funahashi, *Glucose-responsive neurons in the brainstem*. Obes Res, 1995. **3 Suppl 5**: p. 735S-740S.
4. Ahlskog, J.E. and B.G. Hoebel, *Overeating and obesity from damage to a noradrenergic system in the brain*. Science, 1973. **182**(4108): p. 166-9.
5. Anand, B.K. and J.R. Brobeck, *Hypothalamic control of food intake in rats and cats*. Yale J Biol Med, 1951. **24**(2): p. 123-40.
6. Anand, B.K. and J.R. Brobeck, *Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat*. Proc Soc Exp Biol Med, 1951. **77**(2): p. 323-4.
7. Anand, B.K., et al., *Activity of Single Neurons in the Hypothalamic Feeding Centers: Effect of Glucose*. Am J Physiol, 1964. **207**: p. 1146-54.
8. Angulo, J.A. and B.S. McEwen, *Molecular aspects of neuropeptide regulation and function in the corpus striatum and nucleus accumbens*. Brain Res Brain Res Rev, 1994. **19**(1): p. 1-28.
9. Aou, S., et al., *Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons*. Brain Res, 1984. **302**(1): p. 69-74.
10. Baylis, L.L., E.T. Rolls, and G.C. Baylis, *Afferent connections of the caudolateral orbitofrontal cortex taste area of the primate*. Neuroscience, 1995. **64**(3): p. 801-12.
11. Berendse, H.W., et al., *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): p. 3-10.
12. Berendse, H.W. and H.J. Groenewegen, *Restricted cortical termination fields of the midline and intralaminar thalamic nuclei in the rat*. Neuroscience, 1991. **42**(1): p. 73-102.
13. Bloom, F.E., *To spritz or not to spritz: the doubtful value of aimless iontophoresis*. Life Sci, 1974. **14**(10): p. 1819-34.
14. Bolam, J.P., et al., *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): p. 2141-57.
15. Bolam, J.P., B.H. Wainer, and A.D. Smith, *Characterization of cholinergic neurons in the rat neostriatum. A combination of choline acetyltransferase immunocytochemistry, Golgi-impregnation and electron microscopy*. Neuroscience, 1984. **12**(3): p. 711-8.
16. Bouyer, J.J., T.H. Joh, and V.M. Pickel, *Ultrastructural localization of tyrosine hydroxylase in rat nucleus accumbens*. J Comp Neurol, 1984. **227**(1): p. 92-103.
17. Brodmann, K., *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde: in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. 1909, Leipzig: Barth.
18. Bures, J. and O. Buresova, *Conditioned taste aversion elicited by intracerebral administration of drugs*. Acta Physiol Hung, 1989. **74**(1): p. 77-93.
19. Chang, H.T. and S.T. Kitai, *Projection neurons of the nucleus accumbens: an intracellular labeling study*. Brain Res, 1985. **347**(1): p. 112-6.

20. Chaudhari, N. and S.D. Roper, *Molecular and physiological evidence for glutamate (umami) taste transduction via a G protein-coupled receptor*. Ann N Y Acad Sci, 1998. **855**: p. 398-406.
21. Egyed, R., B. Lukats, and Z. Karadi, *Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection*. J. Physiol. (Lond.), 2000. **526**: p. 173-174.
22. Eichenbaum, H., K.J. Shedlack, and K.W. Eckmann, *Thalamocortical mechanisms in odor-guided behavior. I. Effects of lesions of the mediodorsal thalamic nucleus and frontal cortex on olfactory discrimination in the rat*. Brain Behav Evol, 1980. **17**(4): p. 255-75.
23. Fonberg, E. and J.M. Del Gado, *Avoidance and alimentary reactions during amygdala stimulation*. J Neurophysiol, 1961. **24**: p. 651-64.
24. Fonberg, E., *The Inhibitory Role of Amygdala Stimulation*. Acta Biol Exp (Warsz), 1963. **23**: p. 171-80.
25. Freedman, M. and M. Oscar-Berman, *Bilateral frontal lobe disease and selective delayed response deficits in humans*. Behav Neurosci, 1986. **100**(3): p. 337-42.
26. Funahashi, M. and A. Adachi, *Glucose-responsive neurons exist within the area postrema of the rat: in vitro study on the isolated slice preparation*. Brain Res Bull, 1993. **32**(5): p. 531-5.
27. Ganda, O.P., A.A. Rossini, and A.A. Like, *Studies on streptozotocin diabetes*. Diabetes, 1976. **25**(7): p. 595-603.
28. Garvey, W.T., T.P. Huecksteadt, and M.J. Birnbaum, *Pretranslational suppression of an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus*. Science, 1989. **245**(4913): p. 60-3.
29. Gerfen, C.R. and W.S. Young, 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): p. 161-7.
30. Grill, H.J. and R. Norgren, *The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats*. Brain Res, 1978. **143**(2): p. 263-79.
31. Groenewegen, H.J. and F.T. Russchen, *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): p. 347-67.
32. Hamilton, R.B. and R. Norgren, *Central projections of gustatory nerves in the rat*. J Comp Neurol, 1984. **222**(4): p. 560-77.
33. Hetherington, A.W. and S.W. Ranson, *Hypothalamic lesions and adiposity in the rat*. Anat. Rec., 1940. **78**(2): p. 149-172.
34. Hoebel, B.G. and P. Teitelbaum, *Hypothalamic control of feeding and self-stimulation*. Science, 1962. **135**(3501): p. 375-7.
35. Hoebel, B.G. and P. Teitelbaum, *Weight regulation in normal and hypothalamic hyperphagic rats*. J Comp Physiol Psychol, 1966. **61**(2): p. 189-93.
36. Inagaki, S., et al., *Distribution, origin, and fine structures of cholecystokinin-8-like immunoreactive terminals in the nucleus ventromedialis hypothalami of the rat*. J Neurosci, 1984. **4**(5): p. 1289-99.
37. Jackson, J.H., *Defect of intellectual expression (aphasia) with left hemiplegia*. Lancet, 1868(2): p. 457.
38. Kadowaki, T., et al., *Decreased autophosphorylation of the insulin receptor-kinase in streptozotocin-diabetic rats*. J Biol Chem, 1984. **259**(22): p. 14208-16.

39. Kang, L., et al., *Physiological and molecular characteristics of rat hypothalamic ventromedial nucleus glucosensing neurons*. *Diabetes*, 2004. **53**(3): p. 549-59.
40. Karadi, Z., et al., *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*, Asahi University Press, Gifu, 1988: p. 121-124.
41. Karadi, Z., et al., *Olfactory coding in the monkey lateral hypothalamus: behavioral and neurochemical properties of odor-responding neurons*. *Physiol Behav*, 1989. **45**(6): p. 1249-57.
42. Karadi, Z., et al., *Complex attributes of lateral hypothalamic neurons in the regulation of feeding of alert rhesus monkeys*. *Brain Res Bull*, 1990. **25**(6): p. 933-9.
43. Karadi, Z., et al., *Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys*. *J Neurophysiol*, 1992. **67**(2): p. 389-400.
44. Karadi, Z., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes*. *Brain Res Bull*, 1995. **37**(2): p. 157-62.
45. Karadi, Z., et al., *Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: II. Complex functional attributes*. *Neurobiology (Bp)*, 1995. **3**(3-4): p. 241-56.
46. Karadi, Z., et al., *Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey*. *Ann N Y Acad Sci*, 1998. **855**: p. 488-92.
47. Karadi, Z., et al., *Integrative processing of endogenous and exogenous chemical signals by glucose-monitoring neurons of the primate orbitofrontal cortex*. *Appetite*, 1998. **31**(2): p. 263.
48. Karadi, Z., et al., *The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism*. *International Congress Series*, 2004. **1269**(0): p. 30-33.
49. Karadi, Z., et al., *Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies*. *Chem Senses*, 2005. **30 Suppl 1**: p. i168-9.
50. Keszthelyi, Z., et al., *The central effect of chromium on glucose metabolism*. *Pharmacopsychiatry*, 2004. **37**(5): p. 242.
51. Kolb, B., *Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review*. *Brain Res*, 1984. **320**(1): p. 65-98.
52. Kolb, B., *Animal models for human PFC-related disorders*. *Prog Brain Res*, 1990. **85**: p. 501-19.
53. Kringelbach, M.L. and E.T. Rolls, *The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: evidence from neuroimaging and neuropsychology*. *Prog Neurobiol*, 2004. **72**(5): p. 341-72.
54. Kruk, Z.L., M. Armstrong-James, and J. Millar, *Measurement of the concentration of 5-hydroxytryptamine ejected during iontophoresis using multibarrel carbon fibre microelectrodes*. *Life Sci*, 1980. **27**(22): p. 2093-8.
55. Kuriyama, K., et al., *Actions of interferon alpha and interleukin- 1 beta on the glucose-responsive neurons in the ventromedial hypothalamus*. *Brain Res Bull*, 1990. **24**(6): p. 803-10.
56. Lenard, L., Z. Hahn, and Z. Karadi, *Body weight changes after neurochemical manipulations of lateral amygdala: noradrenergic and dopaminergic mechanisms*. *Brain Res*, 1982. **249**(1): p. 95-101.

57. Lenard, L., et al., *Sex-dependent body weight changes after iontophoretic application of kainic acid into the LH or VMH*. Brain Res Bull, 1991. **26**(1): p. 141-8.
58. Lenard, L., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics*. Brain Res Bull, 1995. **37**(2): p. 149-55.
59. Lenard, L., et al., *Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: I. Behavioral properties and neurotransmitter sensitivities*. Neurobiology (Bp), 1995. **3**(3-4): p. 223-39.
60. Lénárd, L., *Sex-dependent body weight loss after bilateral 6-hydroxydopamine injection into the globus pallidus*. Brain Research, 1977. **128**(3): p. 559-568.
61. Levin, B.E., *Metabolic sensing neurons and the control of energy homeostasis*. Physiol Behav, 2006. **89**(4): p. 486-9.
62. Levine, M.S., et al., *Sensorimotor dysfunctions and aphagia and adipsia following pallidal lesions in rats*. J Comp Physiol Psychol, 1971. **77**(2): p. 282-93.
63. Like, A.A. and A.A. Rossini, *Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus*. Science, 1976. **193**(4251): p. 415-7.
64. Lukats, B., et al., *Homeostatic alterations induced by interleukin-1beta microinjection into the orbitofrontal cortex in the rat*. Appetite, 2005. **45**(2): p. 137-47.
65. Lukats, B., R. Egyed, and Z. Karadi, *Single neuron activity changes to interleukin-1beta in the orbitofrontal cortex of the rat*. Brain Res, 2005. **1038**(2): p. 243-6.
66. Lukats, B., et al., *Electrophysiological and behavioral evidences of the feeding-related neuronal processes in the orbitofrontal cortex*. International Congress Series, 2007. **1301**(0): p. 230-233.
67. Lukáts, B., et al., *Feeding-related neuronal processes of the orbitofrontal cortex: electrophysiological and behavioral studies in rats and rhesus monkeys*, in FENS. 2006.
68. Maldonado-Irizarry, C.S. and A.E. Kelley, *Excitotoxic lesions of the core and shell subregions of the nucleus accumbens differentially disrupt body weight regulation and motor activity in rat*. Brain Res Bull, 1995. **38**(6): p. 551-9.
69. Marshall, J.F., J.S. Richardson, and P. Teitelbaum, *Nigrostriatal bundle damage and the lateral hypothalamic syndrome*. J Comp Physiol Psychol, 1974. **87**(5): p. 808-30.
70. Mendoza, J., M. Angeles-Castellanos, and C. Escobar, *Differential role of the accumbens Shell and Core subterritories in food-entrained rhythms of rats*. Behav Brain Res, 2005. **158**(1): p. 133-42.
71. Minami, T., Y. Oomura, and M. Sugimori, *Electrophysiological properties and glucose responsiveness of guinea-pig ventromedial hypothalamic neurones in vitro*. J Physiol, 1986. **380**: p. 127-43.
72. Mizuno, Y. and Y. Oomura, *Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study*. Brain Res, 1984. **307**(1-2): p. 109-16.
73. Mogensen, J. and I. Divac, *Behavioural changes after ablation of subdivisions of the rat prefrontal cortex*. Acta Neurobiol Exp (Wars), 1993. **53**(3): p. 439-49.
74. Morgane, P.J. and A.J. Kosman, *Alterations in feline behaviour following bilateral amygdectomy*. Nature, 1957. **180**(4586): p. 598-600.
75. Morgane, P.J., *Alterations in feeding and drinking behavior of rats with lesions in globi pallidi*. Am J Physiol, 1961. **201**: p. 420-8.
76. Morgane, P.J., *Electrophysiological studies of feeding and satiety centers in the rat*. Am J Physiol, 1961. **201**: p. 838-44.

77. Morrison, S.D., R.J. Barnett, and J. Mayer, *Localization of lesions in the lateral hypothalamus of rats with induced adipsia and aphagia*. Am J Physiol, 1958. **193**(1): p. 230-4.
78. Murray-Lyon, I.M., et al., *Treatment of multiple-hormone-producing malignant islet-cell tumour with streptozotocin*. Lancet, 1968. **2**(7574): p. 895-8.
79. Nagy, B., et al., *Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex*. Brain Res, 2012. **1444**: p. 38-44.
80. Nagy, B., et al., *Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex*. Behav Brain Res, 2012. **234**(2): p. 228-32.
81. Nagy, B., et al., *Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex*. Brain Res, 2014. **1543**: p. 159-64.
82. Nagy, B., et al., *Impaired glucose tolerance after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex of the rat*. Acta Physiol Hung, 2016. **103**(4): p. 403-12.
83. Nakano, Y., et al., *Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala*. Brain Res, 1986. **399**(1): p. 167-72.
84. Nakano, Y., et al., *Functional involvement of catecholamines in reward-related neuronal activity of the monkey amygdala*. J Neurophysiol, 1987. **57**(1): p. 72-91.
85. Nonneman, A.J. and B.E. Kolb, *Lesions of hippocampus or prefrontal cortex alter species-typical behaviors in the cat*. Behav Biol, 1974. **12**(1): p. 41-54.
86. Norgren, R. and C.M. Leonard, *Taste pathways in rat brainstem*. Science, 1971. **173**(4002): p. 1136-9.
87. Norgren, R. and C.M. Leonard, *Ascending central gustatory pathways*. J Comp Neurol, 1973. **150**(2): p. 217-37.
88. Norgren, R. and C. Pfaffmann, *The pontine taste area in the rat*. Brain Res, 1975. **91**(1): p. 99-117.
89. Norgren, R. and G. Wolf, *Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the rat*. Brain Res, 1975. **92**(1): p. 123-9.
90. Norgren, R., *Taste pathways to hypothalamus and amygdala*. J Comp Neurol, 1976. **166**(1): p. 17-30.
91. Nurse, B., V.A. Russell, and J.J. Taljaard, *Effect of chronic desipramine treatment on adrenoceptor modulation of [3H]dopamine release from rat nucleus accumbens slices*. Brain Res, 1985. **334**(2): p. 235-42.
92. Oomura, Y., et al., *Reciprocal Activities of the Ventromedial and Lateral Hypothalamic Areas of Cats*. Science, 1964. **143**(3605): p. 484-5.
93. Oomura, Y., et al., *Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus*. Nature, 1969. **222**(5190): p. 282-4.
94. Oomura, Y., *Input-output organization of the hypothalamus relating to food intake behavior*, in *Handbook of the hypothalamus*, P.J. Morgane and P. J., Editors. 1980: Marcel Dekker, New York. p. 557-620.
95. Oomura, Y. and H. Yoshimatsu, *Neural network of glucose monitoring system*. J Auton Nerv Syst, 1984. **10**(3-4): p. 359-72.
96. Oomura, Y., *Chemical and neuronal control of feeding motivation*. Physiol Behav, 1988. **44**(4-5): p. 555-60.
97. Otsubo, H., et al., *Induction of Fos expression in the rat forebrain after intragastric administration of monosodium L-glutamate, glucose and NaCl*. Neuroscience, 2011. **196**: p. 97-103.

98. Pannacciulli, N., et al., *Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans*. *Neuroimage*, 2007. **35**(2): p. 511-7.
99. Panula, P., et al., *Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain*. *Neuroscience*, 1989. **28**(3): p. 585-610.
100. Papp, S., et al., *Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens*. *Neuroreport*, 2007. **18**(15): p. 1561-5.
101. Paxinos, G.W.C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Inc., 1997.
102. Pellegrino, L.J., A.S. Pellegrino, and A.J. Cushman, *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. 2nd ed. 1979: Plenum Press: New York.
103. Purves, R.D., *Microelectrode methods for intracellular recording and iontophoresis*. London: Academic Press, 1981.
104. Rakieten, N., M.L. Rakieten, and M.R. Nadkarni, *Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917)*. *Cancer Chemother Rep*, 1963. **29**: p. 91-8.
105. Rocca, A.S. and P.L. Brubaker, *Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion*. *Endocrinology*, 1999. **140**(4): p. 1687-94.
106. Rolls, E.T., et al., *Sensory-specific satiety: food-specific reduction in responsiveness of ventral forebrain neurons after feeding in the monkey*. *Brain Res*, 1986. **368**(1): p. 79-86.
107. Rolls, E.T., et al., *The responsiveness of neurones in the frontal opercular gustatory cortex of the macaque monkey is independent of hunger*. *J Physiol*, 1988. **397**: p. 1-12.
108. Rolls, E.T., Z.J. Sienkiewicz, and S. Yaxley, *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): p. 53-60.
109. Rolls, E.T., *Information processing in the taste system of primates*. *J Exp Biol*, 1989. **146**: p. 141-64.
110. Rolls, E.T., S. Yaxley, and Z.J. Sienkiewicz, *Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey*. *J Neurophysiol*, 1990. **64**(4): p. 1055-66.
111. Rolls, E.T., *Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion*. *Acta Physiol Hung*, 2008. **95**(2): p. 131-64.
112. Routh, V.H., *Glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus (VMN) and hypoglycemia-associated autonomic failure (HAAF)*. *Diabetes Metab Res Rev*, 2003. **19**(5): p. 348-56.
113. San Gabriel, A.M., et al., *mGluR1 in the fundic glands of rat stomach*. *FEBS Lett*, 2007. **581**(6): p. 1119-23.
114. Schalomon, P.M., A.M. Robertson, and A. Laferriere, *Prefrontal cortex and the relative associability of taste and place cues in rats*. *Behav Brain Res*, 1994. **65**(1): p. 57-65.
115. Sclafani, A., *Sweet taste signaling in the gut*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007. **104**(38): p. 14887-8.
116. Scott, T.R., et al., *Gustatory neural coding in the amygdala of the alert macaque monkey*. *J Neurophysiol*, 1993. **69**(6): p. 1810-20.
117. Song, Z., et al., *Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus*. *Diabetes*, 2001. **50**(12): p. 2673-81.

118. Spector, A.C., P. Breslin, and H.J. Grill, *Taste reactivity as a dependent measure of the rapid formation of conditioned taste aversion: a tool for the neural analysis of taste-visceral associations*. Behav Neurosci, 1988. **102**(6): p. 942-52.
119. Stratford, T.R. and A.E. Kelley, *GABA in the nucleus accumbens shell participates in the central regulation of feeding behavior*. J Neurosci, 1997. **17**(11): p. 4434-40.
120. Szabo, I., et al. *Complex functional attributes of neurons in the orbitofrontal cortex (in Hungarian)*. in *2nd Interdisciplinary Doctoral Conference*. 2013. Pécs, Hungary.
121. Szabo, I., et al., *[Glucose-monitoring neurons of the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex are involved in the maintenance of homeostasis]*. Orv Hetil, 2017. **158**(18): p. 692-700.
122. Szabo, I., et al., *Multiple functional attributes of glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex*. Neurosci Biobehav Rev, 2018. **85**: p. 44-53.
123. Szabó, I., et al., *Pallidal stimulation in rats: Facilitation of stimulation-induced chewing by food and water deprivation*. Physiology & Behavior, 1977. **18**(3): p. 361-368.
124. Szkudelski, T., *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. Physiol Res, 2001. **50**(6): p. 537-46.
125. Takacs, G., et al., *Taste reactivity alterations after IL-1beta microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat*. Neurosci Res, 2008. **62**(2): p. 118-22.
126. Takacs, G., et al., *Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat*. Appetite, 2010. **54**(2): p. 354-62.
127. Takacs, G., et al., *Insulin and leptin plasma levels after the microinjection of interleukin-1beta into the nucleus accumbens of the rat*. Acta Physiol Hung, 2012. **99**(4): p. 472-8.
128. Takagi, S.F., *Dual systems for sensory olfactory processing in higher primates*. Trends in Neurosciences, 1979. **2**(0): p. 313-315.
129. Tanabe, T., et al., *An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey*. J Neurophysiol, 1975. **38**(5): p. 1269-83.
130. Teitelbaum, P. and A.N. Epstein, *The lateral hypothalamic syndrome: recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions*. Psychol Rev, 1962. **69**: p. 74-90.
131. Totterdell, S. and A.D. Smith, *Convergence of hippocampal and dopaminergic input onto identified neurons in the nucleus accumbens of the rat*. J Chem Neuroanat, 1989. **2**(5): p. 285-98.
132. Ungerstedt, U., *Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system*. Acta Physiol Scand Suppl, 1971. **367**: p. 95-122.
133. Valenstein, E.S., V.C. Cox, and J.W. Kakolewski, *Modification of motivated behavior elicited by electrical stimulation of the hypothalamus*. Science, 1968. **159**(3819): p. 1119-21.
134. Villablanca, J.R., C.E. Olmstead, and I. de Andres, *Effects of caudate nuclei or frontal cortical ablations in kittens: responsiveness to auditory stimuli and comparisons with adult-operated littermates*. Exp Neurol, 1978. **61**(3): p. 635-49.

135. Voorn, P., C.R. Gerfen, and H.J. Groenewegen, *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): p. 189-201.
136. Watanabe, S. and M.T. Matheus, [*Comparative study of the gustatory sensory receptors of mammals*]. Rev Assoc Paul Cir Dent Reg Aracatuba, 1980. **1**(1): p. 39-43.
137. Wayner, M.J., *Motor control functions of the lateral hypothalamus and adjunctive behavior*. Physiol Behav, 1970. **5**(11): p. 1319-25.
138. Yamamoto, T., S. Azuma, and Y. Kawamura, *Significance of cortical-amygdalar-hypothalamic connections in retention of conditional taste aversion in rats*. Exp Neurol, 1981. **74**(3): p. 758-68.
139. Yamamoto, T. and Y. Fujimoto, *Brain mechanisms of taste aversion learning in the rat*. Brain Res Bull, 1991. **27**(3-4): p. 403-6.
140. Yasoshima, Y., T.R. Scott, and T. Yamamoto, *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): p. 35-45.
141. Yaxley, S., E.T. Rolls, and Z.J. Sienkiewicz, *Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey*. J Neurophysiol, 1990. **63**(4): p. 689-700.
142. Zaborszky, L., et al., *Brainstem projection to the hypothalamic ventromedial nucleus in the rat: a CCK-containing long ascending pathway*. Brain Res, 1984. **303**(2): p. 225-31.
143. Zahm, D.S., et al., *Direct comparison of projections from the central amygdaloid region and nucleus accumbens shell*. Eur J Neurosci, 1999. **11**(4): p. 1119-26.
144. Zahm, D.S., *An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens*. Neurosci Biobehav Rev, 2000. **24**(1): p. 85-105.

A dolgozat alapjául szolgáló publikációk

- Szabó I**, Nagy B, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai az orbitofrontalis kéregben. IDK2013 konferenciakötet (2014)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z: A medialis ventrolateralis praefrontalis (orbitofrontalis) kéreg glükózmonitorozó idegsejtjei szerepet játszanak a homeosztázis fenntartásában. Orvosi Hetilap 158:(18) pp. 692-700. (2017) [IF: 0.322]
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Lénárd L, Karádi Z: Multiple functional attributes of glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex. Neurosci Biobehav Rev. 85: pp. 44-53. (2018) [IF: 8.037]
- Nagy B, **Szabó I**, Csetényi B, Hormay E, Papp S, Keresztes D, Karádi Z: Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. Brain Research 1543: pp. 159-164. (2014) [IF: 3.125]
- Nagy B, **Szabó I**, Takács G, Csetényi B, Hormay E, Karádi Z: Impaired glucose tolerance after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex of the rat. Physiology International 103:(4) pp. 403-412. (2016) [IF: 0.571]

Publikációs jegyzék

A teljes publikációs lista a következő címen megtalálható:

<https://m2.mtmt.hu/gui2/?type=authors&mode=browse&sel=10016612>

Összesített impakt faktor: 30,792; független hivatkozások száma: 48 (összes: 74).

Egyéb impaktfaktoros publikációk

Vereczkei A, Szalay C, Aradi M, Schwarz A, Orsi G, Perlaki G, Karádi Z, Németh L, Hanna S, Takács G, **Szabó I**, Bajnok L, Mohos E, Lénárd L, Dóczy T, Janszky J, Komoly S, Horváth ÖP: Ízstimulációval kiváltott agyi tevékenység funkcionális MR-vizsgálata elhízásban. Magyar Sebészet: 2011 Dec;64(6):289-93 [IF: 0.12]

Nagy B, **Szabó I**, Papp Sz, Takács G, Szalay Cs, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. Brain Research 1444: pp. 38-44. (2012) [IF: 3.125]

Szalay Cs, Aradi M, Schwarz A, Orsi G, Perlaki G, Németh L, Hanna S, Takács G, **Szabó I**, Bajnok L, Vereczkei A, Dóczy T, Janszky J, Komoly S, Horvath ÖP, Lénárd L, Karádi Z: Gustatory perception alterations in obesity: An fMRI study. Brain Research 1473: pp. 131-140. (2012) [IF: 3.125]

Nagy B, Takács G, **Szabó I**, Lénárd L, Karádi Z: Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. Behavioural Brain Research 234:(2) pp. 228-232. (2012) [IF: 3.173]

Takács G, Szalay Cs, Nagy B, **Szabó I**, Simon D, Berki T, Karádi Z: Insulin and leptin plasma levels after the microinjection of interleukin-1 β into the nucleus accumbens of the rat. Acta Physiologica Hungarica 99:(4) pp. 472-478. (2012) [IF: 0.571]

Petykó Z, Gálosi R, Tóth A, Máté K, Szabó I, **Szabó I**, Karádi Z, Lénárd L: Responses of rat medial prefrontal cortical neurons to Pavlovian conditioned stimuli and to delivery of appetitive reward. Behav Brain Res. 287: pp. 109-119. (2015) [IF: 3.173]

Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Takács G, Nagy B, László K, Karádi Z: Food and water intake, body temperature and metabolic consequences of interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. Behav Brain Res. 331: pp. 115-122. (2017) [IF: 3.173]

Hormay E, László B, **Szabó I**, Ollmann T, Nagy B, Péczely L, Mintál K, Karádi Z: The effect of loss of the glucose-monitoring neurons in the anterior cingulate cortex: Physiologic challenges induce complex feeding-metabolic alterations after local streptozotocin microinjection in rats. Neuroscience Research (2019) [IF: 2.277]

Egyéb publikációk

- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, Karádi Z: Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció hatása a táplálkozásra és anyagcserére laboratóriumi patkányban. IDK2014 konferenciakötet (2015)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának hatása a glukóz toleranciára laboratóriumi patkányban. IDK2014 konferenciakötet (2015)
- Guth K, Budai A, Mikó-Baráth E, **Szabó I**, Jandó G: Innovatív megoldások a látásszűrésben. VI. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2017 – Tanulmánykötet (2017)
- Guth K, Budai A, **Szabó I**, Jandó G: Látásszűrés az informatika segítségével. Tavaszi Szél 2017 – Tanulmánykötet (2017)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Íz-érzékelés a gasztrointesztinális rendszerben. Tavaszi Szél 2018 – Tanulmánykötet (2018)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical responsiveness in nucleus accumbens. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia – Tanulmánykötet (2018)

Referált folyóiratban megjelent összefoglalók

- Nagy B, **Szabó I**, Papp Sz, Takács G, Szalay Cs, Faragó B, Keresztes D, Fotakos D, Karádi Z: The effect of intragastric and intraoral chemical stimulation on glucose monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Acta Physiologica Hungarica* 97:(4) p. 463. (2010)
- Takács G, Szalay Cs, Nagy B, **Szabó I**, Fotakos D, Csulak T, Németh L, Keresztes D, Hanna S, Hideg B, Faragó B, Csulak E, Karádi Z: Taste perception alterations in the background of interleukin-1 β mediated anorexia in the limbic forebrain. *Acta Physiologica Hungarica* 97:(4) p. 480. (2010)
- Karádi Z, Nagy B, **Szabó I**, Fotakos D, Keresztes D, Hideg B, Faragó B: Responsiveness of forebrain glucose-monitoring neurons to intraorally and intragastrically delivered monosodium glutamate. *Chemical Senses* 36:(1) p. E10. (2011)
- Karádi Z, Nagy B, **Szabó I**, Szalay Cs, Takács G, Keresztes D, Hideg B, Faragó B, Góré MB, Lénárd L: Complex functional attributes of forebrain glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis. *Acta Physiologica* 202:(Suppl684) p. 49-50. (2011)

- Nagy B, **Szabó I**, Papp Sz, Takács G, Szalay Cs, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Góré MB, Karádi Z: Characteristic dopamine sensitivity pattern and chemical information processing of glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Acta Physiologica* 202:(Suppl684) p. 85. (2011)
- Szabó I**, Nagy B, Takács G, Szalay Cs, Papp Sz, Hideg B, Faragó B, Góré MB, Keresztes D, Karádi Z: Glucose monitoring neurons: Endogenous and exogenous chemical sensitivity in the nucleus accumbens. *Acta Physiologica* 202:(Suppl684) p. 112. (2011)
- Nagy B, **Szabó I**, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Góré MB, Karádi Z: Electrophysiological characteristics of feeding associated mdPFC neurons. *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 65:(Suppl1) p. 47. (2012)
- Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Faragó B, Góré MB, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical responsiveness of umami sensitive neurons in the nucleus accumbens. *Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience* 65:(Suppl1) p. 62. (2012)
- Szabo I**, Hormay E, Csetenyi B, Nagy B, Gore MB, Karadi Z: Complex functional attributes of glucose-monitoring neurons in medial orbitofrontal cortex and their homeostatic significance. *Acta Physiologica* 211:(697) p. 150. (2014)
- Csetenyi B, Hormay E, Nagy B, **Szabo I**, Gore MB, Karadi Z: IL-1 beta modifies the taste reactivity in the cingulate cortex of the rat. *Acta Physiologica* 211:(697) pp. 143-144. (2014)
- Hormay E, Csetenyi B, **Szabo I**, Nagy B, Hideg B, Gore MB, Karadi Z: Complex functional attributes of cingulate cortex glucose-monitoring neurons and their metabolic significance. *Acta Physiologica* 211:(697) p. 144. (2014)
- Petyko Z, Toth A, Galosi R, **Szabo I**, Mate K, Szabo I, Karadi Z, Lenard L: Neuronal responses of the rat medial prefrontal cortex during appetitive classical conditioning. *Acta Physiologica* 211:(697) p. 160. (2014)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: Complex functional attributes of orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons. *Obesitologia Hungarica* 14:(Suppl2) p. 58. (2015)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Tóth M, Torda V, Karádi Z: Cingulate cortex IL-1 β mediated mechanisms in the regulation of feeding and metabolism in the rat. *Obesitologia Hungarica* 14:(Suppl2) pp. 57-58. (2015)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons of the rat cingulate cortex: feeding and metabolic significance. *Obesitologia Hungarica* 14:(Suppl2) pp. 57-58. (2015)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: A cinguláris kérgi glukóz monitorozó neuronok szerepe a táplálkozás és anyagcsere szabályozásban. *Obesitologia Hungarica* 16:(Suppl1) p. 14. (2017)

Előadások és konferencia absztraktok

- Nagy B, Takács G, Szalay Cs, **Szabó I**, Keresztes D, Hideg B, Fotakos D. és Karádi Z: A mediodorzális prefrontális kéreg idegsejtjeinek endogén és exogén kémiai érzékenysége. Biológus doktoranduszok konferenciája 2009, Pécs (előadás)
- Nagy B, **Szabó I**, Takács G, Szalay Cs, Keresztes D, Hideg B, Fotakos D, Faragó B, Karádi Z: Neurochemical attributes and taste responsiveness of neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. IBRO International Workshop 2010, Pécs (poszter)
- Fotakos D, Hideg B, **Szabó I**, Takács G, Szalay Cs, Nagy B, Karádi Z: The effect of intraoral and intragastric administrations of chemicals on glucose monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. IBRO International Workshop 2010, Pécs (poszter)
- Takács G, Szalay Cs, Nagy B, Fotakos D, **Szabó I**, Keresztes D, Németh L, Hanna S, Csulak T, Hideg B, Faragó B, Karádi Z: Feeding and taste perception alterations after IL-1 beta microinjection into the nucleus accumbens. IBRO International Workshop 2010, Pécs (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Takács G, Szalay Cs, Faragó B, Keresztes D, Fotakos D, Karádi Z: Intragastrikus és intraorális kémiai stimuláció hatása a mediodorsális prefrontális kéreg neuronjaira. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXIV. Vándorgyűlése és a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológia Társaság (MFT) II. közös tudományos konferenciája, Szeged, 2010 (poszter)
- Takács G, Szalay Cs, Nagy B, **Szabó I**, Fotakos D, Csulak T, Németh L, Keresztes D, Hanna S, Hideg B, Faragó B, Csulak E, Karádi Z: Íz-percepció változások a limbikus előagyú interleukin-1 β mediálta anorexia hátterében. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXIV. Vándorgyűlése és a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológia Társaság (MFT) II. közös tudományos konferenciája, Szeged, 2010 (poszter)
- Fotakos D, Hideg B, **Szabo I**, Szalay C, Takacs G, Nagy B, Karadi Z: The effect of gustatory and intragastric chemical stimulation on glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands, 2010 (poszter)
- Nagy B, **Szabo I**, Takacs G, Szalay C, Keresztes D, Hideg B, Fotakos D, Farago B, Karadi Z: Mediodorsal prefrontal cortex glucose-monitoring neurons change in activity in response to intraorally and intragastrically delivered chemical stimuli. 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands, 2010 (poszter)
- Takács G, Szalay C, Nagy B, Fotakos D, **Szabó I**, Keresztes D, Németh L, Hanna S, Csulak T, Hideg B, Faragó B, Karádi Z: Involvement of interleukin-1beta in the control of feeding and taste perception in the nucleus accumbens. 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, The Netherlands, 2010 (poszter)

- Karádi Z, Nagy B, **Szabó I**, Fotakos D, Keresztes D, Hideg B, Faragó B: Responsiveness of Forebrain Glucose-Monitoring Neurons to Intraorally and Intragastrically Delivered Monosodium Glutamate. ECRO, European Chemoreception Research Organization, XXth Congress, Avignon, France, 2010 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Takács G, Szalay C, Papp S, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Keresztes D, Karádi Z: Endogenous and Exogenous Chemical Sensitivity of Glucose Monitoring Neurons in the Nucleus Accumbens. 13th Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT), Budapest, Hungary, 2011 (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Papp S, Takács G, Szalay C, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex: responsiveness to dopamine and exogenous chemical stimuli. 13th Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT), Budapest, Hungary, 2011 (poszter)
- Karádi Z, Nagy B, **Szabó I**, Szalay Cs, Takács G, Keresztes D, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Lénárd L: Complex functional attributes of forebrain glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis. A Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok közös tudományos konferenciája (FAMÉ), Pécs, 2011 (előadás)
- Szabó I**, Nagy B, Takács G, Szalay Cs, Papp Sz, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Keresztes D, Karádi Z: Glukóz-monitorozó idegsejtek: endogén és exogén kémiai érzékenység a nucleus accumbens-ben. A Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok közös tudományos konferenciája (FAMÉ), Pécs, 2011
- Nagy B, **Szabó I**, Papp Sz, Takács G, Szalay Cs, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: A mediodorzális prefrontális kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek sajátos dopamin érzékenységi mintázata és kémiai információ feldolgozása. A Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok közös tudományos konferenciája (FAMÉ), Pécs, 2011 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical responsiveness of umami sensitive neurons in the nucleus accumbens. IBRO International Workshop 2012, Szeged, Hungary (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Electrophysiological characteristics of feeding associated mdPFC neurons. IBRO International Workshop 2012, Szeged, Hungary (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Ábrahám I, Lénárd L, Karádi Z: Ösztrogén hatása a nucleus basalis magnocellularis idegsejtjeinek neurokémiai excitabilitására egérben in vivo. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012 (poszter)

- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Endogén és exogén kémiai ingerek hatása az umami-érzékeny idegsejtekre patkány cinguláris kérgében. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Patkány cinguláris kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek exogén és endogén kémiai érzékenysége. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012 (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Takács G, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: A prefrontális kéreg glukóz-monitorozó idegsejtjeinek szerepe az íz-reaktivitási mintázatok kialakulásában. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2012 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Takács G, Papp S, Hideg B, Faragó B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical sensitivity of glucose-monitoring and glutamate sensitive neurons in the nucleus accumbens. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, 2012 (poszter)
- Nagy B, Takács G, **Szabó I**, Szalay C, Keresztes D, Faragó B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Taste reactivity deficit after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, 2012 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Zoltán Karádi: Endogenous and exogenous chemical responsiveness in the medial orbitofrontal cortex. A Magyar Idegtudományi Társaság XIV. Konferenciája, Budapest, 2013 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, Karádi Z: Homeostatic alterations after IL-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. A Magyar Idegtudományi Társaság XIV. Konferenciája, Budapest, 2013 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Catecholamine responsiveness of glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. A Magyar Idegtudományi Társaság XIV. Konferenciája, Budapest, 2013 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai az orbitofrontális kéregben. II. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2013 (előadás)
- Szabó I**, Nagy B, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Medialis és lateralis orbitofrontalis kérgi idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai. A Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa, Budapest, 2013 (poszter)

- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, Karádi Z: A cinguláris kéregbe adott IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásai patkányban. A Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa, Budapest, 2013 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: A glukóz-monitorozó idegsejtek katekolamin érzékenysége és intraorális íz-ingerlésre adott válasza patkány cinguláris kérgében. A Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa, Budapest, 2013 (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Kóros glukóz tolerancia a mediodorzális prefrontális kéreg streptozotocin mikroinjekcióját követően patkányban. A Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa, Budapest, 2013 (poszter)
- Szabó I**, Nagy B, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Neurochemical responsiveness and taste sensitivity of neurons in the medial and lateral orbitofrontal cortex of the rat. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs, 2013 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, and Karádi Z: Interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex induces homeostatic changes in the rat. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs, 2013 (előadás)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Complex functional attributes of neurons in the cingulate cortex of the rat. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs, 2013 (előadás)
- Nagy B, **Szabó I**, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Metabolic alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences 2013, Pécs, 2013
- Szabó I**: The central regulation of feeding and metabolism: The glucose-monitoring system. Encontro com Pesquisadores de Universidade de Pécs (Hungria): reforçando a internacionalização da USP, Universidade de São Paulo (USP), Brazília, 2013 (előadás)
- Szabó I**: The central regulation of feeding and metabolism: The glucose-monitoring system. Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, Centro Biomédico, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Brazília, 2013 (előadás)
- Szabó I**, Nagy B, Hormay E, Csetényi B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Nucleus Accumbens and Orbitofrontal Cortex: Endogenous and Exogenous Chemical Responsiveness of Neurons in the Rat. IBRO Workshop 2014, Debrecen, 2014 (poszter)

- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, Karádi Z: Feeding and metabolic consequences of IL-1 β microinjection into the cingulate cortex in the rat. IBRO Workshop 2014, Debrecen, 2014 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Streptozotocin microinjection into the cingulate cortex alters glucose tolerance in the rat. IBRO Workshop 2014, Debrecen, 2014 (poszter)
- Nagy B, **Szabó I**, Csetényi B, Hormay E, Bajnok Góré M, Karádi Z: Metabolic Effects of Local Microinjection of Streptozotocin into the Mediodorsal Prefrontal Cortex. IBRO Workshop 2014, Debrecen, 2014 (poszter)
- Hartung K, Kósa B, Füge K, **Szabó I**, Koller Á: The Role of Women in PhD Education at the University of Pécs and Changing Tendencies over Time. 9th ORPHEUS Conference, Lausanne, Svájc, 2014 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának hatása a glukóz toleranciára laboratóriumi patkányban. III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2014, Pécs, 2014 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Hideg B, Karádi Z: Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció hatásai a táplálkozásra és anyagcserére laboratóriumi patkányban. III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2014, Pécs, 2014 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Complex functional attributes of glucose-monitoring neurons in medial orbitofrontal cortex and their homeostatic significance. FEPS2014 (Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiology Society), Budapest, 2014 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Bajnok Góré M, Karádi Z: IL-1 β modifies the taste reactivity in the cingulate cortex of the rat. FEPS2014 (Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiology Society), Budapest, 2014 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Hideg B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Complex functional attributes of cingulate cortex glucose-monitoring neurons and their metabolic significance. FEPS2014 (Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiology Society), Budapest, 2014 (poszter)
- Petykó Z, Tóth A, Gálosi R, **Szabó I**, Máté K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L: Neuronal responses of the rat medial prefrontal cortex during appetitive classical conditioning. FEPS2014 (Joint Meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiology Society), Budapest, 2014 (poszter)

- Szabó I:** Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai a medialis orbitofrontalis kéregben. Pécsi Tudományegyetem Idegtudományi Centrum és Szentágotthai János Kutatóközpont PhD és TDK konferencia, Pécs, 2014 (előadás)
- Szabó I,** Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Bajnok Góré M, Karádi Z: Medial Orbitofrontal Cortex: Complex Functional Attributes of Glucose-Monitoring Neurons and Their Metabolic Significance. 15th Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT2015), Budapest, 2015 (poszter)
- Petykó Z, Tóth A, Gálosi R, **Szabó I,** Máté K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L: Responses of rat medial prefrontal cortical neurons to Pavlovian conditioned stimuli and to delivery of appetitive reward. 15th Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT2015), Budapest, 2015 (poszter)
- Szabó I,** Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z: A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai. Tavaszi Szél Konferencia, Eger, 2015 (előadás)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I,** Karádi Z: Patkány cinguláris kérgébe adott IL-1 β mikroinjekció homeosztatisz hatásainak vizsgálata. Tavaszi Szél Konferencia, Eger, 2015 (előadás)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I,** Nagy B, Karádi Z: Glukóz tolerancia változások laboratóriumi patkányban cinguláris kérgi streptozotocin mikroinjekciót követően. Tavaszi Szél Konferencia, Eger, 2015 (előadás)
- Szabó I,** Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z: A medialis orbitofrontalis kéregbe adott streptozotocin mikroinjekció metabolikus és magatartási hatásai patkányban. A Magyar Élettani Társaság 79. Vándorgyűlése és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság 2015. évi konferenciája, Szeged, 2015 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I,** Nagy B, Karádi Z: A cinguláris kéreg streptozotocin mikroinjekciójának metabolikus hatása laboratóriumi patkányban. A Magyar Élettani Társaság 79. Vándorgyűlése és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság 2015. évi konferenciája, Szeged, 2015 (poszter)
- Nagy B, **Szabó I,** Csetényi B, Hormay E, Karádi Z: Effect of stress associated neurotransmitters on the mediodorsal prefrontal cortex. 5th International Regional (North America) ISBS Neuroscience and Biological Psychiatry „Stress and Behavior” Conference, Miami, FL, USA, 2015 (előadás)
- Szabó I:** The central regulation of feeding and metabolism: The glucose-monitoring system. Division of Behavioral Physiology, Department of Behavioral Sciences, Graduate School of Human Sciences, Osaka University, Osaka, Japán, 2015 (előadás)
- Szabó I,** Hormay E, Csetényi B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: Complex functional attributes of orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons. 5th Central European Congress on Obesity (CECON), Budapest, 2015 (előadás)

- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Tóth M, Torda V, Karádi Z: Cingulate cortex IL-1 β mediated mechanisms in the regulation of feeding and metabolism in the rat. 5th Central European Congress on Obesity (CECON), Budapest, 2015 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Nagy B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons of the rat cingulate cortex: feeding and metabolic significance. 5th Central European Congress on Obesity (CECON), Budapest, 2015 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Torda V, Tóth M, Karádi Z: A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek metabolikus és magatartási funkcióinak vizsgálata patkányban. Doctoral Workshop 2015, Pécs, 2015 (előadás)
- Csetényi B, Hormay E, Nagy B, **Szabó I**, Tóth M, Torda V, Karádi Z: Cinguláris kérgi IL-1 β mikroinjekció homeosztatis hatásainak vizsgálata patkányban. Doctoral Workshop 2015, Pécs, 2015 (előadás)
- Hormay E, Csetényi B, Nagy B, **Szabó I**, Torda V, Tóth M, Karádi Z: Patkány cinguláris kérgi glukóz-monitorozó neuronok táplálkozási és metabolikus szerepe. Doctoral Workshop 2015, Pécs, 2015 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z: A glukóz-monitorozó neuronok komplex funkcionális sajátosságai a medialis orbitofrontalis kéregben. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ 2016), Pécs, 2016 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Nagy B, Karádi Z: Cinguláris kérgi interleukin-1 β mikroinjekció íz-percepciót módosító hatásának vizsgálata patkányban. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ 2016), Pécs, 2016 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Karádi Z: Patkány cinguláris kérgi glukóz-monitorozó neuronok elektrofiziológiai sajátosságai és metabolikus jelentősége. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ 2016), Pécs, 2016 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal cortex of rat. IBNS 2016 Annual Meeting, Budapest, 2016 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: A mediális orbitofrontális kérgi glukóz-monitorozó idegsejtek metabolikus szerepe a homeosztázis szabályozásában. Tavaszi Szél Konferencia, Miskolc, 2017 (előadás)
- Guth K, Budai A, **Szabó I**, Jandó G: Modernkori informatika a látásszűrés szolgálatában. Tavaszi Szél Konferencia, Miskolc, 2017 (előadás)
- Guth K, Budai A, Mikó-Baráth E, **Szabó I**, Jandó G: Óvodáskorú gyermekek látásszűrésének új lehetőségei. III. Cholnoky László Nemzetközi Szakkollégiumi Szimpózium, Pécs, 2017 (előadás)

- Guth K, Budai A, Mikó-Baráth E, **Szabó I**, Jandó G: Modern information technology in vision screening. VI. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2017 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: A medialis orbitofrontalis kérgi glukóz-monitorozó neuronok szerepe a homeosztázis fenntartásában. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság közös Vándorgyűlése (ÉFM), Debrecen, 2017 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Karádi Z: Cinguláris kérgi interleukin-1 β mikroinjekció metabolikus hatásai patkányban A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság közös Vándorgyűlése (ÉFM), Debrecen, 2017
- Guth K, Budai A, Mikó-Baráth E, **Szabó I**, Jandó G: Modernkori informatika a látásszűrés szolgálatában. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság közös Vándorgyűlése (ÉFM), Debrecen, 2017 (poszter)
- Szabo I**, Hormay E, Csetenyi B, Karadi Z: Multiple functional significance of the glucose-monitoring neuronal network in the medial orbitofrontal cortex. 26th Annual Meeting of the International Behavioral Neuroscience Society (IBNS), Hiroshima, Japán, 2017 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: The role of medial orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis. FENS Regional Meeting, Pécs, 2017 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Karádi Z: Metabolic effects of interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. FENS Regional Meeting, Pécs, 2017 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Karádi Z: Feeding and metabolic attributes of the glucose monitoring-neurons in the cingulate cortex. FENS Regional Meeting, Pécs, 2017 (poszter)
- Mikó-Baráth E, Budai A, Fülöp D, Nemes V, Kerekes J, Juszt J, Guth K, Horváth G, **Szabó I**, Buzás P, Jandó G: Increasing the sensitivity of a new, web-based amblyopia screening application. FENS Regional Meeting, Pécs, 2017 (poszter)
- Guth K, Mikó-Baráth E, **Szabó I**, Jandó G: A térlátás szűrésének innovációs lehetőségei. Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban (DKK17), Pécs, 2017 (előadás)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Karádi Z: Metabolic alterations after interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. 6th Central European Congress on Obesity (CECON) & 15th Slovak Congress on Obesity, Pozsony, Szlovákia, 2017 (poszter)

- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Karádi Z: Feeding and metabolism altering attributes of the glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. 6th Central European Congress on Obesity (CECON) & 15th Slovak Congress on Obesity, Pozsony, Szlovákia, 2017 (poszter)
- Hormay E, Csetényi B, **Szabó I**, Karádi Z: A cinguláris kérgi glukóz monitorozó neuronok szerepe a táplálkozás és anyagcsere szabályozásban. A Magyar Elhízástudományi Társaság 25. éves Jubileumi Kongresszusa - 69. tudományos rendezvénye "Az elhízás elmélete, klinikai gyakorlata és a megelőzés lehetőségei", Budapest, 2017 (előadás)
- Szabó I**: Endogén és exogén kémiai érzékenység a nucleus accumbens-ben. XI. Nemzetközi és XVIII. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia, Pécs, 2018 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Ízérzékelés a gasztrointesztinális rendszerben? Tavaszi Szél Konferencia 2018, Győr, 2018 (előadás)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Mintál K, Karádi Z: Az interleukin-1 β íz-percepciót módosító hatása patkány cinguláris kérgében. Tavaszi Szél Konferencia 2018, Győr, 2018 (előadás)
- Guth K, **Szabó I**, Mikó-Baráth E, Jandó G: A térlátás vizsgálatának új távlatai. Tavaszi Szél Konferencia 2018, Győr, 2018 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Taste responsiveness of neurons in nucleus accumbens. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2018 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Endogenous and exogenous chemical responsiveness in nucleus accumbens. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2018 (poszter)
- Guth K, Szabó I, Mikó-Baráth E, Jandó G: A térlátás szűrése digitális platformokon. VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, 2018 (előadás)
- Szabó I**: A homeosztázis szabályozásában alapvető előagyi glukóz-monitorozó neuronok működési sajátosságainak vizsgálata. Új Nemzeti Kiválósági Program (ÚNKP) Konferencia, Pécs, 2018 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, Csetényi B, Karádi Z: Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai a nucleus accumbens-ben. Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Szeged, 2018 (poszter)
- Csetényi B, Hormay E, **Szabó I**, Mintál K, Karádi Z: Íz-reaktivitás változások patkány cinguláris kérgébe adott interleukin-1 β hatására. Magyar Élettani Társaság Vándorgyűlése, Szeged, 2018 (poszter)

- Szabó I**, Hormay E, László B, Karádi Z: New methodological approach for the examination of taste and texture detection of neurons. Medical Conference for PhD Students and Experts of Clinical Sciences 2018 (MEDPécs), Pécs, 2018 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Laszlo B, Karadi Z: Electrophysiological examination of underlying neuronal mechanisms of taste reactivity in the nucleus accumbens of behaving rats. 16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, 2019 (poszter)
- László BR, Hormay E, **Szabó I**, Mintál K, Karádi Z: Taste reactivity alterations after interleukin-1 β microinjection into the cingulate cortex of the rat. 16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, 2019 (poszter)
- Hormay E, László B, **Szabó I**, Mintál K, Karádi Z: Glucose-monitoring neurons in the cingulate cortex of the rat. – Microelectrophysiological study. 16th Annual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, 2019 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, Laszlo B, Karadi Z: Electrophysiological examination of neurons during taste reactivity test in the nucleus accumbens and medial orbitofrontal cortex of the rat. 13th Göttingen Meeting of the German Neuroscience Society, Göttingen, Németország, 2019 (poszter)
- Szabó I**: Új módszertani megközelítés az idegsejtek íz- és textúraérzékelésének vizsgálatára. XII. Nemzetközi és XIX. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia, Pécs, 2019 (előadás)
- Szabó I**: A nucleus accumbens idegsejtjeinek vizsgálata íz-reaktivitási tesztekben. Új Nemzeti Kiválósági Program (ÚNKP) Konferencia, Pécs, 2019 (előadás)
- Szabó I**, Hormay E, László B, Karádi Z: Examination of the role of neurons in taste reactivity. Interdisciplinary Doctoral Conference 2019, Pécs, 2019 (poszter)
- Szabó I**, Hormay E, László B, Lénárd L, Karádi Z: Limbikus előagyi neuronok szerepe a táplálkozás és az anyagcsere szabályozásában. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Anatómus Társaság, Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság, Magyar Élettani Társaság közös Vándorgyűlése (FAMÉ 2019), Budapest, 2019 (előadás)

Az idegsejtek komplex funkcionális sajátosságai az orbitofrontalis kéregben

Dr. Szabó István

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

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet

Absztrakt

A neurofiziológiai kutatások egyik fontos területe a táplálkozás és anyagcsere központi szabályozásának vizsgálata, mivel a kapcsolódó betegségek – mint az elhízás, a kóros soványság, a diabetes mellitus és a metabolikus szindróma – a modern társadalmak egészségügyi ellátására egyre növekvő terhet rónak. Nemcsak az ezen megbetegedések háttérében álló pathofiziológiai elváltozások, de még az egészséges szervezet centrális regulációs mechanizmusai sem ismertek jelenleg kellő mértékben.

Az orbitofrontalis kéreg (OBF) jelentős szerepet játszik a táplálkozás központi szabályozásában. Az itt és más agyi struktúrákban is megtalálható glukóz-monitorozó (GM) idegsejtek – melyek D-glukóz közvetlen adására jellegzetes neurokémiai érzékenységet mutatnak – sokrétűen érintettek ezen funkciókban. Jelen vizsgálataink célja az orbitofrontalis kérgi neuronok endogén és exogén kémiai érzékenységének tanulmányozása volt.

Kísérleteink során altatott hím Sprague-Dawley patkányok medialis (mOBF) és lateralis (lOBF) orbitofrontalis kérgéből extracelluláris egységtevékenységet vezettünk el. Ehhez saját készítésű wolframszálas multibarrel üveg mikroelektrodát alkalmaztunk, melyen keresztül különböző kémiai anyagokat (D-glukóz, noradrenalin /NA/, dopamin /DA/, GABA, acetilkolin /ACh/ és glutamát /Glut/) tudunk mikroelektroforetikus technikával beadni. Az idegsejtek exogén kémiai érzékenységének vizsgálatára egy, a patkány szájába behelyezett polietilén csövön keresztül juttattuk az öt alapízt (édes, sós, savanyú, keserű, umami) reprezentáló oldatokat és a narancslét (komplex íz) a szájüregbe.

A vizsgált sejtek 40%-a bizonyult GM neuronnak a lOBF-ben, míg a mOBF-ben 20%-uk mutatott érzékenységet D-glukózra. Mindkét régióban az ACh-ra volt a legnagyobb az idegsejtek válaszkészsége (lOBF: 90%; mOBF: 80%), a DA-ra mindkét területen kb. 40%-uk változtatta meg aktivitását. NA-ra a lOBF-ben az idegsejtek fele, a mOBF-ben mintegy negyedük reagált. GABA adásakor a neuronok több mint fele gátlódott (lOBF: 75%; mOBF: 56%).

Az íz-ingerlések hatására a lOBF-ben nátrium-glutamát (umami) ízére a vizsgált sejtek 50%-a, a többi oldat alkalmazásakor mintegy 40%-a bizonyult érzékenynek, a mOBF-ben ugyanakkor ez az arány a savanyú, az umami, a keserű íz és a narancslé esetében 60% volt. Mindkét régióban a sós ízre a neuronok harmada, az édesre negyede változtatta meg a tüzelési frekvenciáját.

A mOBF idegsejtjei minden neurokémiai ingerre a lOBF-beliékel azonos vagy azoknál kisebb arányban válaszoltak, míg az intraorális íz-ingerre bekövetkező aktivitásváltozások aránya éppen fordított volt a két területen.

Ezen adatok alapján valószínűsíthető, hogy az OBF mindkét vizsgált régiója alapvető jelentőségű a táplálkozás központi szabályozásának adaptív mechanizmusában. E

folyamatokban az itt található GM neuronok kulcsszerepet játszhatnak az endogén és exogén környezetből származó kémiai és egyéb jelek integrációjával.

Támogatás: Ajinomoto 51064/2009, TÁMOP-4.2.1.B-10/2/KONV-2010-0002, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0029, Magyar Tudományos Akadémia (MTA).

Kulcsszavak: *orbitofrontalis kéreg; glukóz-monitorozó neuron; neurokémiai ingerlés; izingerlés.*

I. Bevezetés

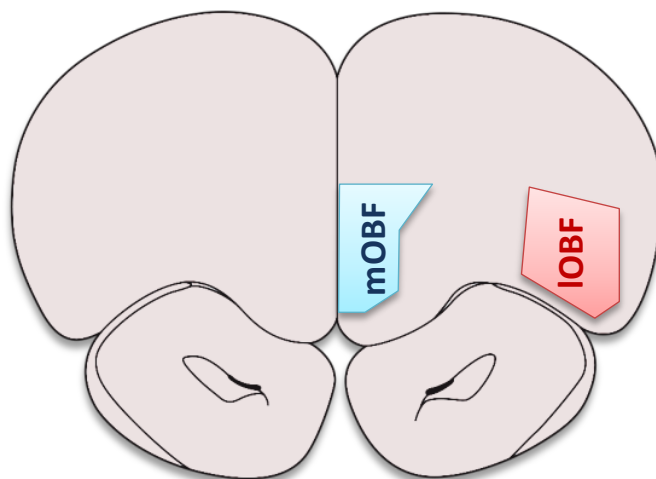
1. Az orbitofrontalis kéreg

A homeosztázis biztosítása – vagyis a környezethez, a változó viszonyokhoz, kihívásokhoz való megfelelő alkalmazkodás – elengedhetetlen feltétele az egészséges élet működésének. A táplálkozási és anyagcserebetegségek – mint az elhízás, az anorexia és a bulimia nervosa, a diabetes mellitus, a metabolikus szindróma – a homeosztázis zavarásával járó kórképek, melyek korunk népbetegségei közé tartoznak. Nagyrészükből a betegségek nem gyógyíthatók, csak tüneti terápia ismert, és a betegek egész életükben orvosi kontrollra, kezelésre szorulnak. A neurofiziológiai kutatások egyik fontos területe a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásának vizsgálata, mivel nemcsak az ezen megbetegedések hátterében álló pathofiziológiai elváltozások, de még az egészséges szervezet centrális regulációs mechanizmusai sem ismertek jelenleg kellő mértékben.

A prefrontalis kéreg a motoros és premotoros kérgi areáktól rostrálsan elhelyezkedő agykérgi terület, mely rágszálókban két fő régióra osztható: mediodorsalis és ventrolaterális területre. Ez utóbbi rész felel meg a főemlősökben megtalálható orbitofrontalis kéregnek (OBF) [3].

Ez a régió a limbikus rendszer részeként időlegesen tárolja a szenzoros információkat, illetve időbeli késéssel, adekvát válaszmintákkal kapcsolja össze ezeket [5], szerepe van a szociális, szexuális és adaptációs viselkedések kialakításában [20], a spontán és komplex viselkedésmintázatok létrejöttében [14], a különböző ízek és szagok egymástól való elkülönítésében [4, 12, 25], valamint alapvetően érintett a testtömeg, a táplálék- és folyadékfelvétel és a metabolikus kontroll fenntartásában [13].

Vizsgálatainkban ezen agyterület két részét, a medialis (mOBF) és a laterális (lOBF) orbitofrontalis kéregterület endogén és exogén kémiai érzékenységét tanulmányoztuk (*1. ábra*).



1. ábra – A medialis (mOBF) és lateralis (lOBF) orbitofrontalis kéreg régiók elhelyezkedése (B+4,2) Paxinos és Watson szerint [23].

2. A glukóz-monitorozó neuronhálózat

A központi idegrendszerben található glukóz-monitorozó (GM) idegsejtek első leírása és részletes vizsgálatának megkezdése Oomura és munkatársai nevéhez fűződik [21]. Ezen neuronok a glukózt nem csak metabolizmusuk során használják fel, hanem D-glukóz hatására neuronális válaszkészséget is mutatnak.

Funkcionális szempontból két típusuk különíthető el: az egyikbe a glukóz hatására gátlódó sejtek, az ún. *glukóz-szenzitív* (GS) neuronok, a másikba a glukóz hatására serkentődő, azaz tüzelési frekvenciájukat növelő idegsejtek, az ún. *glukóz-receptor* (GR) neuronok sorolhatók. Azon idegsejteket, amelyek glukóz hatására aktivitásváltozást, válaszkészséget nem mutatnak, glukóz-inszenzitív (GIS) neuronoknak nevezzük.

A GM sejteket már számos agyterületen kimutatták: hypothalamus [6, 7, 21], nucleus tractus solitarii [1, 16], area postrema [1, 2], amygdala [6, 10, 18, 19], globus pallidus [8, 15], nucleus accumbens [22], mediodorsalis prefrontalis kéreg [17]. Munkacsoportunk korábban már elkezdte ezen sejtek tanulmányozását az OBF-ben is [9, 11, 12], jelen kutatásainkban az akkori vizsgálatokat folytatjuk illetve terjesztjük ki.

II. Anyag és módszer

1. Kísérleti állatok

Kísérleteink során altatott hím Sprague-Dawley patkányok orbitofrontalis kérgéből extracelluláris egysejttevékenységet vezettünk el. A kísérleti állatok testtömege 250-350 g volt. A patkányszobában állandó hőmérsékletet (21 ± 2 °C) és páratartalmat (55-60%) biztosítottunk. Az állatokat 12/12 órás világos/sötét ciklusban tartottuk.

A kísérleti patkányok tartása és a velük való foglalkozás során betartottuk a hazai (1998. évi XXVIII. tv. az állatok védelméről és kíméletéről, illetve a Kormány 40/2013. Korm. rendelete az állatkísérletekről) és a nemzetközi előírásokat, Európai Unió irányelveket (NIH Guidelines, European Community Council Directive 86/609/EEC 1986, 2006; European Directive 2010/63/EU of the European Parliament).

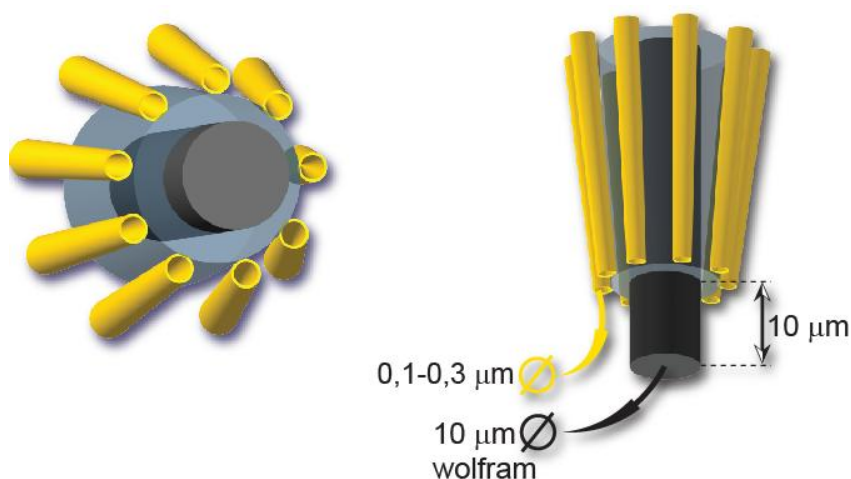
2. Műtét

A patkányok altatásához intraperitoneálisan adott uretánt (0,6 ml/100 ttg, 25% friss oldat, Sigma) alkalmaztunk. A sztereotaxiás készüléket (3. ábra bal alsó része), melyben az állatok fejét rögzítettük, döntött helyzetben pozicionáltuk. A koponya felnyitása és a dura bemetszése után a mikroelektrodát egy hidraulikus mikrotovábbító rendszer (Narishige MO-10, Japán) segítségével vezettük le. A vizsgált két agyterület koordinátái Paxinos agyatlasza [23] alapján az 1. táblázatban láthatóak.

1. táblázat – A mOBF és IOBF koordinátái Paxinos agyatlasza [23] alapján (mm-ben).

	anteroposterior (AP)	mediolateralis (ML)	ventralis (V)
mOBF	B+3,8-4,4	0,8-1,2	3,0-3,5
IOBF	B+3,8-4,4	2,5-3,5	2,5-3,5

3. Multibarrel mikroelektroda



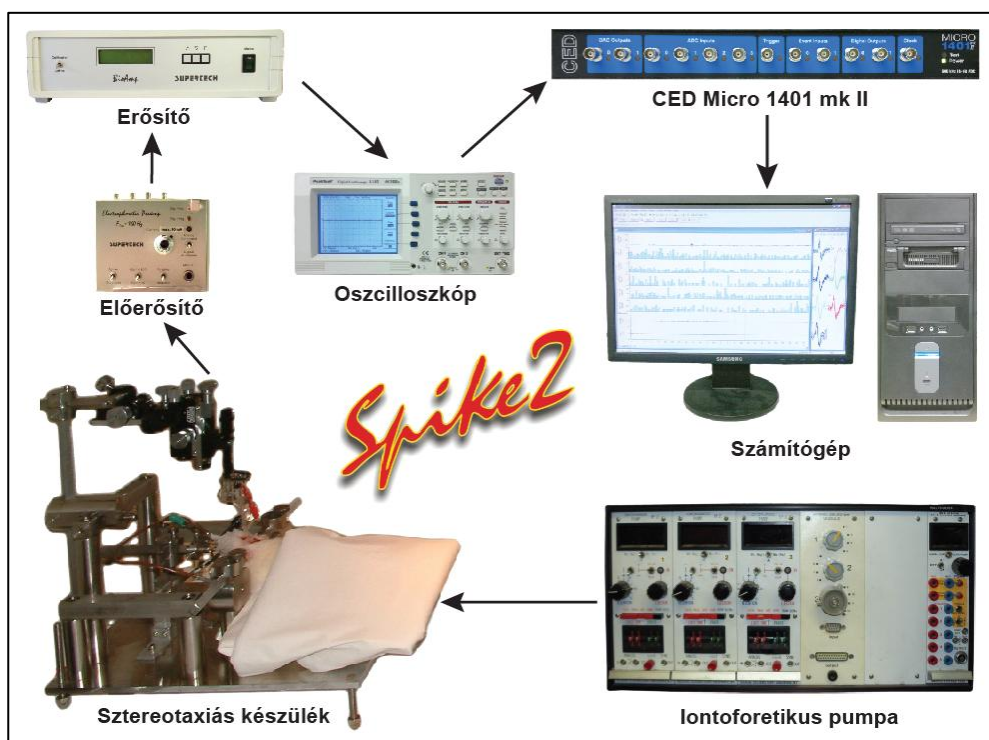
2. ábra – A multibarrel mikroelektroda felépítése.

Az extracelluláris egysejttevékenység elvezetéséhez és a neurokémiai anyagok mikroelektroforetikus beadásához munkacsoportunk által készített wolframszálas, multibarrel üveg mikroelektrodát (2. ábra) használtunk. Az elektróda egy központi csőből és az azt körülvevő 9 db., úgynevezett környéki csőből áll. Az egysejttevékenységet a wolframszálat tartalmazó központi cső segítségével tudtuk elvezetni, míg a környéki csövekbe töltöttük a mikrointoforézishez használt oldatokat. A wolframszál mindössze 10 µm átmérőjű és mintegy 10 µm hosszán nyúlik ki az üvegelektroda hegyéből. A környéki csövek nyílásának átmérője 0,1-0,3 µm közötti.

4. Jelfeldolgozás

Az elektróda központi csövében lévő wolframszálon keresztül az extracellulárisan felvett akciós potenciálok szűrést és erősítést (Supertech Kft., Magyarország) követően egy analóg/digitális konverterbe (CED Micro 1401 mk II, Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) kerülnek (3. ábra felső része), így a jeleket számítógép

segítségével rögzíthetjük és elemezhetjük. Az analóg jeleket oszcilloszkópon (PeakTech P-1145, Heinz-Günter Lau GmbH, Ahrensburg, Németország) folyamatosan követtük. A Spike2 program (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) segítségével minden egyes idegsejt aktivitásából frekvencia hisztogram készült, az on-line és off-line analízisek a programhoz írt scriptek (Szabó és munkatársai, nem publikált adatok) használatával történtek.



3. ábra – Kísérleti elrendezés.

5. Neurokémiai vizsgálatok

Neurokémiai ingerlés során mikroiontoforetikus készüléket (NeuroPhore BH-2, Medical Systems, Great Neck, New York, USA) használtunk az elektróda környéki csöveibe töltött oldatok idegsejtek környezetébe való juttatására (3. ábra jobb alsó része). Ezen készülék segítségével elektromos potenciál grádiens hozunk létre, ezáltal a töltéssel rendelkező részecskék az idegsejtek közvetlen környezetébe adhatók. Az anyagkiáramlást meghatározó legfontosabb tényezők az ekejiós áram nagysága, a diffúzió mértéke, a hidrosztatikus nyomásgrádiens és az elektrooszmózis [24].

Többek között a következő anyagok hatását vizsgáltuk a neuronokon: D-glukóz, noradrenalin (NA), dopamin (DA), acetilkolin (Ach) és GABA.

Az anyagok mikroelektroforetikus beadása 30-90 nA áramerősséggel 10-15 másodperc alatt történt. Minden neurokémiai anyag hatásának vizsgálatakor három különböző áramerősséget használtunk. Két ingerlés között a hatás lecsengése után legalább egy perces szünetet tartottunk.

Az értékelésnél azokat a változásokat tekintettük gátlásnak illetve serkentésnek, amelyek a következő kritériumoknak megfeleltek: a változás mértéke legalább 30% volt, ami azt jelenti, hogy legalább 30%-os növekedés esetén beszélünk serkentődésről, valamint az minősül gátlásnak, ha 70% alá csökken a spontán tüzelési frekvencia. Fontos azon elvárások teljesülése, hogy a hatás megismételhető és koncentrációfüggő legyen.

6. Intraorális íz-ingerlés

Az idegsejtek exogén kémiai érzékenységének vizsgálatára a patkányok szájüregébe behelyezett polietilén csövön keresztül adtuk az öt alapíznek megfelelő oldatokat két különböző koncentrációban, míg komplex ízként a narancslé hatását is vizsgáltuk (2. táblázat).

2. táblázat – Az intraorális ingerléshez használt oldatok.

Íz-oldat	Alacsony koncentráció	Magas koncentráció
Szukróz (édes)	0,1 M	0,3 M
NaCl (sós)	0,1 M	0,3 M
HCl (savanyú)	0,01 M	0,03 M
QHCl (keserű)	0,001 M	0,003 M
MSG (umami)	0,1 M	0,3 M
Narancslé	10%	25%

Az íz-oldatok beadását 1-1,5 ml mennyiségben, 3-5 másodperc alatt végeztük, amit desztillált vizes átmosás és levegő befecskendezése követett, amellyel a rendszert megtisztítottuk a benne lévő íz-oldattól. Két íz-adás között legalább egy percet vártunk (4. ábra). A patkány testét és fejét befogó készüléket előre döntött helyzetben rögzítettük, hogy a befecskendezett íz-oldat spontán kicsöpögjön a szájüregből, így elkerülve, hogy az állat az oldatot lenyelje vagy aspirálja.

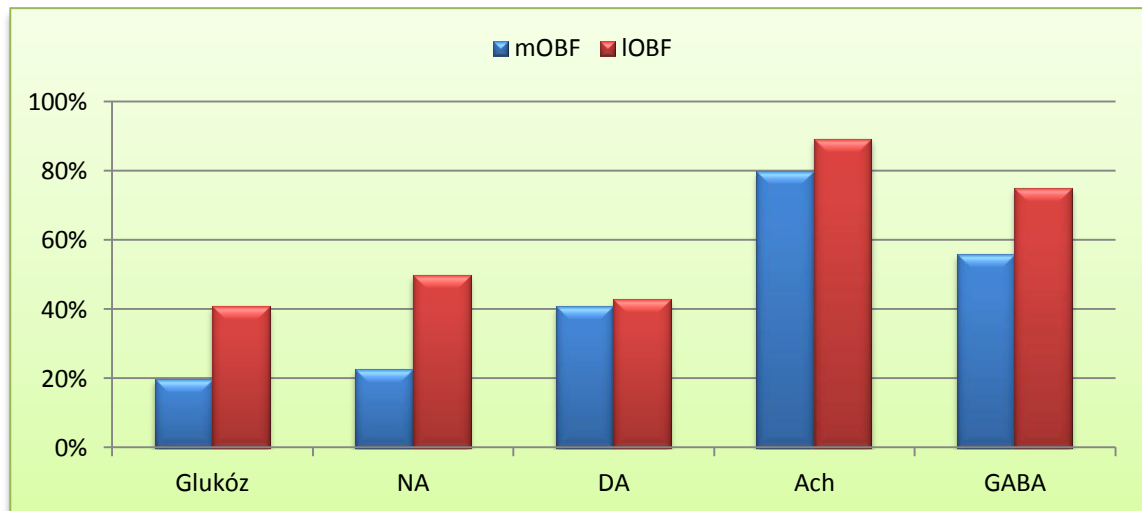


4. ábra – Az intraorális íz-ingerlési eljárás sémás rajza.

III. Eredmények

1. Neurokémiai vizsgálatok

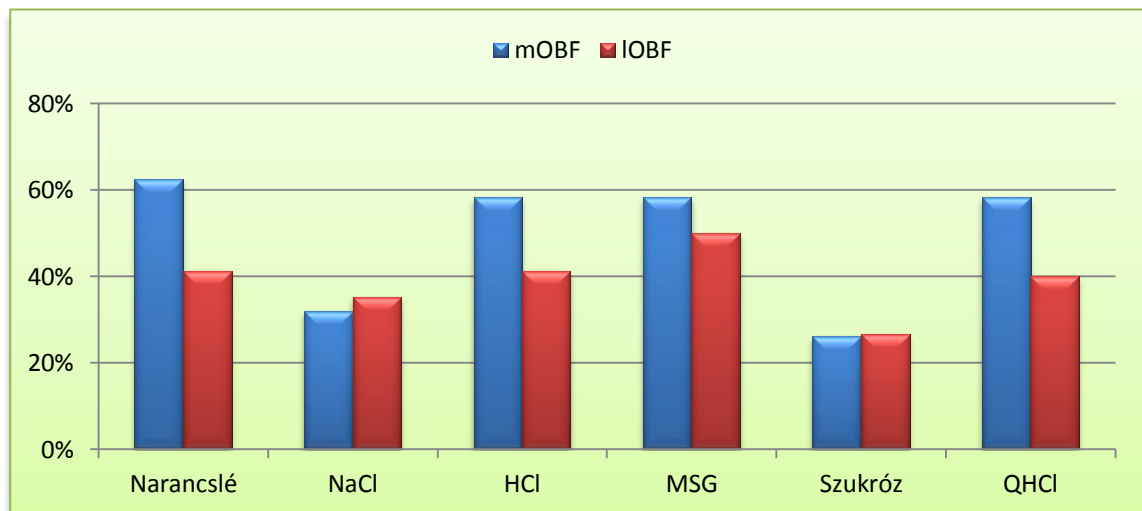
Neurokémiai ingerlés során (5. ábra) a IOBF-ben a vizsgált sejtek 40%-a bizonyult GM neuronnak, míg a mOBF-ben 20%-uk mutatott érzékenységet D-glukózra. Mindkét régióban az Ach-ra volt a legnagyobb az idegsejtek válaszkészsége: a IOBF-ben 90%, a mOBF-ben 80%. DA-ra mindkét területen a neuronok kb. 40%-a változtatta meg aktivitását. NA-ra a IOBF-ben az idegsejtek fele reagált, míg a mOBF-ben mintegy negyedük. GABA adásakor a neuronok több mint fele gátlódott, a IOBF-ben 75%, a mOBF-ben 56%.



5. ábra – OBF idegsejtek endogén kémiai stimulációra mutakozó válaszkészsége.

2. Intraorális íz-ingerlés

Intraorális íz-ingerlések hatására (6. ábra) a IOBF-ben nátrium-glutamát (umami) ízére a vizsgált sejtek 50%-a, narancslé, sósav és kinin alkalmazásakor mintegy 40%-a bizonyult érzékenynek, míg a mOBF-ben ez az arány ugyanezen ízek esetében 60% volt. Mindkét régióban a sós ízre a neuronok harmada, az édesre negyede reagált.



6. ábra – OBF idegsejtek intraorális íz-ingerlésre adott válaszkészsége.

IV. Összefoglalás

Mikroelektrofiziológiai laboratóriumunk, amelyben az orbitofrontalis kérgi vizsgálatok folynak, az elmúlt években számos technikai fejlesztésen esett át. A kísérletek egyszerűbb, gyorsabb és pontosabb végrehajtásához a laboratórium modernizálása szükségsszerűvé vált, ezért néhány régi készüléket újabbakra cseréltünk, több új készüléket terveztünk és építettünk, amelyek számítógépről való irányításához a programokat is magunk írtuk (Szabó és munkatársai, nem publikált adatok). A kísérletek közbeni *online* analízishez, illetve a kísérletek utáni *offline* elemzéshez szintén számos új programot készítettünk

(Szabó és munkatársai, nem publikált adatok), hogy ezáltal hatékonyabban és nagyobb pontossággal megbízhatóbb eredményekhez jussunk. Ezen fejlesztéseknek köszönhetően laboratóriumunk a nemzetközi követelményeknek is megfelelően tökéletesen alkalmas az eddigiekben említett, nagy fontosságú kutatások céljára.

Az eredmények összefoglalásakor figyelmet érdemel, hogy a mOBF idegsejtjei minden neurokémiai ingerre a IOBF-beliekkel azonos vagy azokénál kisebb arányban válaszoltak, míg az intraorális íz-ingerekre bekövetkező aktivitásváltozások aránya éppen fordított volt a két orbitofrontalis kéregterületen, azaz, a mOBF-ben nagyobb számban regisztráltunk íz-érzékeny neuronokat. Ezen adatok alapján feltételezhető, hogy az OBF mindkét vizsgált régiója alapvető jelentőségű a táplálkozás központi szabályozásának adaptív mechanizmusában. E folyamatokban az itt található GM neuronok kulcsszerepet játszhathatnak az endogén és exogén környezetből származó kémiai és egyéb információk integrációjával.

V. Irodalomjegyzék

1. Adachi, A. and M. Kobashi, *Convergence of hepatic gluco- and osmosensitive inputs on chemosensitive units in the medulla oblongata of rat*. In: Oomura, Y. (Ed.), *Emotions: neural and chemical control*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1986: p. 103-113.
2. Adachi, A., et al., *Chemosensitive neurons in the area postrema of the rat and their possible functions*. *Brain Res Bull*, 1991. **26**(1): p. 137-40.
3. Brodmann, K., *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde: in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. 1909, Leipzig: Barth.
4. Eichenbaum, H., K.J. Shedlack, and K.W. Eckmann, *Thalamocortical mechanisms in odor-guided behavior. I. Effects of lesions of the mediodorsal thalamic nucleus and frontal cortex on olfactory discrimination in the rat*. *Brain Behav Evol*, 1980. **17**(4): p. 255-75.
5. Freedman, M. and M. Oscar-Berman, *Bilateral frontal lobe disease and selective delayed response deficits in humans*. *Behav Neurosci*, 1986. **100**(3): p. 337-42.
6. Karadi, Z., et al., *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*, Asahi University Press, Gifu, 1988: p. 121-124.
7. Karadi, Z., et al., *Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys*. *J Neurophysiol*, 1992. **67**(2): p. 389-400.
8. Karadi, Z., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes*. *Brain Res Bull*, 1995. **37**(2): p. 157-62.
9. Karadi, Z., et al., *Functional heterogeneity of orbitofrontal neurons in the rat and rhesus monkey*. *Neurobiology*, 1997. **5**(1): p. 159.
10. Karadi, Z., et al., *Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey*. *Ann N Y Acad Sci*, 1998. **855**: p. 488-92.
11. Karadi, Z., et al., *Integrative processing of endogenous and exogenous chemical signals by glucose-monitoring neurons of the primate orbitofrontal cortex*. *Appetite*, 1998. **31**(2): p. 263.
12. Karadi, Z., et al., *The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism*. *International Congress Series*, 2004. **1269**(0): p. 30-33.

13. Kolb, B., *Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review*. Brain Res, 1984. **320**(1): p. 65-98.
14. Kolb, B., *Animal models for human PFC-related disorders*. Prog Brain Res, 1990. **85**: p. 501-19.
15. Lenard, L., et al., *Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics*. Brain Res Bull, 1995. **37**(2): p. 149-55.
16. Mizuno, Y. and Y. Oomura, *Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study*. Brain Res, 1984. **307**(1-2): p. 109-16.
17. Nagy, B., et al., *Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex*. Brain Res, 2012. **1444**: p. 38-44.
18. Nakano, Y., et al., *Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala*. Brain Res, 1986. **399**(1): p. 167-72.
19. Nakano, Y., et al., *Functional involvement of catecholamines in reward-related neuronal activity of the monkey amygdala*. J Neurophysiol, 1987. **57**(1): p. 72-91.
20. Nonneman, A.J. and B.E. Kolb, *Lesions of hippocampus or prefrontal cortex alter species-typical behaviors in the cat*. Behav Biol, 1974. **12**(1): p. 41-54.
21. Oomura, Y., et al., *Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus*. Nature, 1969. **222**(5190): p. 282-4.
22. Papp, S., et al., *Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens*. Neuroreport, 2007. **18**(15): p. 1561-5.
23. Paxinos, G.W.C., *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Inc., 1997.
24. Purves, R.D., *Microelectrode methods for intracellular recording and iontophoresis*. London: Academic Press, 1981.
25. Tanabe, T., et al., *An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey*. J Neurophysiol, 1975. **38**(5): p. 1269-83.

Dr. Szabó István, doktorandusz hallgató
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet
Dr. Nagy Bernadett, Csetényi Bettina, Hormay Edina, Bajnok Góré Márk,
Prof. Dr. Karádi Zoltán
Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet
7624 Pécs, Szigeti út 12.
E-mail: istvan.szabo2@aok.pte.hu
Web: <http://physiology.aok.pte.hu/istvan.szabo>

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

Szabó István dr.^{1,2} ■ Hormay Edina^{1,2} ■ Csetényi Bettina^{1,2}
Nagy Bernadett dr.¹ ■ Karádi Zoltán dr.^{1,2,3}

Pécsi Tudományegyetem, ¹Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, ²Idegtudományi Centrum,
³Szentágotthai János Kutatóközpont, Molekuláris Neuroendokrinológiai Kutatócsoport, Pécs

Bevezetés: A medialis orbitofrontalis kéreg fontos szerepet játszik a táplálkozás és az anyagcsere szabályozásában. Az itt található glükózmonitorozó idegsejtek e folyamatokbeli érintettsége, jellemző működési sajátosságai azonban még kevésbé ismertek. **Célkitűzés:** Kísérletsorozatunkban e kemoszensoros idegsejtek funkcionális jelentőségét kívántuk megvilágítani. **Módszer:** A multibarrel mikroelektroforetikus technika segítségével elektrofiziológiai kísérleteket folytattunk, valamint a glükózmonitorozó neuronok sztreptozotocinnal való szelektív elpusztítása után anyagcserevizsgálatokat végeztünk. **Eredmények:** A vizsgált sejtek mintegy 15%-a bizonyult az előagyi glükózmonitorozó ideghálózat elemének. E glükózmonitorozó és a glükózra válaszkészséget nem mutató, úgynevezett glükózinzsensitív idegsejtek eltérő neurotranszmitter- és ízérvékenységet mutattak. Akut glükóztolerancia-tesztben, a sztreptozotocinnal kezelt patkányok 30 és 60 perces vércukorértékei a kontrollállatokénál szignifikánsan magasabbak voltak. A sztreptozotocinkezelt csoportban a plazmatriglicerid-koncentráció a kontrollokban mérténél szintén nagyobbak bizonyult. **Következtetések:** Eredményeink azt igazolják, hogy a medialis orbitofrontalis kérgi glükózmonitorozó idegsejtek a belső és a külső környezet ingereinek integrációjával, az anyagcsere-folyamatok monitorozásával nélkülözhetetlenek az egészséges homeosztázis fenntartásában. *Orv Hetil.* 2017; 158(18): 692–700.

Kulcsszavak: praefrontalis kéreg, glükóztolerancia-teszt, trigliceridek

Glucose-monitoring neurons of the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex are involved in the maintenance of homeostasis

Introduction: The medial orbitofrontal cortex is involved in the regulation of feeding and metabolism. Little is known, however, about the role of local glucose-monitoring neurons in these processes, and our knowledge is also poor about characteristics of these cells. **Aim:** The functional significance of these chemosensory neurons was to be elucidated. **Method:** Electrophysiology, by the multibarreled microelectrophoretic technique, and metabolic investigations, after streptozotocin induced selective destruction of the chemosensory neurons, were employed. **Results:** Fifteen percent of the neurons responded to glucose, and these chemosensory cells displayed differential neurotransmitter and taste sensitivities. In acute glucose tolerance test, at the 30th and 60th minutes, blood glucose level in the streptozotocin-treated rats was significantly higher than that in the controls. The plasma triglyceride concentrations were also higher in the streptozotocin-treated group. **Conclusions:** Glucose-monitoring neurons of the medial orbitofrontal cortex integrate internal and external environmental signals, and monitor metabolic processes, thus, are indispensable to maintain the healthy homeostasis.

Keywords: prefrontal cortex, glucose tolerance test, triglycerides

Szabó I, Hormay E, Csetényi B, Nagy B, Karádi Z [Glucose-monitoring neurons of the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex are involved in the maintenance of homeostasis]. *Orv Hetil.* 2017; 158(18): 692–700.

(Beérkezett 2017. március 20.; elfogadva: 2017. április 6.)

Rövidítések

Ach = acetil-kolin; AP = anteroposterior; DA = dopamin; GABA = gamma-aminovajsav; GIS = glükózinszenzitív; GM = glükózmonitorozó; GR = glükózreceptor; GS = glükózszenzitív; GTT = glükóztolerancia-teszt; mdPFC = mediodorsalis praefrontalis kéreg; ML = mediolateralis; mOFC = medialis ventrolateralis praefrontalis (orbitofrontalis) kéreg; NA = noradrenalin; OFC = orbitofrontalis kéreg; STZ = sztreptozotocin; V = ventralis; VMH = ventromedialis hypothalamusmag

A homeosztázis, vagyis a szervezetnek a környezethez, a változó élettéri viszonyokhoz, a különféle biológiai kihívásokhoz való alkalmazkodása során fenntartott dinamikus egyensúlyi állapot mindenkori biztosítása alapvető fontosságú az egészséges életvitel szempontjából. A megfelelő táplálék- és folyadékfelvétel, a testhőmérséklet szabályozása, és ugyanakkor például a különböző plazmametabolitok szintjének egészséges tartományban tartása is döntő jelentőségűek ennek az állandó belső egyensúlyi állapotnak a megőrzésében. A táplálkozási és anyagcsere-megbetegedések – mint az elhízás, a metabolikus szindróma, a diabetes mellitus, az anorexia és a bulimia nervosa – mind-mind a homeosztázis zavarával járó kórképek, amelyek világszerte robbanásszerűen növekvő számban fordulnak elő és a modern társadalmak egészségügyi ellátására egyre nagyobb terhet rónak. Ezért nem meglepő, hogy mára a neurofiziológiai kutatások egyik legfontosabb területe a táplálkozás és az anyagcsere központi szabályozásának vizsgálata, mivel nemcsak az ezen betegségek hátterében álló patofiziológiai elváltozások, hanem még az egészséges szervezet központi regulációs mechanizmusai sem ismertek jelenleg kellő mértékben. E tekintetben kiemelt jelentőségű a limbicus előagyban a frontális lebeny egyik központi struktúrájára, a ventrolateralis praefrontalis (orbitofrontalis) kéregre (OFC) vonatkozó új információk nyerése.

A homloklebenyben a praefrontalis kéreg a motoros és premotoros kérgi areáktól rostralisán elhelyezkedő kéregterület, amely az előbbieken említett neurofiziológiai kísérletek leggyakoribb alanyaiban, a rágszálókban két fő régióra osztható: egy mediodorsalis és egy ventrolateralis területre. Ma már általánosan elfogadottan ez utóbbi agyi struktúrát feleltetjük meg az eredendően a főemlősökben leírt, jól körülhatárolt orbitofrontalis kéregnek [1].

Ez az agyi régió a limbicus rendszer szerves részeként igen sokféle funkció szervezésében nélkülözhetetlennek tűnik: meghatározza a különféle magatartási mintázatok motivációs, emocionális töltetének az érvényesülését [2], részt vesz a szociális, bizonyos szexuális és különféle adaptációs viselkedések kialakításában [3], spontán és komplex viselkedésmintázatok létrejöttében [4], valamint időlegesen tárolja a magatartási eseményekkel összefüggő szenzoros információkat, illetve időbeli késéssel, adekvát válaszmintákkal kapcsolja össze ezeket [5]. Régóta ismert, hogy fontos szerepet játszik a különböző szagok egymástól való elkülönítésében [6, 7], valamint

az is, hogy az OFC, alapvető regulációs entitásként, mélyen érintett a testtömeg, a táplálék- és folyadékfelvétel, továbbá a metabolikus kontroll fenntartásában [8].

Egyes, a központi idegrendszerben található idegsejtek a glükózt nemcsak metabolizmusuk során használják fel, hanem D-glükóz hatására extracelluláris környezetük, membrántulajdonságaik átalakulása nyomán neuronális válaszkészségük alapvetően szintén megváltozik. Ezeknek a glükózmonitorozó (GM) idegsejteknek az első leírása és részletes vizsgálatának fókuszba állítása *Oomura és mtsai* nevéhez fűződik [9, 10]. A GM-neuronok funkcionális szempontból két csoportra oszthatók: glükózszenzitív (GS) idegsejtek, amelyek a glükóz hatására gátlódnak, és glükózreceptor (GR)-neuronok, amelyek a glükóz extracelluláris szintjének emelkedésére serkentődnek, azaz tüzelési frekvenciájukat növelik. Glükózinszenzitív (GIS) neuronoknak nevezzük azokat az idegsejteket, amelyek glükóz hatására aktivitásváltozást, válaszkészséget nem mutatnak.

GM-sejteket számos agyterületen kimutattak már: a lateralis hypothalamus areában [9, 11–16], a ventromedialis hypothalamusmagban (VMH) [11, 13, 14, 16, 17], a nucleus tractus solitariiban [18–20], az area postremában [21, 22], az amygdalában [23–26], a globus pallidusban [27, 28], a nucleus accumbensben [29], valamint a praefrontalis kéregben [13, 30, 31], és kutatócsoportunk korábban már elkezdte ezen sejtek tanulmányozását az OFC-ben is [16, 32, 33].

Az 1950-es évek végén antibiotikus hatású anyagként izolálták a sztreptozotocint (STZ) a *Streptomyces achromogenes* baktériumtörzsből, de igen súlyos mellékhatásai miatt ma már egyedüli indikációként csak a β -sejtekből kiinduló metasztatikus tumorok terápiájában használatos [34]. Az STZ egy D-glükózhoz hasonló szerkezetű molekula, amely szelektíven képes elpusztítani a pancreas β -sejtjeit, ezért széles körben használják az 1-es típusú diabetes mellitus állatkísérletes modelljeként [35–38]. A STZ a GLUT2-transzporterrel keresztül jut be a sejtekbe, ahol szabad gyökök képzésén keresztül oxidatívstressz-folyamatokat, majd necrosist okoz [36, 38–40]. A GM-idegsejtek biokémiai gépezete a β -sejtekéhez sok tekintetben hasonló, ennek megfelelően a STZ-t képesek felvenni, így annak intracerebrális adásakor a glükózmonitorozó neuronok specifikusan károsodnak, és ezen neuronok aktivitásának végleges megszűnése következtében súlyos, sok tekintetben a 2-es típusú diabetes mellitushoz hasonló táplálkozási és anyagcserezavarok alakulnak ki [16, 41, 42].

Az OFC morfológiailag és funkcionálisan két részre tagolható: lateralis és medialis orbitofrontalis (mOFC) kéregre [43]. Vizsgálatainkban a neurofiziológiai kutatásban *Oomura és mtsai* által meghonosított multibarrel mikroelektroforetikus technika, továbbá a mOFC-be irányuló egyszeri kétoldali STZ-mikroinjekció segítségével, azaz a lokális GM-neuronok szelektív elpusztításával, ennek nyomán hiányuk hatásának feltárásával, ezen limbicus előagy terület glükózmonitorozó ideg-

sejtjeinek a működési sajátosságait, illetve a nyert adatok révén funkcionális jelentőségüket kívánjuk megvilágítani.

Módszer

Jelen kutatásaink célja a medialis ventrolateralis prae-frontalis (orbitofrontalis) kérgi glükózmonitorozó neuronok endogén és exogén kémiai érzékenységének vizsgálata, valamint a metabolikus szabályozásban betöltött szerepük tanulmányozása volt. E kísérletekben hím patkányokban a mOFC-be irányított mikroelektrodával extracelluláris egysejt-tevékenységet vezettünk el mikroelektroforetikus anyagbeadások és intraoralis ízingerlések során, valamint a GM-neuronok sztreptozotocinnal való elpusztítása után glükóztolerancia-tesztet (GTT) végeztünk és megmértük több fontos metabolit plazmaszintjét. Vizsgálati módszereink részletes leírása tekintetében korábbi közleményeinkre utalunk [31, 44].

Alanyok

Kísérleteink során 45 felnőtt hím Wistar és Sprague-Dawley patkányt használtunk. A kísérleti állatok testtömege a vizsgálatok kezdetekor 250–350 g volt. A patkányszobában állandó hőmérsékletet (21 ± 2 °C) és páratartalmat (55–60%) biztosítottunk. Az állatokat 12/12 órás világos/sötét ciklusban tartottuk.

Műtét

Az elektrofiziológiai vizsgálatok során a patkányok altatásához intraperitonealis injekcióval beadott uretánt (0,6 ml/100 ttg, 25% friss oldat, Sigma) alkalmaztunk. Az állatok fejét stereotaxiás készülékben rögzítettük. A fejbőr felvágása és a koponyacsont letisztítása után a koponyatetőn fogászati fúróval 4–5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk, majd a dura bemetszése után a mikroelektrodát mikromanipulátorral (MN-33, Narishige, Japán) pozicionáltuk, ezt követően hidraulikus mikrotovábbító rendszer (Narishige MO-10, Japán) segítségével vezettük le a célterületre. A vizsgált régió koordinátái *Paxinos* agyatlasza [45] alapján a következők voltak: anteroposterior (AP) Bregma+3,8–4,4, mediolateralis (ML) 0,8–1,2, ventralis (V) 3,0–3,5 mm.

A metabolikus vizsgálatokban intraperitonealisan adott ketamin (Calypsol, 50 mg/ml; Richter Gedeon Nyrt., Magyarország; 0,3 ml/100 ttg) injekcióval végeztük az altatást. Az operáció a továbbiakban a mikroelektrofiziológiai kísérletekhez részben hasonló módon zajlott. Az állatok fejét stereotaxiás készülékben rögzítettük, ezután a fejbőrön hosszanti metszést ejtettünk. Miután megtisztítottuk a koponyafelszínt, fogászati fúró segítségével körülbelül 4–5 mm átmérőjű lyukat fúrtunk a Bregma elé. A vezetőkanült *Paxinos* agyatlasza [45] alapján mikromanipulátorral (MN-33, Narishige, Japán)

pozicionáltuk (AP: B+4,2 mm). A rozsdamentes acélcsőből általunk készített vezetőkanült (ML: 0,9 mm) a dura felszínére helyeztük, majd fogászati akrillal a koponyához rögzítettük. A műtét végén antiszeptikus hintőport (Tetran, Richter Gedeon Nyrt., Magyarország) alkalmaztunk és kapcsokkal zártuk a sebet.

Elektrofiziológiai vizsgálatok

Az extracelluláris egysejt-tevékenység elvezetéséhez és a neurokémiai anyagok mikroelektroforetikus beadásához kutatócsoportunk által készített volfrámszálas, multibarrel üveg mikroelektrodát használtunk. Az egysejt-tevékenységet a központi csőben lévő volfrámszál segítségével regisztráltuk, az azt körülvevő kilenc darab környéki kapilláriscsőbe töltöttük a mikroiontoforézissel beadandó oldatokat. Rendszerünkben az extracellulárisan felvett akciós potenciálok szűrést és erősítést (Supertech Kft., Magyarország) követően egy analóg/digitális konverterbe (CED Micro 1401 mk II, Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) vezetődtek, majd a Spike2 v6.16 szoftvercsomag (Cambridge Electronic Design, Cambridge, Egyesült Királyság) segítségével történt a jelek rögzítése és elemzése.

Neurokémiai ingerlés során az elektróda környéki csőibe különféle neuromodulátorokat, neurotranszmittereket töltöttünk, többek között D-glükózt, noradrenalin (NA), dopamint (DA), acetyl-kolin (ACh) és GABA-t. Ezen oldatok idegsejtek környezetébe való juttatására mikroiontoforézis készüléket (NeuroPhore BH-2, Medical Systems, Great Neck, New York, Amerikai Egyesült Államok) használtunk. Minden neurokémiai anyag hatását három különböző nagyságú, úgynevezett ejekciós áramerősséggel teszteltük.

Egysejt-tevékenység elvezetése közben megvizsgáltuk az idegsejtek ízválaszkésztségét is. Ehhez a patkányok szájüregébe perforált végű polietilén csövet helyeztünk, amelyen keresztül az öt alapíznek megfelelő oldatokat fecskendeztük be két különböző koncentrációban 1–1,5 ml mennyiségben (1. táblázat). Komplex ízként megvizsgáltuk a narancslé hatását is. Az ízingerlést minden egyes ízoldat adása után desztillált vizes átmosás és levegő befecskendezése követte.

1. táblázat | Az intraoralis ízingerléshez használt oldatok

Ízingerlés	Ízminőség	Alacsony koncentráció	Magas koncentráció
Szukróz	Édes	0,1 M	0,3 M
NaCl	Sós	0,1 M	0,3 M
HCl	Savanyú	0,01 M	0,03 M
QHCl	Keserű	0,001 M	0,003 M
MSG	Umami	0,1 M	0,3 M
Narancslé	Komplex íz	10%	25%

Metabolikus vizsgálatok

Éber állatokban az előzetesen a koponyájukra rögzített vezetőkánülön keresztül bilaterális mikroinjekcióval oldalként 7,5 µg STZ-t (Sigma S-0130, 10 µg/µl fiziológiás sóoldatban oldva) tartalmazó oldatot vagy 0,75 µl fiziológiás sóoldatot juttattunk be a mOFC területére. A beadókánülök polietilén csövön keresztül 25 µl-es Hamilton mikrofecskendőhöz csatlakoztak, az anyagbeadás mikroinfúziós pumpa segítségével történt (Cole-Parmer EW-74900 Multichannel Syringe Pumps, Cole-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Illinois, Amerikai Egyesült Államok) 0,75 µl/perc sebességgel, amit további egyperces várakozás követett annak érdekében, hogy teljes legyen az oldat diffúziója a célterületen és megakadályozzuk az oldat visszaáramlását a kánülök eltávolításakor.

A szénhidrát-anyagcsere állapotát visszatükröző glükóztolerancia-teszt elvégzésére a kísérleti állatok 12 órás éheztetését követően került sor. A cukorterhelést intraperitonealisan adott 20%-os D-glükóz-oldattal (0,2 g/100 ttg/ml) végeztük két alkalommal, először az agyi mikroinjekció után 20 perccel (akut GTT), majd négy héttel később (szubakut GTT). A vérmintát az elemzéshez a patkány farokvénájából nyertük először cukorterhelés előtt, majd 9, 18, 30, 60 és 120 perccel a terhelés után. A méréseket kézi glükómméterrel (Dcont IDEÁL, 77 Elektronika Kft., Magyarország) végeztük.

Az összkoleszterin, a trigliceridek és a húgysav plazmaszintjének meghatározására ugyancsak 12 órás táplálékmegevonást követően került sor. Az agyi mikroinjekció után 30 perccel farokvénából vérmintát nyertünk, amiből hidegkémiai fotométer (Spotchem EZ SP4430, Arkay, Japán) segítségével határoztuk meg a plazmamegkötési szinteket.

Szöveti feldolgozás

Vizsgálataink végeztével a kísérleti célterület pozíciójának megállapításához a kísérleti állatokat uretánnal (20%, 8 ml/ttkg) való túlaltatás után transcardialisan perfundáltuk, előbb fiziológiás sóoldattal, majd 4%-os formalinnal. A mintát 4%-os formalinban fixáltuk, az ebből készített 50 µm-es metszeteket 0,5%-os krezil-violával festettük meg.

Statisztikai elemzés

Az elektrofiziológiai kísérleteink során az online és offline analízisek saját, a Spike2 v6.16 szoftverhez írt scriptek használatával történtek. Az értékeléskor azokat a változásokat tekintettük gátlásnak, illetve serkentésnek, amely esetekben a vizsgált idegsejtek tüzelési frekvenciája legalább ± 30%-kal (vagy ± 2 SD-vel) változott a spontán tüzelési frekvenciához képest, továbbá akkor, ha a válaszreakció intenzitásfüggőnek és ismételtetőnek bizonyult. A csoporthatások statisztikai értékelésére

χ^2 -próbát alkalmaztunk az IBM SPSS Statistics 22 programcsomag használatával.

Metabolikus kísérleteink eredményeit Student-féle t-próbával a fentebb említett programcsomag segítségével elemeztük.

A különbségeket $p < 0,05$ esetén értékeltük szignifikánsnak.

Kísérleti engedély

A kísérleti állatok tartása és a velük való foglalkozás során, a megfelelő engedélyk (BA02/2000; BA0104L 12; ZOHU0104L 08; BA02/2000-8/2012) birtokában a helyi, egyetemi rendelkezéseken túl, betartottuk a hazai (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről; 40/2013 Kormányrendelet, 2013. II.) és a nemzetközi előírásokat, európai uniós irányelveket (NIH Guidelines, 1997; 86/609/EEC Európa Tanács-előírás, 1986, 2006; 2010/63/EU Európa Parlament-előírás).

Eredmények

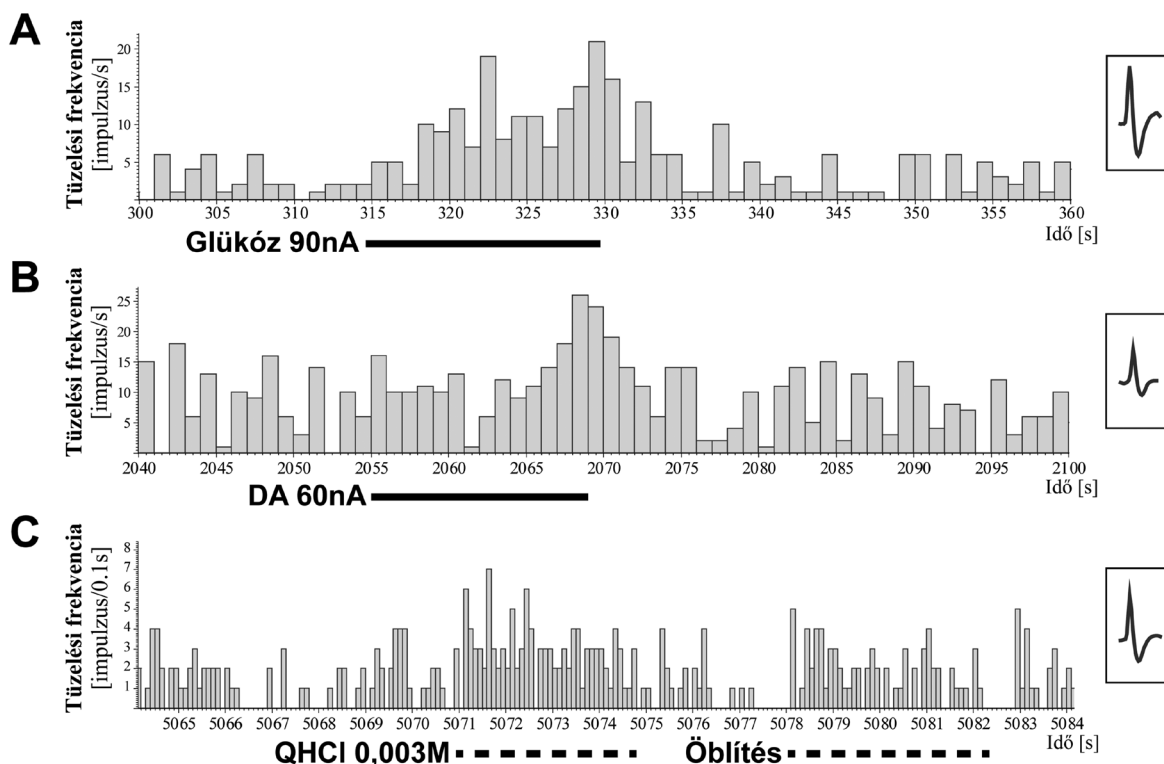
Elektrofiziológiai vizsgálatok

Az elektrofiziológiai vizsgálatok során öt felnőtt hím Sprague-Dawley patkányban 33 idegsejt aktivitását vizsgáltuk.

Neurokémiai ingerlés során a vizsgált sejtek közül öt (15%) változtatta meg tüzelési frekvenciáját D-glükóz iontoforetikus beadása során, vagyis ezek a sejtek az elő-agyi glükózmonitorozó hálózat medialis orbitofrontális kérgi elemeinek bizonyultak (1. *Ábra*). NA-ra a neuronok közel negyede (23%) változtatta meg aktivitását, míg DA-ra közel egyharmaduk (30%) válaszolt (1. *B ábra*). A mOFC-ben az Ach-ra volt a legnagyobb a sejtek válaszkészsége (61%). GABA adásakor a neuronok több mint egyharmada gátlódott (42%) (2. *táblázat*).

A GM-idegsejtekről sajátos, a glükózinszenzitív neuronoktól jellemzően eltérő endogén kémiai válaszkészségük bizonyosodott be. A DA-érzékeny sejtek egyike sem volt GM, ugyanakkor a DA-ra nem érzékeny negyede aktivitásváltozást mutatott D-glükózra. A NA esetében nem volt ilyen különbség a GM- és a GIS-sejtek érzékenysége között. Az Ach-ra nem válaszolók mindegyike GIS-neuron volt, míg az Ach-szenzitív sejtek negyede glükózmonitorozó idegsejtnek bizonyult ($p < 0,05$). A GABA-ra gátlódott neuronok között közel kétszer akkora arányban voltak a GM-ók, mint a GABA-inszenzitívek között (3. *táblázat*).

Az öt alapízzel és a komplex ízingerként szolgáló narancslével történő gusztatoros ingerlés során a legnagyobb válaszkészséget (körülbelül 60%) a savanyú, a keserű (1. *C ábra*), illetve az umami ízinger, valamint a narancslé esetében tapasztaltuk. A sejtek harmada változtatta meg tüzelési frekvenciáját a sós, míg negyedük



1. ábra Három medialis orbitofrontalis kérgi neuron endogén és exogén kémiai érzékenysége patkányban. **A** Glükózreceptor-neuron. **B** Mikroelektroforetikusan adott dopamin (DA) által kiváltott serkentődés. **C** Intraoralisan befecskendezett kinin-hidroklorid (keserű ízoldat) által kiváltott neuronális serkentődés. Beágyazott képek: az adott sejtre jellemző akciós potenciál (AP)

Vastag vízszintes vonalak: a mikroelektroforetikus beadás időtartama, a számok az ejekciós áram intenzitását jelzik (nA). Vastag szaggatott vonalak: intraoralis ízfingelés időtartama. QHCl: kinin-hidroklorid. Vízszintes tengely: idő másodpercben; függőleges tengely: tüzelési frekvencia AP/mp (A és B ábra) vagy AP/100 milliszekundum mértékegységben (C ábra)

2. táblázat Mikroelektroforetikusan adott D-glükóz, dopamin (DA), noradrenalin (NA), acetil-kolin (Ach) és gamma-aminovajsav (GABA) hatásai patkány medialis orbitofrontalis kérgi neuronokban

	+/-	Ø
Glükóz	5	28
DA	9	24
NA	5	17
Ach	20	13
GABA	14	19

+/- = serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø = válasz-készséget nem mutató idegsejtek száma

3. táblázat Glükózmonitorozó (GM) és glükózinszenzitív (GIS) neuronok dopamin- (DA), noradrenalin- (NA), acetil-kolin- (Ach) és gamma-aminovajsav- (GABA) érzékenysége patkány medialis orbitofrontalis kérgi neuronokban

	DA		NA		Ach		GABA	
	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø	+/-	Ø
GM	0	5	1	4	5*	0	3	2
GIS	9	16	4	13	14	13	11	16

+/- = serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; *p<0,05; Ø = válasz-készséget nem mutató idegsejtek száma

az édes íz intraoralis befecskendezésének hatására (4. táblázat).

Mivel az ízfingelés 95%-ban (23 sejtől 22 esetében) hatásosnak bizonyult, ízfingésüket tekintve a GM- és a GIS-sejtek között nem találtunk szignifikáns különbséget. A tüzelési frekvenciájukat legalább egy ízingerre megváltoztató ízfingéses neuronok több mint 10%-a glükózmonitorozó unit volt.

4. táblázat Intraoralisan adott ízoldatok hatása patkány medialis orbitofrontalis kérgi neuronokban

	+/-	Ø
NaCl	7	15
HCl	14	10
MSG	14	10
Szukróz	6	17
QHCl	14	10
OJ	15	9

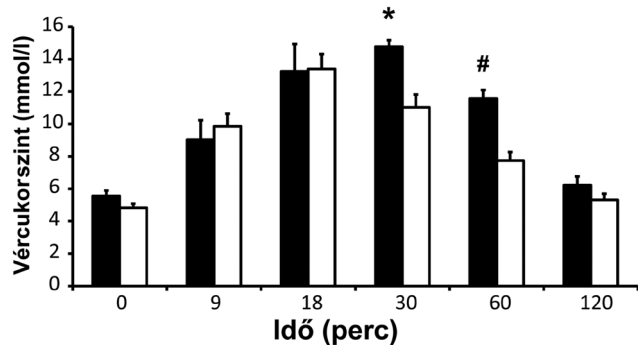
NaCl = sós; HCl = savanyú; MSG = umami (nátrium-glutamát); szukróz = édes; QHCl = keserű (kinin-hidroklorid); OJ = komplex ízoldat (narancslé); +/- = serkentődő vagy gátlódó idegsejtek száma; Ø = válasz-készséget nem mutató idegsejtek száma

Glükóztolerancia-teszt

Akut és szubakut glükóztolerancia-tesztben 12 felnőtt hím Wistar patkányt vizsgáltunk sztreptozotocin (STZ-csoport, $n = 6$) vagy fiziológiás sóoldat (kontrollcsoport, $n = 6$) mOFC-beli agyi mikroinjekciója után.

Akut GTT során (20 perccel a kezelés után) a 9. és 18. percben nem mutatkozott különbség a két csoport értékei között, azonban az ezt követő időszakban a sztreptozotocinnal kezelt állatok vércukor-paraméterei változásának dinamikája eltérő, lassabban emelkedő volt, s a kontrollcsoportéhoz viszonyítva a további két mérési időpontban ezeknél jóval nagyobb értékeket kaptunk (30': $p < 0,01$; 60': $p < 0,005$). A 120. percben – bár a STZ mikroinjekciós patkányok vércukorszintje ekkor is a kontrollokénál magasabb volt – a statisztikai elemzés nem igazolt szignifikáns eltérést a két csoport között (2. ábra).

A mikroinjekciós kezeléseket követő negyedik héten végzett szubakut GTT a két csoport között nem mutatott szignifikáns különbséget.



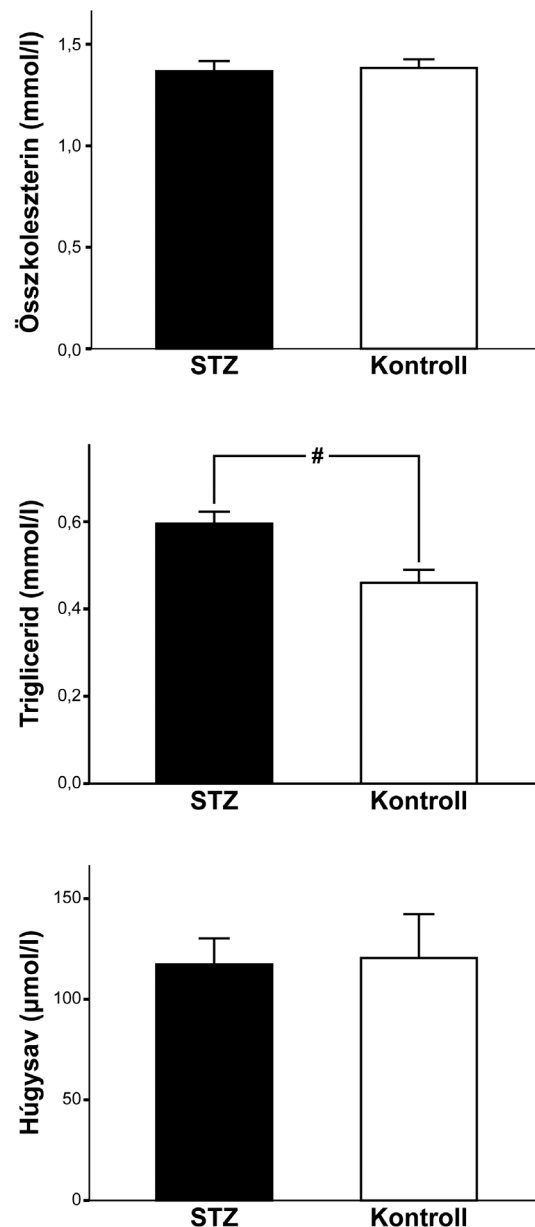
2. ábra Vércukorértékek akut glükóztolerancia-tesztben patkányban
Fekete oszlopok: sztreptozotocinkezelt csoport ($n = 6$); fehér oszlopok: kontrollcsoport ($n = 6$). Vízszintes tengely: idő percen; függőleges tengely: vércukorérték mmol/l-ben. Hibaszávok: SEM. * $p < 0,01$; # $p < 0,005$

Plazmametabolit-szintek

A plazmametabolit-szinteket 28 felnőtt hím Wistar patkányban vizsgáltuk. 30 perccel a mOFC-mikroinjekció követően szérumösszkoleszterin-, -triglicerid- és -húgysav-meghatározást végeztünk a STZ-kezelt ($n = 16$) és a kontrollcsoportban ($n = 12$). A vizsgált metabolitok közül a koleszterin- és a húgysav-koncentrációk érdemben nem különböztek, a trigliceridek esetében viszont szignifikáns eltérés mutatkozott: a STZ-kezelés hatására a szérumtriglicerid-szint számottevően megemelkedett ($p < 0,005$) (3. ábra).

Megbeszélés

Glükózmonitorozó neuronokat már számos agyi régióban azonosítottak patkányban és majomban is, az agytörzstől [19] a magasabb előagyi területeken át [15, 16,



3. ábra Összkoleszterin- (mmol/l), triglicerid- (mmol/l) és húgysav- ($\mu\text{mol/l}$) koncentráció változásai sztreptozotocin vagy fiziológiás sóoldat medialis orbitofrontális kéregbe való bilaterális mikroinjekciója után patkányban
STZ = sztreptozotocinkezelt csoport ($n = 16$). Kontroll: kontrollcsoport ($n = 12$). Hibaszávok: SEM. # $p < 0,005$

29, 41], a praefrontalis-orbitofrontalis kéregig [16, 31, 41, 46, 47]. Ezen idegsejteknek nemcsak az endogén neurotranszmitterekre és neuromodulátorokra adott válaszai különböznek a glükózinszenzitív sejtekeitől [29, 31, 47], hanem exogén kémiai stimulusokra, így ízingerekre is eltérő módon reagálnak [31]. Ez a differenciált, a kemoszenzoros idegsejteket a GIS-unitoktól alapvetően megkülönböztető endogén és exogén kémiai érzékenység jellemzi a ventrolaterális praefrontalis kéreg medialis régiójának GM-neuronjait is. Ezek a kemoszenzoros idegsejtek a mOFC-ben meglehetősen magas arányban

(15%) képviseltetik magukat, akkorában, hogy működésük kellő erővel érvényesítheti sajátos funkcionális szerepüket e fontos limbicus kérgi struktúra regulációs folyamataiban. Adataink, korábbi, Rhesus majmok orbitofrontalis kérgében azonosított neuronokból nyert leleteinkkel együtt [16, 41], feltétlenül alátámasztani látszanak azt a nézetünket, amely szerint e medialis ventrolateralis praefrontalis kérgi idegsejtek, a limbicus előagyai glükózmonitorozó neuronhálózat fontos elemeként, a belső és a külső környezet humorális szignáljainak egyidejű monitorozásával és integrációjával nélkülözhetetlen résztvevői a homeosztázis mindenkori egyensúlyát biztosító érzékeny szabályozófolyamatoknak.

Az egészséges szervezetben a központi idegrendszer fontos feladata az anyagcsere-folyamatok igen finom ellenőrzésének irányítása, amiben egyaránt szerep jut metabolikus (lebomló tápanyagok, zsírsavak, aminosavak, különféle metabolitok stb.), humorális-hormonális (inzulin, leptin, glükagon, GLP-1 stb.) és összetett idegi tényezőknek, amelyek között megtalálhatjuk nemcsak a perifériáról, hanem a különböző agyterületek specifikus kemoszenzoros neuronjaiból érkező sajátos információkat is [16, 48–50]. Az élettani szempontból hatásos metabolizmus, ami igen szélsőséges környezeti feltételek közepette is fenntartja a homeosztázis egyensúlyát, nagyban függ a különféle perifériás jelzések megtartott centrális érzékelésétől. Ha az e feladatot ellátó specifikus kemoszenzoros neuronok működésében bármiféle zavar lép fel, súlyos metabolikus-homeosztatikus kórállapotok alakulhatnak ki, olyanok, mint például az obesitas vagy a diabetes mellitus [16, 48].

Jelen kísérleteink bizonyítékot szolgáltatottak arra vonatkozóan, hogy a ventrolateralis praefrontalis kéreg medialis régiójában található kemoszenzoros neuronok valóban fontos szerepet játszanak a metabolizmus központi szabályozásában. A szakirodalomban elsőként kimutattuk, hogy az e területre juttatott kétoldali STZ-mikroinjekció hatására komplex metabolikus tünetegyüttes jön létre: GTT során kóros glükóztolerancia-eltérést, továbbá a metabolitmérésekben emelkedett plazmatriglicerid-koncentrációt állapítottunk meg. Ezen elváltozások együttes jelenléte megerősíti a kórállapot komplex metabolikus betegségnek megfelelő súlyos megítélését, amit az is alátámaszt, hogy magas plazmatriglicerid-szint – a többi között – jellemzően diabetes mellitusban és elhízásban fordulhat elő. Mind a szénhidrát-, mind pedig a zsírsavanyagcsere zavarai más előagy struktúrák (VMH, mdPFC) esetében is a sztreptozotocin-kezelés szokásos következményei voltak [16, 44]. Az eddigiek alapján általánosságban szintén érvényes igazságként kell leszögeznünk, hogy különböző agyterületeken a GM-idegsejtek sztreptozotocinnal való elpusztítása sajátos táplálkozási és anyagcserezavarok kialakulásához vezet [16, 41, 42, 51].

A táplálkozási és anyagcsere-betegségek egyre nagyobb, rohamosan növekvő terhet rónak a modern tár-

sadalmakra. E kórformák eredményes gyógyítása ma még teljességgel megoldatlan, s e tényt korunk orvostudományának legsúlyosabb problémái között tartjuk számon. A gyógyítás eredménytelensége, meggyőződésünk szerint, elsősorban abból ered, hogy a terápiás próbálkozások a perifériás patológiát célozzák, s figyelmen kívül hagyják a fentiekben tárgyalt központi idegrendszeri zavarokat, amelyek e betegségek hátterében ugyanakkor kóros szerepet játszhatnak. A jelen kísérleti eredményeink, korábbi adatainkkal együtt, rávilágítottak a központi GM-ideghálózat kemoszenzoros neuronjainak e kórfolyamatok létrejöttében és fenntartásában nyilvánvaló érintettségére. Számunkra egyértelműnek tűnik, hogy a glükózmonitorozó idegsejtek megtartott fiziológias működése elengedhetetlen feltétele a homeosztázis egyensúlya megőrzésének. Mindezeket figyelembe véve remélhető, hogy e kemoszenzoros neuronok sokrétű működési sajátosságainak, funkcionális jelentőségének jobb megértése új gyógyszertergetek azonosítását, hatékony, új terápiás stratégiák kidolgozását eredményezheti.

Anyagi támogatás: Ajinomoto 51064/2009; PTE AOK KA 2013/34039/1; EFOP-3.6.1-16-2016-00004.

Szerzői munkamegosztás: Sz. I.: A kísérletek megtervezése és lefolytatása, az adatok feldolgozása és statisztikai elemzése, a kézirat megírása. H. E., Cs. B., N. B.: A kísérletek lefolytatása, az eredmények megbeszélése. K. Z.: A hipotézisek kidolgozása, a kísérletek megtervezése és vezetése, a kézirat megszövegezése. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Köszönetnyilvánítás

Kiemelt köszönet illeti *Fuchs Ildikó* szakasszisztentst a kísérletek megszerzésében és kivitelezésében nyújtott értékes segítségéért, valamint *Kovácsné Korona Erzsébet* laboratóriumi asszisztentst a kísérleti állatok agyának szövettani feldolgozásáért.

Irodalom

- [1] *Brodmann, K.*: Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde: in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues. Barth Verlag, Leipzig, 1909.
- [2] *Kringelbach, M. L., Rolls, E. T.*: The functional neuroanatomy of the human orbitofrontal cortex: evidence from neuroimaging and neuropsychology. *Prog. Neurobiol.*, 2004, 72, 341–372.
- [3] *Nonneman, A. J., Kolb, B. E.*: Lesions of hippocampus or prefrontal cortex alter species-typical behaviors in the cat. *Behav. Biol.*, 1974, 12, 41–54.
- [4] *Kolb, B.*: Animal models for human PFC-related disorders. *Prog. Brain Res.*, 1990, 85, 501–519.
- [5] *Freedman, M., Oscar-Berman, M.*: Bilateral frontal lobe disease and selective delayed response deficits in humans. *Behav. Neurosci.*, 1986, 100, 337–342.
- [6] *Tanabe, T., Yarita, H., Iino, M., et al.*: An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey. *J. Neurophysiol.*, 1975, 38, 1269–1283.

- [7] *Eichenbaum, H., Shedlack, K. J., Eckmann, K. W.*: Thalamocortical mechanisms in odor-guided behavior. I. Effects of lesions of the mediodorsal thalamic nucleus and frontal cortex on olfactory discrimination in the rat. *Brain Behav. Evol.*, 1980, 17, 255–275.
- [8] *Kolb, B.*: Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res.*, 1984, 320, 65–98.
- [9] *Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., et al.*: Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature*, 1969, 222, 282–284.
- [10] *Oomura, Y., Kimura, K., Ooyama, H., et al.*: Reciprocal activities of the ventromedial and lateral hypothalamic areas of cats. *Science*, 1964, 143, 484–485.
- [11] *Oomura, Y.*: Input-output organization of the hypothalamus relating to food intake behavior. In: *Morgane, P. J., Panksepp, J.* (eds.): *Handbook of the hypothalamus*. M. Dekker, New York, 1980, 557–620.
- [12] *Aou, S., Oomura, Y., Lenard, L., et al.*: Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain Res.*, 1984, 302, 69–74.
- [13] *Oomura, Y., Yoshimatsu, H.*: Neural network of glucose monitoring system. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 1984, 10, 359–372.
- [14] *Oomura, Y.*: Chemical and neuronal control of feeding motivation. *Physiol. Behav.*, 1988, 44, 555–560.
- [15] *Karadi, Z., Faludi, B., Hernadi, I., et al.*: Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: II. Complex functional attributes. *Neurobiology (Bp.)*, 1995, 3, 241–256.
- [16] *Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., et al.*: 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.
- [17] *Minami, T., Oomura, Y., Sugimori, M.*: Electrophysiological properties and glucose responsiveness of guinea-pig ventromedial hypothalamic neurones in vitro. *J. Physiol.*, 1986, 380, 127–143.
- [18] *Adachi, A., Kobashi, M., Funahashi, M.*: Glucose-responsive neurons in the brainstem. *Obes. Res.*, 1995, 3(Suppl. 5), 735S–740S.
- [19] *Adachi, A., Shimizu, N., Oomura, Y., et al.*: Convergence of hepatportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract. *Neurosci. Lett.*, 1984, 46, 215–218.
- [20] *Mizuno, Y., Oomura, Y.*: Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study. *Brain Res.*, 1984, 307, 109–116.
- [21] *Adachi, A., Kobashi, M.*: Convergence of hepatic gluco- and osmosensitive inputs on chemosensitive units in the medulla oblongata of rat. In: *Oomura, Y.* (ed.): *Emotions: neural and chemical control*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1986, 103–113.
- [22] *Adachi, A., Kobashi, M., Miyoshi, N., et al.*: Chemosensitive neurons in the area postrema of the rat and their possible functions. *Brain Res. Bull.*, 1991, 26, 137–140.
- [23] *Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., et al.*: Lateral hypothalamic and amygdaloid neuronal responses to chemical stimuli in the rhesus monkey. In: *Morita, H.* (ed.): *Proceedings of the 22nd Japanese Symposium on Taste and Smell*. Asahi University Press, Gifu, 1988, 121–124.
- [24] *Nakano, Y., Lenard, L., Oomura, Y., et al.*: Functional involvement of catecholamines in reward-related neuronal activity of the monkey amygdala. *J. Neurophysiol.*, 1987, 57, 72–91.
- [25] *Nakano, Y., Oomura, Y., Lenard, L., et al.*: Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala. *Brain Res.*, 1986, 399, 167–172.
- [26] *Karadi, Z., Scott, T. R., Oomura, Y., et al.*: Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1998, 855, 488–492.
- [27] *Karadi, Z., Faludi, B., Lenard, L., et al.*: Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. *Brain Res. Bull.*, 1995, 37, 157–162.
- [28] *Lenard, L., Karadi, Z., Faludi, B., et al.*: Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res. Bull.*, 1995, 37, 149–155.
- [29] *Papp, S., Lukats, B., Takacs, G., et al.*: Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *Neuroreport*, 2007, 18, 1561–1565.
- [30] *Nagy, B., Takacs, G., Szabo, I., et al.*: Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.*, 2012, 234, 228–232.
- [31] *Nagy, B., Szabo, I., Papp, S., et al.*: Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res.*, 2012, 1444, 38–44.
- [32] *Karadi, Z., Varju, G., Hernadi, I., et al.*: Functional heterogeneity of orbitofrontal neurons in the rat and rhesus monkey. *Neurobiology*, 1997, 5, 159.
- [33] *Karadi, Z., Egyed, R., Hernadi, I., et al.*: Integrative processing of endogenous and exogenous chemical signals by glucose-monitoring neurons of the primate orbitofrontal cortex. *Appetite*, 1998, 31, 263.
- [34] *Murray-Lyon, I. M., Eddleston, A. L., Williams, R., et al.*: Treatment of multiple-hormone-producing malignant islet-cell tumour with streptozotocin. *Lancet*, 1968, 2, 895–898.
- [35] *Ganda, O. P., Rossini, A. A., Like, A. A.*: Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes*, 1976, 25, 595–603.
- [36] *Szkudelski, T.*: The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, 2001, 50, 537–546.
- [37] *Garvey, W. T., Huecksteadt, T. P., Birnbaum, M. J.*: Pretranslational suppression of an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science*, 1989, 245, 60–63.
- [38] *Like, A. A., Rossini, A. A.*: Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science*, 1976, 193, 415–417.
- [39] *Kadowaki, T., Kasuga, M., Akanuma, Y., et al.*: Decreased autophosphorylation of the insulin receptor-kinase in streptozotocin-diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, 1984, 259, 14208–14216.
- [40] *Rakieten, N., Rakieten, M. L., Nadkarni, M. R.*: Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother. Rep.*, 1963, 29, 91–98.
- [41] *Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., et al.*: Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem. Senses*, 2005, 30(Suppl. 1), i68–i69.
- [42] *Keszthelyi, Z., Past, T., Lukats, B., et al.*: The central effect of chromium on glucose metabolism. *Pharmacopsychiatry*, 2004, 37, 242.
- [43] *Elliott, R., Dolan, R. J., Frith, C. D.*: Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb. Cortex*, 2000, 10, 308–317.
- [44] *Nagy, B., Szabo, I., Takacs, G., et al.*: Impaired glucose tolerance after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex of the rat. *Physiol. Internat.*, 2016, 103, 403–412.
- [45] *Paxinos, G. W.*: *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, Inc., 1997.
- [46] *Lukats, B., Inoue, T., Mizuno, M., et al.*: Electrophysiological and behavioral evidences of the feeding-related neuronal processes in the orbitofrontal cortex. *International Congress Series*, 2007, 1301, 230–233.
- [47] *Nagy, B., Szabo, I., Csetenyi, B., et al.*: Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res.*, 2014, 1543, 159–164.
- [48] *Levin, B. E.*: Metabolic sensing neurons and the control of energy homeostasis. *Physiol. Behav.*, 2006, 89, 486–489.

- [49] *Pannacciulli, N., Le, D. S, Salbe, A. D., et al.*: Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans. *Neuroimage*, 2007, 35, 511–517.
- [50] *Rocca, A. S., Brubaker, P. L.*: Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology*, 1999, 140, 1687–1694.
- [51] *Egyed, R., Lukats, B., Karadi, Z.*: Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. *J. Physiol. (Lond.)*, 2000, 526, 173–174.

(Karádi Zoltán dr.,
Pécs, Szigeti út 12., 7624
e-mail: zoltan.karadi@aok.pte.hu)

NOTA

Új fejlesztés az egészségügyben dolgozók, tanulók részére!

A magyar nyelvű szakirodalmi keresőszolgáltatás

Mi a NOTA?

Napvizit Orvosi Tudástár Alkalmazás

Mit tud a NOTA portál?

Megkönnyíti a magyar nyelvű szakirodalmi források keresését.

Eszköztől függetlenül, akár okostelefonról, a betegágy mellett állva is használható.

Miben kereshet a NOTA-val?

Az Akadémiai Kiadó folyóirataiban: Orvosi Hetilap, Magyar Sebészet, Mentálhigiéne és Pszichoszomatika.

Más kiadók magyar nyelvű szakfolyóirataiban: pl. *Lege Artis Medicinae*, *Hypertonia és Nephrologia*, *Ideggyógyászati Szemle*.

A hatályos szakmai irányelvekben.

Magyar nyelvű kérdésekre adott angol nyelvű találatokban, a PubMeden.

nota.hu

Amennyiben további információra lenne szüksége, keressen minket elérhetőségeinken:
journals@akademiai.hu / hirdetes@akademiai.hu

Akadémiai Kiadó
A Wolters Kluwer Csoport tagja

1117 Budapest, Prielle Kornélia u. 21-35. / Telefon: (1) 464-8246
www.akademiai.hu / www.akademiai.com



AKADÉMIAI KIADÓ



Review article

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

István Szabó^{a,b,*}, Edina Hormay^{a,b}, Bettina Csetényi^{a,b}, Bernadett Nagy^{a,b}, László Lénárd^{a,b,c}, Zoltán Karádi^{a,b,c}

^a Institute of Physiology, Medical School, University of Pécs, Pécs, Szigeti st. 12, H-7624, Hungary

^b Centre for Neuroscience, University of Pécs, Pécs, Ifjúság st. 20, H-7624, Hungary

^c Molecular Neuroendocrinology and Neurophysiology Research Group, Szentágotthai Research Center, University of Pécs, Pécs, Ifjúság st. 20, H-7624, Hungary



ARTICLE INFO

Keywords:

Medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex

Glucose-monitoring neurons

Limbic forebrain

Electrophysiological recordings

Metabolic and behavioral alterations

ABSTRACT

Multiple functional attributes of glucose-monitoring neurons in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex. *NEUROSCI BIOBEHAV REV* 73(1) XXX-XXX, 2017.- Special chemosensory cells, the glucose-monitoring (GM) neurons, reportedly involved in the central feeding control, exist in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex (mVLPFC). Electrophysiological, metabolic and behavioral studies reveal complex functional attributes of these cells and raise their homeostatic significance. Single neuron recordings, by means of the multibarreled microelectrophoretic technique, elucidate differential sensitivities of limbic forebrain neurons in the rat and the rhesus monkey to glucose and other chemicals, whereas gustatory stimulations demonstrate their distinct taste responsiveness. Metabolic examinations provide evidence for alteration of blood glucose level in glucose tolerance test and elevation of plasma triglyceride concentration after destruction of the local GM cells by streptozotocin (STZ). In behavioral studies, STZ microinjection into the mVLPFC fails to interfere with the acquisition of saccharin conditioned taste avoidance, does cause, however, taste perception deficit in taste reactivity tests. Multiple functional attributes of GM neurons in the mVLPFC, within the frame of the hierarchically organized central GM neuronal network, appear to play important role in the maintenance of the homeostatic balance.

1. Background

This mini-review paper has multiple objectives: on the one hand, in context to characteristics found in other limbic forebrain structures, we are going to elucidate a variety of functional attributes of the glucose-monitoring (GM) neurons in the medial orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex (mOFC/mVLPFC); on the other hand, by reviewing recent relevant findings of our laboratory, metabolic and behavioral importance of these chemosensory cells will be demonstrated; finally, based on all the above data, thus, determined by the unraveled multiple functional attributes, their special homeostatic significance and the hierarchical organization of the central glucose-monitoring neural network will be discussed.

The various studies reviewed in this paper utilize advantages of a great variety of experimental methodologies to provide functional characterization of orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortical neurons. These techniques are incorporated in electrophysiological-neurochemical, metabolic and behavioral examinations performed in

the rat and the rhesus monkey. As part of them, by employing the multibarreled microelectrophoretic technique, direct neuronal effect of various chemicals and intraoral gustatory stimulations are tested. The metabolic investigations include the glucose tolerance test as well as the measurement of plasma metabolite concentrations, whereas the behavioral examinations whose results are going to be discussed in the present paper are represented by conditioned taste aversion and taste reactivity tests in case of the laboratory rat as well as by conditioned bar press alimentary and visual food and non-food object discrimination bar press tasks in the rhesus monkey.

1.1. The central glucose-monitoring network

The organism is in a continuous material exchange with the environment, and throughout this process our brain is responsible to control energy homeostasis by balancing among energy intake, – expenditure and – storage. The molecule of D-glucose is in the center of this regulation, therefore, it is of distinguished significance that there

* Corresponding author at: Institute of Physiology, Medical School, University of Pécs, Pécs, Szigeti st. 12, H-7624, Hungary.
E-mail address: istvan.szabo2@aok.pte.hu (I. Szabó).

exist special neural cells in certain parts of the brain which use glucose not only as energy ‘fuel’ but also as a signal molecule shifting their membrane potential and influencing their firing rate as well. These glucose-monitoring (GM) neurons, thus, specifically change in activity in response to increase of the brain’s interstitial glucose concentration (Anand et al., 1964; Burdakov et al., 2005; Jordan et al., 2010; Kong et al., 2010; Levin et al., 2004; Oomura et al., 1964). There have been several names used in the literature for these units: after calling them “glucose-responsive” according to the classical nomenclature introduced by Oomura (Oomura, 1980; Oomura et al., 1964), these chemosensory cells are recently broadly accepted to be named as “glucosensing” ones. We would like to emphasize at this point, however, that the functional activity of these neurons appears to be much more complex than only sensing glucose in the extracellular fluid compartment of the brain. These cells, according to our understanding – and practically in agreement with the “metabolic sensor” theory of Levin (Kong et al., 2010; Levin, 2002, 2006; Levin et al., 2011; Levin et al., 2004) –, are rather occupied with watching moment to moment (i.e. monitoring) their internal and external environment, that is, obtain complex sets of information every moment that they should utilize to adjust the actual balance of the (energy) homeostasis, this way assuring the biological welfare of the organism. Based on their firing characteristics, two major groups of these chemosensory cells are distinguished: the glucose-receptor (GR) units that increase, and the glucose-sensitive (GS) ones that decrease their firing rate in response to elevation of the glucose concentration in the brain’s extracellular space (Oomura, 1980). As far as the intracellular signaling processes in the background of these effects are concerned, it is getting generally accepted that – similar to what is seen in the insulin producing β -cells of the Langerhans-islets of the pancreas – the same type of glucokinase, ATP-sensitive potassium channel (K_{atp}), and specific glucose-transporter (at least, in part, GLUT2, and also GLUT1, GLUT3 and GLUT4) mediated mechanisms are responsible for the excitation (Burdakov et al., 2005; Jordan et al., 2010; Levin et al., 2004; Nagy et al., 2016), whereas it has been classically proposed that reduction in the depolarizing activity of the Na^+/K^+ pump, or activation of a yet unknown hyperpolarizing Cl^- current (Oomura, 1980), or – as quite recently elaborated by Burdakov and his co-workers (Burdakov, 2007; Burdakov et al., 2005; Marston et al., 2011) – leak-type potassium channel mediated mechanisms are involved in the inhibitory response to glucose.

The view of effective glucose sensing mechanisms is further extended by data of recent studies demonstrating a supposed overlapping of the taste responsive and the glucose-monitoring neural elements at the level of the ventrobasal hypothalamus. These findings provided evidence for that the taste receptor genes and their associated G-protein genes are also expressed extraorally, among others, in the brain, namely, in nutrient-sensing forebrain regions, such as the arcuate nucleus of the hypothalamus. This same structure was found to express the corresponding gene products that form the heterodimeric T1R2/T1R3 sweet taste receptor, along with the taste G-protein α -gustducin (Laffitte et al., 2014; Ren et al., 2009). The sweet taste receptor was not only identified here but it has been shown to be functional on local glucose- and leptin-responsive neurons. The sweet taste receptor mediated cellular activation mainly occurs on non-POMC cells, and this process appears to contribute to the glucose-sensing mechanism of these ventrobasal hypothalamic chemosensory neurons (Kohno et al., 2016; Welcome et al., 2015).

Glucose-monitoring neurons have been first identified in the 1960s in the lateral hypothalamic area (LHA) and the ventromedial division of the hypothalamus, including the ventromedial hypothalamic nucleus (VMH) and the hypothalamic arcuate nucleus, by Anand and his co-workers as well as by Oomura and his co-workers (Anand et al., 1964; Oomura et al., 1964; Oomura et al., 1969). Since then the presence of these specific neurons has been reinforced or proved in several brain regions: LHA (Aou et al., 1984; Karadi et al., 1995a; Karadi et al., 2004;

Karadi et al., 1992; Oomura, 1980, 1988; Oomura and Yoshimatsu, 1984), VMH (Kang et al., 2004; Karadi et al., 2004; Kuriyama et al., 1990; Minami et al., 1986; Oomura, 1980, 1988; Oomura and Yoshimatsu, 1984; Routh, 2003; Song et al., 2001), nucleus of the solitary tract (Adachi et al., 1995; Adachi et al., 1984; Mizuno and Oomura, 1984), area postrema (Adachi et al., 1991; Funahashi and Adachi, 1993), amygdala complex (Karadi et al., 1988; Karadi et al., 1998; Nakano et al., 1987; Nakano et al., 1986), globus pallidus (Karadi et al., 1995b; Lenard et al., 1995), nucleus accumbens (NAcc) (Papp et al., 2007), mediodorsal prefrontal cortex (Nagy et al., 2014; Nagy et al., 2012a; Nagy et al., 2012b; Oomura and Yoshimatsu, 1984) and orbitofrontal cortex (Karadi et al., 2004; Lukats et al., 2005a; Lukats et al., 2006; Lukats et al., 2007). With particular relevance to this mini-review paper, when Anand and his colleagues showed evidence for GM neurons existing in the LHA and VMH of dogs, they apparently ignored several glucose-responsive cells recorded as ‘controls’ in the orbitomesial cortex (Anand et al., 1964). These data obviously demonstrate that the central control of energy homeostasis takes place via a complex network of the GM neurons whose activity is regulated at several levels supposedly in a hierarchically organized manner.

The chemosensory neurons appear to play important role in detection of taste and odor stimuli and, quite importantly, they are also involved in perceptual-motivational control processes and in the evaluation of reward quality as well (Karadi et al., 1995b; Karadi et al., 1992; Karadi et al., 1998; Lenard and Karadi, 2012; Lenard et al., 1995). They display responsiveness to both exogenous (e.g. taste, odor) and endogenous (e.g. neurotransmitters, other humoral factors) chemical signals, thus, play important role in the integrative processing of nutrition-relevant information (Inokuchi et al., 1986; Ishibashi et al., 1979; Karadi et al., 2004; Karadi et al., 1992; Levin et al., 2004; Oomura, 1980; Shimizu et al., 1984).

1.2. The orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortex

The prefrontal cortex, locating rostral from the motor and premotor cortical areas, can be divided into two main regions in rodents: the mediodorsal and the ventrolateral sub-divisions. This latter is broadly accepted to correspond to the orbitofrontal cortex (OFC) in primates where it is a part of the frontal lobe that lies on the roof of the orbit (Brodmann, 1909; Kolb, 1984, 1990). Functional morphological examinations demonstrate that cytoarchitecturally and also with respect to its “wired” connections this heterogenous cortical region is further divided into two main parts: the medial and the lateral orbitofrontal cortices (Elliott et al., 2000).

The OFC has been shown to receive a great variety of taste, smell, visual, and somatosensory inputs. In the lateral region, in a continuum to its caudal part, the identified taste-responsive cells (Rolls, 1989; Rolls et al., 1989; Rolls et al., 1990), which receive the bulk of projections of the primary taste cortex, function as a secondary taste cortical area (Baylis et al., 1995; Rolls, 1989; Rolls et al., 1990). At the same time, the medial division receives massive olfactory inputs (Morecraft et al., 1992) forming an olfactory area in this region (Rolls, 1997, 2008, 2011; Rolls and Baylis, 1994; Rolls et al., 1996a; Takagi, 1979). It is worth noting here that, in addition to this heavy innervation from the odor-related primary cortical and subcortical structures, the mOFC has strong connections with the hippocampus, the cingulate, retrosplenial and entorhinal cortices, and with distinguished importance with the nucleus accumbens and its reach catecholaminergic interconnections, the anterior thalamus and the septal diagonal band (Morecraft et al., 1992; Pandya et al., 1981; Vogt and Pandya, 1987), all providing the morphological base for a rich variety of additional functions associated to this region of the OFC.

The posterior sub-division has got direct inputs from the primary olfactory and piriform cortices (Carmichael et al., 1994), and represents the structural base for processing the hedonic value of the odor of food as a secondary and tertiary olfactory cortex (Critchley and Rolls, 1996a;

Critchley and Rolls, 1996b; Rolls, 1997; Rolls et al., 1996a). The visual information is projected to the OFC from the inferior temporal lobe, the superior temporal sulcus and the pole of the temporal lobe (Barbas, 1993; Carmichael and Price, 1995), and the neuron assemblies with visual inputs here form the underlying structural complex for integrative processing mechanisms (Rolls and Baylis, 1994; Rolls et al., 1996a). The OFC also receives acoustic and somatosensory signals originating from the secondary somatosensory cortex, the operculum precentralis and the insula (Barbas, 1993; Carmichael and Price, 1995).

The OFC projects towards broad cortical and subcortical brain regions: the inferior temporal lobe, the entorhinal cortex, the cingulate cortex (Insausti et al., 1987), as well as to the preoptic area, the ventral tegmental area, the lateral hypothalamus (Johnson et al., 1968), the caudate nucleus and part of the ventral striatum (Kemp and Powell, 1970).

As far as the functional aspects are concerned, the orbitofrontal cortex has been implicated in the regulation of many sensory, perceptual, motivational, learning and memory processes. The OFC, key structure of the limbic circuitry, temporarily stores sensory information and with a time delay connects those with adequate response patterns (Freedman and Oscar-Berman, 1986). It is known to play important role in forming social, sexual and general adaptation behavioral patterns (Nonneman and Kolb, 1974) and in production of spontaneous and complex behavioral manifestations (Kolb, 1990). The OFC, especially its medial region, is essential in differentiation of various odors and in organization of odor-determined or odor-driven behavioral processes (Eichenbaum et al., 1980; Tanabe et al., 1975). In addition to the above, the VLPFC is also known to participate in the maintenance of body weight, food and fluid intake and metabolic control functions (Kolb, 1984). With respect to the latter, it is important to emphasize that despite its engagement in mainly organizing high order motivational and cognitive processes, the orbitofrontal cortex is also intimately involved in the regulation of peripheral metabolic functions. Experimental data and pre-clinical and clinical observations verify that the OFC is closely associated with the regulation of feeding and metabolism related processes involving plasma metabolites, peripheral hormones or even blood concentrations of basic nutrients (Delaere et al., 2013; Sun et al., 2014; Tataranni et al., 1999).

Neurochemical characteristics of the orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortical neurons have already been intensively tested in previous studies of diverse methodology. These investigations were indispensable with respect to well understanding the variety of functions associated to the OFC (VLPFC). The above mentioned richness of determinants of the various functions gets manifested via the major catecholamine (dopamine and noradrenaline) pathways and the cholinergic fiber system of the basal forebrain. By means of intracerebral microinjections, the involvement of catecholamines has already been verified long ago in this limbic forebrain cortical region (Galosi et al., 2015; Kheramin et al., 2004; Lenard and Hahn, 1982; Lenard et al., 1982; Lenard et al., 1991; Zeeb et al., 2010). Specific single neuron recordings by means of the multibarreled microelectrophoretic technique further demonstrated fundamental influence of catecholamines in the medial prefrontal cortex as well as in the OFC (VLPFC) (Aou et al., 1983; Karadi et al., 2004; Karadi et al., 1992; Lenard et al., 1995; Nagy et al., 2014; Nakano et al., 1984).

Distinguished attention is paid in this mini-review at the gustatory sensory modality, thus, it is worth noting that abundant data are available in the literature about the topographic distribution of neurons here with sensitivities to various taste qualities (Rolls, 2008, 2011). Neurons responding to the four classical primary qualities as well as to the presence of umami tastants, like glutamate (Baylis and Rolls, 1991) and inosine monophosphate (Rolls et al., 1996b) have been identified in the lateral OFC, whereas in the medial OFC, in addition to mainly food related complex gustatory responses (Karadi et al., 2005), taste cells have been shown to respond to water, capsaicin and tannic acid, which produces the taste of astringency (Critchley and Rolls, 1996c; Pritchard et al., 2005; Rolls, 2008; Rolls and Grabenhorst, 2008).

2. Microelectrophysiological experiments

The findings of microelectrophysiological investigations, utilizing the multibarreled microelectrophoretic technique and performed in the rat, are to be reviewed here: extracellular single neuron activity is recorded in these studies during 1) microelectrophoretic administration of various chemicals, and 2) intraoral gustatory stimulation with solutions of the five primary taste qualities and two concentrations of orange juice solutions (Karadi et al., 1995b; Lukats et al., 2005a; Nagy et al., 2014; Nagy et al., 2012a; Papp et al., 2007). The stereotaxic coordinates of extracellular single neuron recordings in the mVLPFC are as follows: anteroposterior (AP), bregma (B) +3.8–4.4 mm; medio-lateral (ML), 0.8–1.2 mm; vertical (V), 3.0–3.5 mm from surface of the brain, according to the stereotaxic rat brain atlas of Paxinos and Watson (Paxinos, 1997).

2.1. Neurochemical sensitivities

In case of neurochemical stimulations, the neuronal effects of microelectrophoretic administration of D-glucose, noradrenaline, dopamine, acetylcholine, gamma-aminobutyric acid (GABA) and interleukin-1 β (IL-1 β) are tested in limbic forebrain structures: in the orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) and the mediodorsal prefrontal cortices as well as in the nucleus accumbens.

In the VLPFC of rats, strong interrelationship has been demonstrated between the glucose and the interleukin-1 β responsiveness of neurons: appx. 90% of the IL-1 β responsive cells change their firing rate in response to the microelectrophoretic application of D-glucose (Lukats et al., 2005a; Lukats et al., 2006).

When performing such recordings studies in the highly interconnected key structures of the limbic forebrain we always look for similarities or just sharp differences between the activities of the given regions. IL-1 β responsive neurons are also recorded in the NAcc (Takacs et al., 2010), one of the biggest and most important subcortical counterpart limbic structure for the VLPFC, but the major relevant finding of these types of experiments with respect to the present paper is that one fifth of the examined neurons in the shell, and approximately one third in the core region are glucose-responsive, that is, changes in activity in response to the administration of D-glucose. Characteristic topographic distribution of GM units can be recognized within this structure: in the shell sub-division, mainly the GS neurons, whereas in the core mostly the GR cells are detected. A regional difference of GABA-sensitivity of these GM neurons is also demonstrated: all of the GR units in the shell, but none of the GS cells in the core responded to microelectrophoretic administration of GABA (Papp et al., 2007). As far as additional characteristics of the endogenous chemical responsiveness of accumbens neurons is concerned, in this brain area the dopamine-sensitivity of GM cells is found to be 1.5 times higher compared to that of the glucose-insensitive (GIS) ones. Furthermore, the noradrenaline- and acetylcholine-sensitivities were double in the glucose-monitoring units compared to the GIS cells (Papp et al., 2005a).

During comparative recording sessions in the mdPFC, one fourth of the neurons change their firing rate in response to microelectrophoretic administration of glucose. The excitatory type GR units are mainly facilitated, whereas the inhibitory type GS neurons appear to be predominantly suppressed by dopamine (Nagy et al., 2012a). The responsiveness of the GM cells to the noradrenaline is proved to be significantly higher than that of the GIS neurons. In contrast to what is found in case of the catecholamines, no difference is observed in the high acetylcholine sensitivity of both the GM and the GIS units (Nagy et al., 2014). The GM cells, however, there are inhibited by GABA here in a significantly higher ratio, than the GIS units are (Papp et al., 2005b).

In the mVLPFC of Wistar and Sprague-Dawley rats, one fifth of all neurons tested change their activity in response to D-glucose, that is, these cells prove to be elements of the forebrain GM neural network. All

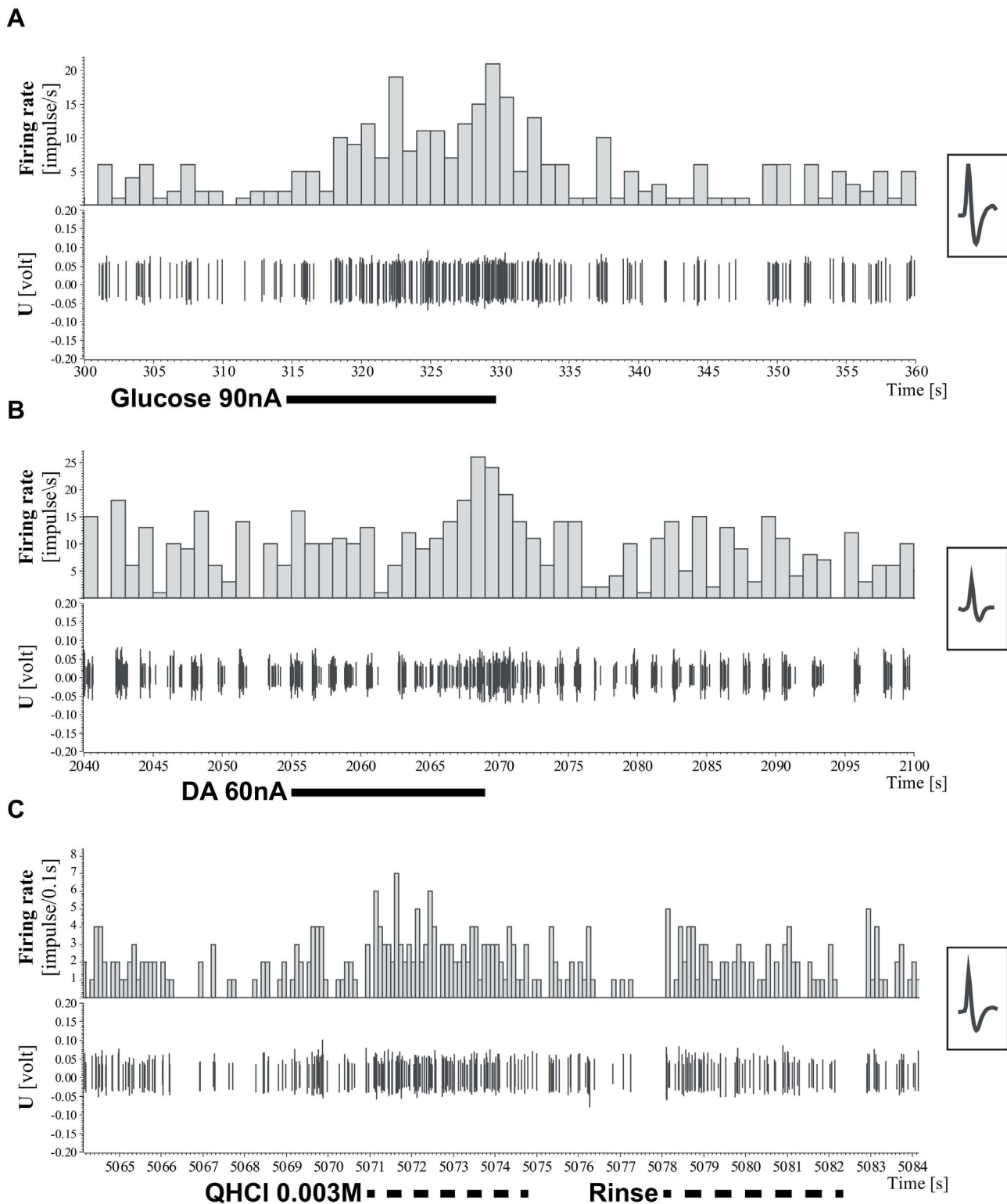


Fig. 1. Endogenous and exogenous chemical responses of three medial orbitofrontal cortical neurons in the rat. **A:** glucose-receptor neuron, facilitated by microelectrophoretically applied D-glucose. **B:** microelectrophoretically applied dopamine (DA) elicited excitation, temporary generalized activation of burst firing of the cell. **C:** neuronal excitation resulted in by introrally administered quinine. The bitter taste stimulus increased the firing rate right at the administration of quinine and also at the rinsing due to washing out of the remaining small amount of the taste solution from the polyethylene tube by the distilled water. Spike insets, characteristic action potentials. Thick horizontal bars: duration of microelectrophoretic administration of chemicals. Numbers, ejection current intensity (nA). Thick horizontal dashed bars: duration of intraoral injections. QHCl, quinine hydrochloride. Abscissa, time in s; ordinate, firing rate in spikes/s (A and B, upper traces) or in spikes/0.1 s (C, upper trace) and potential in V (lower traces), respectively. Data derived from original reports as follows (Szabó et al., 2017; Szabó et al., 2013).

these glucose-responsive neurons are of the excitatory GR type (Fig. 1A). Acetylcholine elicits activity changes in 80% of all neurons, whereas dopamine does so in 40% of the units (Fig. 1B). Appx. 25% of

the examined cells change in firing rate to microelectrophoretic application of noradrenaline. More than half of the tested neurons are inhibited by the administration of GABA (Szabó et al., 2014; Szabó et al.,

Table 1

Dopamine (DA), noradrenaline (NA), acetylcholine (ACh) and GABA responsiveness of glucose-monitoring (GM) and glucose-insensitive (GIS) neurons in the medial orbitofrontal cortex (mOFC), mediodorsal prefrontal cortex (mdPFC) and nucleus accumbens (NAcc) of the rat. \pm , excitatory (+) or inhibitory (–) response; \emptyset , no effect. * $p < 0.05$; # $p < 0.001$. Data derived from original reports as follows (Nagy et al., 2014; Nagy et al., 2012; Papp et al., 2005a; Papp et al., 2007; Papp et al., 2005b; Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013).

	DA		DA \emptyset		NA		NA \emptyset	
	GM	GIS	GM	GIS	GM	GIS	GM	GIS
mOFC	0	9	5	16	1	4	4	13
mdPFC	21 [#]	27	30	140	19 [#]	18	22	142
NAcc	13	20	15	46	1	2	4	17

	ACh \pm		ACh \emptyset		GABA \pm		GABA \emptyset	
	GM	GIS	GM	GIS	GM	GIS	GM	GIS
mOFC	5 [*]	14	0	13	3	11	2	16
mdPFC	14	62	17	85	23 [*]	60	14	84
NAcc	3	7	2	17	6	25	5	28

2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013). Results of the neurochemical stimulations in the limbic forebrain, based on original findings of the following reports (Nagy et al., 2014; Nagy et al., 2012a; Papp et al., 2005a; Papp et al., 2007; Papp et al., 2005b; Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013), are summarized in Table 1.

2.2. Gustatory responsiveness

In case of intraoral gustatory stimulation, a polyethylene tube is placed into the mouth of the anesthetized rat and the neuronal responsiveness is examined by intraoral infusion of various taste solutions: effects of the five primary taste qualities and orange juice are tested in two concentrations.

In the nucleus accumbens, in case of GIS neurons, the taste-responsiveness was more than 80%, while in case of glucose-monitoring cells this ratio was more than 95% (Papp et al., 2005a).

In the mediodorsal prefrontal cortex, both GM and GIS units display similar responsiveness (appx. 40%) in case of stimulations with the various taste solutions (Nagy et al., 2010; Papp et al., 2005a).

In the medial ventrolateral prefrontal cortex, one fourth of the tested neurons change their activity during gustatory stimulation with sweet taste solution, whereas this ratio is one third in case of the salty taste. Approximately 60% is the alteration in neuronal activity in case of the other primary taste qualities and orange juice (Fig. 1C). It is also worth noting that all the GM units display taste-responsiveness in this brain region (Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013). Results of the gustatory stimulations in the limbic forebrain, based on original findings of the following reports (Nagy et al., 2010; Papp et al., 2005a; Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013), are summarized in Table 2.

2.3. Relevant investigations in the rhesus monkey

As far as the topic of this mini-review is concerned, the pioneering paper of the Oomura lab from 1984 (Nakano et al., 1984) is of distinguished significance since – though based on indirect evidence – it has already raised the probability of the existence of glucose-responsive neurons in the medial orbitofrontal cortex of the rhesus monkey.

In the previous years, our research group and that of Dr. Aou in Kitakyushu, Japan conducted complex electrophysiological-neurochemical-behavioral experiments in the orbitofrontal cortex of macaques. In these studies, within broad areas of the OFC, extracellular single neuron activity was recorded by means of tungsten wire

Table 2

Taste responsiveness of glucose-monitoring (GM) and glucose-insensitive (GIS) neurons in the medial orbitofrontal cortex (mOFC), mediodorsal prefrontal cortex (mdPFC) and nucleus accumbens (NAcc) of the rat. \pm , excitatory or inhibitory response; \emptyset , no effect. Data derived from the following original reports (Nagy et al., 2010; Papp et al., 2005; Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015; Szabo et al., 2013).

	Taste \pm		Taste \emptyset	
	GM	GIS	GM	GIS
mOFC	3	19	0	1
mdPFC	21	76	29	104
NAcc	21	51	1	11

multibarreled glass microelectrodes during 1) microelectrode administration of glucose and various other chemicals; 2) gustatory stimulations with solutions of the five primary taste qualities and orange juice; and 3) performing conditioned fixed ratio bar press alimentary or visual food and non-food object discrimination bar press tasks.

In general, multiple neurochemical sensitivities characterized the ventrolateral prefrontal cortical neurons. The proportion of glucose-responsiveness slightly varied among the recording sessions and the sites from 8% to 12% of the tested neurons, being appx. 1/10, as a mean. Both the GR and GS types of the chemosensory cells have been identified in the VLPPFC. These units were likely to change in firing rate also in response to other chemicals, and with this respect their high dopamine and noradrenaline sensitivities proved to be the most characteristic.

The intraoral gustatory stimulations have been performed via previously implanted polyethylene tubing, which was led up from the inner buccal surface in front of the parotid gland to the top of the headpiece mounted on the skull. Taste responsiveness was more pronounced among the GM neurons compared to the GIS ones, with a majority of the chemosensory cells changing in firing rate to 2 or more gustatory stimuli. As demonstrated in Fig. 2, both types of the GM neurons displayed double endogenous and exogenous chemical sensitivities. It is worth noting here that in the latter case, the two effective taste stimuli being with opposite hedonic value.

In the behavioral part of these experiments, the alert macaques have been trained to perform high fixed ratio conditioned bar press tasks. One of these tasks consisted of a cue light-bar press-cue tone-reward sequence, whereas the other one appeared as a series of cue sound-visual stimulus (picture of food or non-food object)-bar press-reward steps. In the former, the GM neurons, compared to the GIS ones, were likely to display firing rate changes in the bar press and the reward phases, and these responses were characteristically attenuated or eliminated by increasing satiation of the animal (Karadi et al., 2005; Karadi et al., 2004). In the latter, category-specific (14%) or task-specific (5.5%) neurons were recorded. The examined cells displayed a wide variety of selectivity for food-related visual stimuli. Expectation- and reward-related changes were also demonstrated (Lukats et al., 2007). It is important to note finally that the above complex recording experiments have covered broad areas of the OFC, greatly involving area 11, 12 and 14, that is, major constituents of the medial orbitofrontal cortical region.

3. Recent studies in the rat

3.1. Metabolic examinations

In recent metabolic experiments, bilateral streptozotocin (STZ) microinjection is performed into the mVLPFC. The STZ is a glucose-like molecule, known to selectively destroy β -cells in the pancreas, so that it is widely used to induce type 1 diabetes in rats (Ganda et al., 1976; Garvey et al., 1989; Like and Rossini, 1976; Szkudelski, 2001). STZ

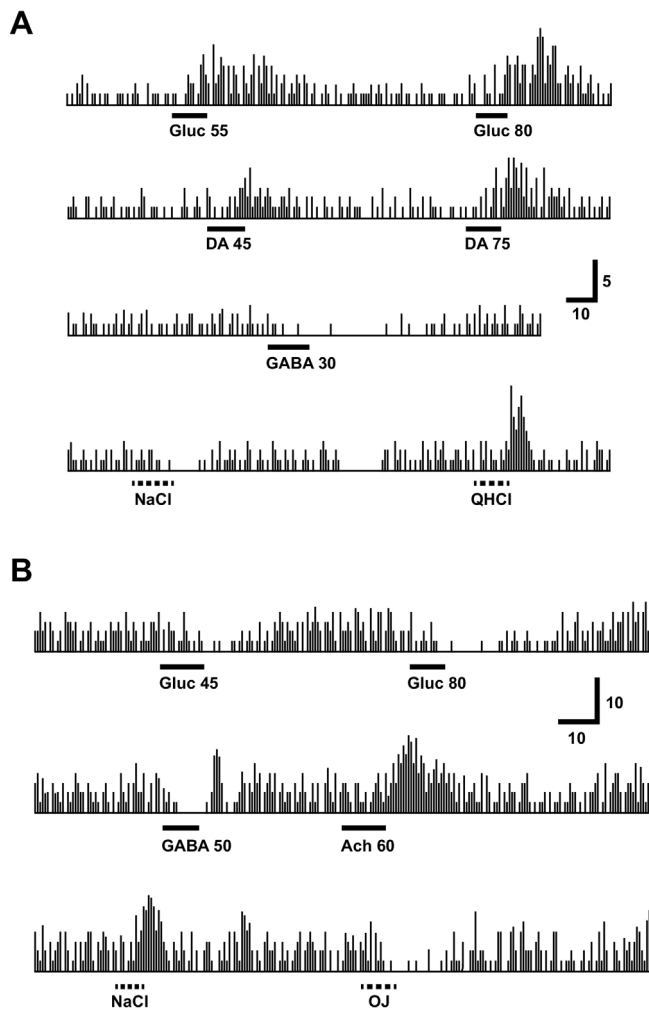


Fig. 2. Complex, endogenous and exogenous chemical responses of two orbitofrontal cortical neurons in the rhesus monkey. A: glucose-receptor neuron. B: glucose-sensitive cell. Abbreviations: Ach, acetylcholine; DA, dopamine; GABA, gamma-amino butyric acid; Gluc, D-glucose; NaCl, sodium chloride (the upper one, 0.1 M, the lower one, 0.3 M); OJ, orange juice; QHCl, quinine hydrochloride. Thick horizontal bars: duration of microinjections, numbers, ejection current intensities in nA. Thick horizontal dashed bars: duration of intraoral injections. Abscissa, time in s; ordinate, firing rate in spikes/s, respectively. Data derived from the following original reports (Karadi et al., 1995a; Karadi et al., 1995b; Karadi et al., 1992).

enters the neural cells by either GLUT2 or other (GLUT1, GLUT3) glucose transporter and selectively destroys them by leading to the production of reactive oxygen species (Kadowaki et al., 1984; Like and Rossini, 1976; Rakićen et al., 1963; Szkudelski, 2001). As the so far discussed GM neurons are equipped practically by the same biochemical machinery as the insulin-producing cells in Langerhans-islets of the pancreas, the intracerebral microinjection of STZ into various brain regions containing GM cells can elicit the termination of the activity of these chemosensory neurons, which leads to the formation of serious nutritional and metabolic disorders (Egyed et al., 2000; Karadi et al., 2005; Karadi et al., 2004; Keszthelyi et al., 2004).

3.1.1. Altered glucose tolerance

The operation and administration of the STZ or saline microinjection are performed as previously described (Nagy et al., 2012b). Stereotaxic coordinates for mVLPFC according to the stereotaxic rat brain atlas of Paxinos and Watson (Paxinos, 1997): anteroposterior (AP), bregma (B) +4.2 mm; mediolateral (ML), 0.9 mm; vertical (V), 2.3 mm from surface of the brain.

In the glucose tolerance test (acute GTT), after 12 h food

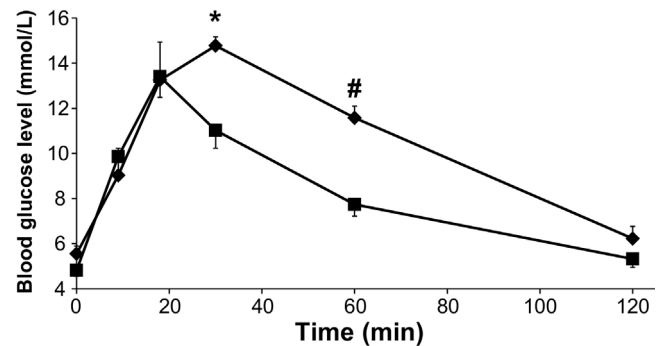


Fig. 3. Blood glucose levels measured at regular time intervals throughout the acute glucose tolerance test in the rat. ■ control group (n = 6); ♦ streptozotocin-treated group (n = 6). Abscissa, time in min; ordinate, blood glucose level in mmol/L, respectively. Bars, error bars represent means, \pm SEM, respectively. * $p < 0.01$, # $p < 0.005$. Data derived from original reports as follows (Szabó et al., 2014; Szabó et al., 2017; Szabó et al., 2015).

deprivation, 20% glucose solution is injected intraperitoneally (0.2 g/100 gbw/ml), and blood samples are taken from the tail vein, and measured by handheld glucometer at regular time intervals for 120 min.

In the acute GTT, following bilateral microinjection of STZ into the mVLPFC, the maximum of the blood glucose concentrations of STZ-treated animals was higher and the peak was reached later, compared to those in the control group. As Fig. 3 shows, 30 and 60 min after the glucose load in the STZ-treated rats, the blood glucose level was significantly higher ($p < 0.01$ and $p < 0.005$, respectively) than that in the control animals. Two hours later, though the blood glucose values of the STZ microinjected rats were still higher, there was no significant difference between the two animal groups (Szabó et al., 2014; Szabó et al., 2017; Szabó et al., 2015).

3.1.2. Plasma metabolites

Plasma metabolite measurements, following 12 h food deprivation, are performed from blood samples taken from the tail vein, by enzymatic-colorimetric method. Reagent kits are used to determine plasma levels of D-glucose, albumin, calcium, uric acid, total protein, LDH, HDL-cholesterol, triglycerides and total cholesterol (Lukats et al., 2005b; Takacs et al., 2010). With the appropriate equation, the LDL-cholesterol levels can be calculated from the total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides (Friedewald et al., 1972).

When measuring plasma metabolites following STZ microinjection into the mVLPFC, the triglyceride concentration is found significantly higher in the STZ-treated animals ($p < 0.005$) compared to the control rats (Fig. 4). In the other metabolite levels no significant difference is observed (Szabó et al., 2017; Szabó et al., 2015).

3.2. Behavioral investigations

The glucose-monitoring neurons are intimately involved in the neural control of feeding. The behavioral studies reviewed in this paper are designed to evaluate taste associated behavioral consequences of selective destruction of GM neurons of the mVLPFC in rats during conditioned taste aversion and taste reactivity tests.

3.2.1. Conditioned taste aversion

In case of the conditioned taste aversion (CTA) test, the experiment starts with involving the rats in a training period. During this period, the animals have to learn to drink the whole amount of their daily water consumption during 30 min. On the pairing day, the animals get saccharin instead of the water, and 30 min later LiCl is injected intraperitoneally, which induces GI malaise and poor general condition of the animals. On the next 3 days the rats drink water again, and the

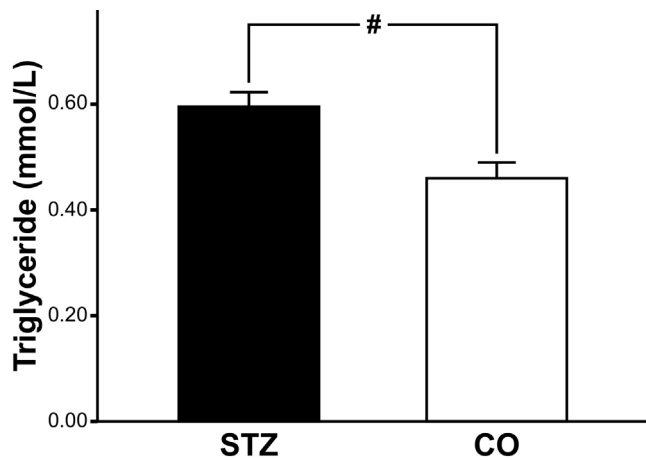


Fig. 4. Alteration of triglyceride concentrations (mmol/L) after bilateral microinjection of streptozotocin or saline into the medial orbitofrontal cortex in the rat. STZ, streptozotocin-treated group (n = 16); CO, control group (n = 12). Bars, error bars represent means, SEM, respectively. #p < 0.005. Data derived from the following original reports (Szabo et al., 2014; Szabo et al., 2017; Szabo et al., 2015).

fourth day is the testing day, when they get again saccharin instead of the water. In this experiment, saccharin intakes of animals on the pairing and testing days are compared and statistically analyzed (Nagy et al., 2012b; Takacs et al., 2008).

In the conditioned taste aversion test following STZ or saline microinjection into the mVLPFC in the rat, in both groups, there was significant difference between the saccharin consumption of the pairing and the testing days. No difference was found, however, between the STZ-treated and control groups in the ability to acquire CTA (Szabo et al., 2015).

3.2.2. Taste reactivity

In the taste reactivity test, the five basic taste solutions in two concentrations are intraorally infused via a previously implanted polyethylene tube. During the test, the behavior of rats is video recorded and analyzed off-line frame by frame by three independent, well trained examiners. Taste reactivity indices are determined by the mimical and locomotor responses according to their character, number, order and intensity (Grill and Norgren, 1978; Nagy et al., 2012b; Takacs et al., 2008). Based on previous experiments (Moskowitz et al., 1976; Yamaguchi, 1998), both concentrations of HCl and QHCl and the higher concentrations of NaCl and MSG are considered as unpleasant taste stimuli, while both concentrations of sucrose and the lower concentrations of NaCl and MSG are regarded as pleasant tastes.

When comparing the taste reactivities of rats with the microinjection of STZ or vehicle solution into the mVLPFC, the ingestive and aversive scores appear to be significantly different in case of the pleasant and unpleasant taste stimuli. Clearly shown by the data, the STZ-treated animals feel more pleasant the lower concentration of bitter and sour tastants; in general, the STZ microinjected animals apparently feel both pleasant and unpleasant tastes more pleasant compared to the control rats (Karadi et al., 2005; Szabo et al., 2015).

4. Summary, conclusions, and further directions

The glucose-monitoring neurons have been identified in the rat and the rhesus monkey in several brain regions, from the lower brainstem (Adachi et al., 1984) through higher level forebrain areas (Karadi et al., 1995a; Karadi et al., 2005; Karadi et al., 2004; Papp et al., 2007) up to the prefrontal/orbitofrontal cortices (Karadi et al., 2005; Karadi et al., 2004; Lukats et al., 2007; Nagy et al., 2014; Nagy et al., 2012a). Fig. 5 presents a simplified chart of the recently known central glucose-monitoring neural network. Having the first glance at the adjoining

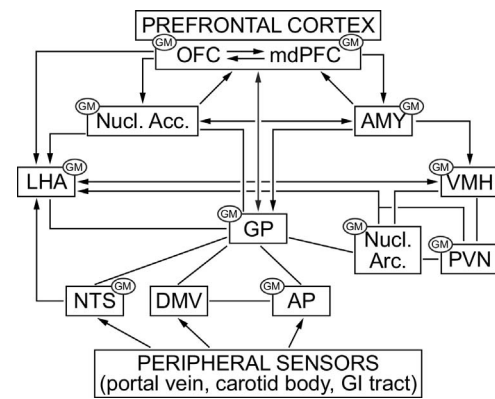


Fig. 5. Hierarchical organization of the central glucose-monitoring neural network. GM: glucose-monitoring neurons; AMY: amygdala; AP: area postrema; DMV: dorsal motor vagal nucleus; GP: globus pallidus; LHA: lateral hypothalamic area; mdPFC: mediodorsal prefrontal cortex; NTS: nucleus of the solitary tract; Nucl. Acc.: nucleus accumbens; Nucl. Arc.: arcuate nucleus; OFC: orbitofrontal cortex; PVN: paraventricular hypothalamic nucleus; VMH: ventromedial nucleus of the hypothalamus. More details please find in the text. Data derived from original reports as follows (Karadi et al., 2004; Lukats et al., 2006; Lukats et al., 2007).

peripheral sensors of it, it is important to recognize that their intact functioning is indispensable for the appropriate functioning of even the highest level elements of the system. With respect to this, it is well known that the plasma concentration of the glucagon-like peptide-1 (GLP-1) increases after food intake. In the frame of an fMRI examination during oral glucose tolerance test, the increased amount of GLP-1 negatively correlated with a change in the activity of the OFC, but this alteration was independent from plasma insulin and glucose concentrations, and also from the BMI of the participating subjects (Heni et al., 2015; May and Woods, 2015). The orbitofrontal cortex is also influenced by insulin (Heni et al., 2014; Kullmann et al., 2013), the postprandial effect of this hormone, however, could be demonstrated in lean individuals only (Heni et al., 2015).

The above observation provides evidence for that interrelationship of someone's metabolic condition and endocrine-humoral status, and thus, the subject's energy homeostasis is highly determined by the actual functional control capacity of limbic forebrain, namely, the orbitofrontal (ventrolateral prefrontal) cortical areas. Findings of our experiments gain their significance by elucidating those delicate neuronal mechanisms that may represent the cellular basis of these regulatory processes. In the present study, evidence has been obtained for the definite involvement of medial ventrolateral prefrontal cortex (mVLPFC) chemosensory cells in the central metabolic-homeostatic control. On the one hand, these mVLPFC (orbitofrontal cortical) chemosensory neurons, as important constituents of the limbic forebrain glucose-monitoring neural network, closely, moment to moment watch (i.e. monitor) and integrate chemical-humoral signals of the internal and external environment, thus, appear to be indispensable in sensitive processes of the maintenance of the balance of homeostasis. On the other hand, in addition to demonstrating multiple functional attributes (complex neurochemical sensitivities, differential taste-responsiveness, involvement in taste-associated and other perceptual, motivational, cognitive-behavioral processes) of the GM cells here, first time in the literature, we showed complex metabolic alterations following bilateral mVLPFC (orbitofrontal cortex) microinjection of STZ. Destruction of the STZ-sensitive chemosensory neurons in the medial region of VLPFC resulted in the development of (type 2) diabetes-like symptoms, a kind of complex metabolic illness characterized by impaired glucose tolerance as well as the alteration of plasma metabolite, in our case triglyceride concentrations. A single bilateral STZ microinjection into other brain areas, such as the VMH, GP or the mdPFC was also observed to cause glucose intolerance and plasma metabolite alterations (Karadi et al., 2004; Nagy et al., 2016). Thus, the involvement in the central

regulation of feeding and metabolism appears to be a general and basic functional attribute of the GM neurons in broad limbic forebrain areas.

It is important to note here that in the healthy organism, multiple neuronal mechanisms of the central nervous system are supposed to participate in the control of feeding and metabolism. Among these, integration of ‘pure’ metabolic (degraded nutrients, amino acids, fatty acids, lactic acid, ketone bodies, various other metabolites, etc.), humoral-hormonal (insulin, leptin, glucagon, GLP-1, etc.), and complex neural information originating from the periphery as well as from various brain regions are of distinguished significance (Karadi et al., 2004; Levin, 2006; Pannacciulli et al., 2007; Rocca and Brubaker, 1999). The physiologically effective metabolism, in addition to other controlling factors, is responsible for maintaining the balance of homeostasis among extremely broad environmental conditions, and the intact central sensing of relevant peripheral signals is especially important in it. This central sensing is manifested by the complex network of the glucose-monitoring neurons whose altered sensitivity or any other malfunctioning may result in severe metabolic disturbances that necessarily lead to serious feeding-metabolic diseases like obesity or diabetes mellitus (Karadi et al., 2004; Levin, 2006).

The above mentioned feeding and metabolic disorders expose a rapidly increasing burden for the modern societies. The therapeutic approaches that these days targeting the peripheral pathology of obesity, diabetes mellitus or metabolic syndrome so far proved to be unsuccessful to resolve all the problems, thus, these diseases, at present, cannot be fully cured yet. We are convinced that this is so because dysfunction or the complete lack of functioning of the central glucose-monitoring neurons is absolutely ignored in the estimation of the above illnesses. It is reasonable to suppose that the intact physiological functioning of these chemosensory cells is one of the indispensable conditions for the maintenance of the homeostatic balance. Our experimental findings, along with data of literature, substantiate and highly support the hypothesis that the central GM neurons monitor and simultaneously affect many relevant functions, such as energy intake and expenditure, thermoregulation, the continuous gating of incoming sensory signals, etc., that determine the actual balance of homeostasis (Garami and Szekely, 2014; Nagy et al., 2016).

Based on all the above, the deficits or disturbances of the CNS regulatory processes are vitally important to take into consideration when the background of these feeding-metabolic diseases is to be elucidated. In case of these CNS control mechanisms, the limbic forebrain constituents of the glucose-monitoring neural network, among them the chemosensory neurons of the mVLPFC are those that can play especially significant adaptive role in the regulatory processes. The better understanding of elementary mechanisms of complex functional attributes of the network may also help us to develop new drug-targets and new therapeutic strategies as well.

It is conceivable that the GM network is hierarchically organized, the individual levels, one above the other, via their reciprocal interconnections can contribute to working out the best adaptive response to environmental challenges, for assuring the biological welfare of the organism. What can be the role of GM neurons in the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex in these vitally important homeostatic processes? Although we are far from being able to give adequate answer to this question, going through briefly the previous and more recent data that have emerged about these chemosensory neurons, it has become obvious that their multiple functional attributes, the complex, endogenous and exogenous chemosensitivities, the capacity of monitoring our internal and external environment, the capability of at least signaling if not controlling perceptual, motivational and behavioral events, and some others also reviewed here, may provide very special regulatory power for them. Nevertheless, it certainly remains for future, perhaps genuinely new experimental approaches to get reasonably closer to the right answer.

Acknowledgments

These studies were supported by Ministry of Human Capacities, National Excellence Programs, SROP-4.2.2/B-10/1-2010-0029, SROP-4.2.1/B-10/2/KONV-2010-0002, SROP-4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 ‘National Excellence Program’, EFOP-3.6.1-16-2016-00004, Ajinomoto Co. (51064/2009), University of Pécs, Medical School, PTE AOK-KA 2013/34039/1, and the Hungarian Academy of Sciences.

This mini-review paper is dedicated to the 650th anniversary of the foundation of the University of Pécs, Hungary.

References

- Adachi, A., Shimizu, N., Oomura, Y., Kobashi, M., 1984. Convergence of hepatoportal glucose-sensitive afferent signals to glucose-sensitive units within the nucleus of the solitary tract. *Neurosci. Lett.* 46, 215–218.
- Adachi, A., Kobashi, M., Miyoshi, N., Tsukamoto, G., 1991. Chemosensitive neurons in the area postrema of the rat and their possible functions. *Brain Res. Bull.* 26, 137–140.
- Adachi, A., Kobashi, M., Funahashi, M., 1995. Glucose-responsive neurons in the brainstem. *Obes. Res.* 3 (Suppl. 5), 735S–740S.
- Anand, B.K., Chhina, G.S., Sharma, K.N., Dua, S., Singh, B., 1964. Activity of single neurons in the hypothalamic feeding centers: effect of glucose. *Am. J. Physiol.* 207, 1146–1154.
- Aou, S., Oomura, Y., Nishino, H., Inokuchi, A., Mizuno, Y., 1983. Influence of catecholamines on reward-related neuronal activity in monkey orbitofrontal cortex. *Brain Res.* 267, 165–170.
- Aou, S., Oomura, Y., Lenard, L., Nishino, H., Inokuchi, A., Minami, T., Misaki, H., 1984. Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain Res.* 302, 69–74.
- Barbas, H., 1993. Organization of cortical afferent input to orbitofrontal areas in the rhesus monkey. *Neuroscience* 56, 841–864.
- Baylis, L.L., Rolls, E.T., 1991. Responses of neurons in the primate taste cortex to glutamate. *Physiol. Behav.* 49, 973–979.
- Baylis, L.L., Rolls, E.T., Baylis, G.C., 1995. Afferent connections of the caudolateral orbitofrontal cortex taste area of the primate. *Neuroscience* 64, 801–812.
- Brodmann, K., 1909. Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde: in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues, Leipzig: Barth.
- Burdakov, D., Luckman, S.M., Verkhatsky, A., 2005. Glucose-sensing neurons of the hypothalamus. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 360, 2227–2235.
- Burdakov, D., 2007. K⁺ channels stimulated by glucose: a new energy-sensing pathway. *Pflügers Arch.* 454, 19–27.
- Carmichael, S.T., Price, J.L., 1995. Sensory and premotor connections of the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* 363, 642–664.
- Carmichael, S.T., Clugnet, M.C., Price, J.L., 1994. Central olfactory connections in the macaque monkey. *J. Comp. Neurol.* 346, 403–434.
- Critchley, H.D., Rolls, E.T., 1996a. Hunger and satiety modify the responses of olfactory and visual neurons in the primate orbitofrontal cortex. *J. Neurophysiol.* 75, 1673–1686.
- Critchley, H.D., Rolls, E.T., 1996b. Olfactory neuronal responses in the primate orbitofrontal cortex: analysis in an olfactory discrimination task. *J. Neurophysiol.* 75, 1659–1672.
- Critchley, H.D., Rolls, E.T., 1996c. Responses of primate taste cortex neurons to the astringent tastant tannic acid. *Chem. Sens.* 21, 135–145.
- Delaere, F., Akaoka, H., De Vadder, F., Duchamp, A., Mithieux, G., 2013. Portal glucose influences the sensory, cortical and reward systems in rats. *Eur. J. Neurosci.* 38, 3476–3486.
- Egyed, R., Lukats, B., Karadi, Z., 2000. Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. *J. Physiol. (Lond.)* 526, 173–174.
- Eichenbaum, H., Shedlack, K.J., Eckmann, K.W., 1980. Thalamocortical mechanisms in odor-guided behavior: I. Effects of lesions of the mediadorsal thalamic nucleus and frontal cortex on olfactory discrimination in the rat. *Brain Behav. Evol.* 17, 255–275.
- Elliott, R., Dolan, R.J., Frith, C.D., 2000. Dissociable functions in the medial and lateral orbitofrontal cortex: evidence from human neuroimaging studies. *Cereb. Cortex* 10, 308–317.
- Freedman, M., Oscar-Berman, M., 1986. Bilateral frontal lobe disease and selective delayed response deficits in humans. *Behav. Neurosci.* 100, 337–342.
- Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S., 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18, 499–502.
- Funahashi, M., Adachi, A., 1993. Glucose-responsive neurons exist within the area postrema of the rat: in vitro study on the isolated slice preparation. *Brain Res. Bull.* 32, 531–535.
- Galosi, R., Hajnal, A., Petyko, Z., Hartmann, G., Karadi, Z., Lenard, L., 2015. The role of catecholamine innervation in the medial prefrontal cortex on the regulation of body weight and food intake. *Behav. Brain Res.* 286, 318–327.
- Ganda, O.P., Rossini, A.A., Like, A.A., 1976. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes* 25, 595–603.
- Garami, A., Szekely, M., 2014. Body temperature: its regulation in framework of energy balance. *Temperature (Austin)* 1, 28–29.
- Garvey, W.T., Huecksteadt, T.P., Birnbaum, M.J., 1989. Pretranslational suppression of

- an insulin-responsive glucose transporter in rats with diabetes mellitus. *Science* 245, 60–63.
- Grill, H.J., Norgren, R., 1978. The taste reactivity test: I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Res.* 143, 263–279.
- Heni, M., Kullmann, S., Ketterer, C., Guthoff, M., Bayer, M., Staiger, H., Machicao, F., Haring, H.U., Preissl, H., Veit, R., Fritsche, A., 2014. Differential effect of glucose ingestion on the neural processing of food stimuli in lean and overweight adults. *Hum. Brain Mapp.* 35, 918–928.
- Heni, M., Kullmann, S., Gallwitz, B., Haring, H.U., Preissl, H., Fritsche, A., 2015. Dissociation of GLP-1 and insulin association with food processing in the brain: GLP-1 sensitivity despite insulin resistance in obese humans. *Mol. Metab.* 4, 971–976.
- Inokuchi, A., Oomura, Y., Shimizu, N., Yamamoto, T., 1986. Central action of glucagon in rat hypothalamus. *Am. J. Physiol.* 250, R120–126.
- Insausti, R., Amaral, D.G., Cowan, W.M., 1987. The entorhinal cortex of the monkey: II. Cortical afferents. *J. Comp. Neurol.* 264, 356–395.
- Ishibashi, S., Oomura, Y., Okajima, T., 1979. Facilitatory and inhibitory effects of TRH on lateral hypothalamic and ventromedial neurons. *Physiol. Behav.* 22, 785–787.
- Johnson, T.N., Rosvold, H.E., Mishkin, M., 1968. Projections from behaviorally-defined sectors of the prefrontal cortex to the basal ganglia, septum, and diencephalon of the monkey. *Exp. Neurol.* 21, 20–34.
- Jordan, S.D., Konner, A.C., Bruning, J.C., 2010. Sensing the fuels: glucose and lipid signaling in the CNS controlling energy homeostasis. *Cell. Mol. Life Sci.* 67, 3255–3273.
- Kadowaki, T., Kasuga, M., Akanuma, Y., Ezaki, O., Takaku, F., 1984. Decreased autophosphorylation of the insulin receptor-kinase in streptozotocin-diabetic rats. *J. Biol. Chem.* 259, 14208–14216.
- Kang, L., Routh, V.H., Kuzhikandathil, E.V., Gaspers, L.D., Levin, B.E., 2004. Physiological and molecular characteristics of rat hypothalamic ventromedial nucleus glucosensing neurons. *Diabetes* 53, 549–559.
- Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Scott, T.R., Lenard, L., Aou, S., 1988. Lateral hypothalamic and amygdaloid neuronal responses to chemical stimuli in the rhesus monkey. In: Morita, H. (Ed.), *Proceedings 22nd Japanese Symposium on Taste and Smell*. Asahi University Press, Gifu, pp. 121–124.
- Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Scott, T.R., Lenard, L., Aou, S., 1992. Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. *J. Neurophysiol.* 67, 389–400.
- Karadi, Z., Faludi, B., Hernadi, I., Lenard, L., 1995a. Role of forebrain glucose-monitoring neurons in the central control of feeding: II. Complex functional attributes. *Neurobiology (Bp)* 3, 241–256.
- Karadi, Z., Faludi, B., Lenard, L., Czurko, A., Niedetzky, C., Vida, I., Nishino, H., 1995b. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. *Brain Res. Bull.* 37, 157–162.
- Karadi, Z., Scott, T.R., Oomura, Y., Nishino, H., Aou, S., Lenard, L., 1998. Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 855, 488–492.
- Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., Takacs, G., Egyed, R., Lenard, L., 2004. The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. *Int. Congr. Ser.* 1269, 30–33.
- Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., Szalay, C., Egyed, R., Lenard, L., Takacs, G., 2005. Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem. Sens.* 30 (Suppl. 1), i168–169.
- Kemp, J.M., Powell, T.P., 1970. The cortico-striate projection in the monkey. *Brain* 93, 525–546.
- Keszthelyi, Z., Past, T., Lukats, B., Koltai, K., Karadi, Z., 2004. The central effect of chromium on glucose metabolism. *Pharmacopsychiatry* 37, 242.
- Kheramin, S., Body, S., Ho, M.Y., Velazquez-Martinez, D.N., Bradshaw, C.M., Szabadi, E., Deakin, J.F., Anderson, I.M., 2004. Effects of orbital prefrontal cortex dopamine depletion on inter-temporal choice: a quantitative analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 175, 206–214.
- Kohno, D., Koike, M., Ninomiya, Y., Kojima, I., Kitamura, T., Yada, T., 2016. Sweet taste receptor serves to activate glucose- and leptin-responsive neurons in the hypothalamic arcuate nucleus and participates in glucose responsiveness. *Front. Neurosci.* 10, 502.
- Kolb, B., 1984. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res.* 320, 65–98.
- Kolb, B., 1990. Animal models for human PFC-related disorders. *Prog. Brain Res.* 85, 501–519.
- Kong, D., Vong, L., Parton, L.E., Ye, C., Tong, Q., Hu, X., Choi, B., Bruning, J.C., Lowell, B.B., 2010. Glucose stimulation of hypothalamic MCH neurons involves K(ATP) channels, is modulated by UCP2, and regulates peripheral glucose homeostasis. *Cell Metab.* 12, 545–552.
- Kullmann, S., Frank, S., Heni, M., Ketterer, C., Veit, R., Haring, H.U., Fritsche, A., Preissl, H., 2013. Intranasal insulin modulates intrinsic reward and prefrontal circuitry of the human brain in lean women. *Neuroendocrinology* 97, 176–182.
- Kuriyama, K., Hori, T., Mori, T., Nakashima, T., 1990. Actions of interferon alpha and interleukin-1 beta on the glucose-responsive neurons in the ventromedial hypothalamus. *Brain Res. Bull.* 24, 803–810.
- Laffitte, A., Neiers, F., Briand, L., 2014. Functional roles of the sweet taste receptor in oral and extraoral tissues. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 17, 379–385.
- Lenard, L., Hahn, Z., 1982. Amygdalar noradrenergic and dopaminergic mechanisms in the regulation of hunger and thirst-motivated behavior. *Brain Res.* 233, 115–132.
- Lenard, L., Karadi, Z., 2012. Regulatory processes of hunger motivated behavior. *Acta Biol. Hung.* 63 (Suppl. 1), 80–88.
- Lenard, L., Hahn, Z., Karadi, Z., 1982. Body weight changes after neurochemical manipulations of lateral amygdala: noradrenergic and dopaminergic mechanisms. *Brain Res.* 249, 95–101.
- Lenard, L., Karadi, Z., Jando, G., Yoshimatsu, H., Hajnal, A., Sandor, P., Oomura, Y., 1991. Feeding and body-weight regulation after 6-OHDA application into the pre-optic area. *Brain Res. Bull.* 27, 359–365.
- Lenard, L., Karadi, Z., Faludi, B., Czurko, A., Niedetzky, C., Vida, I., Nishino, H., 1995. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res. Bull.* 37, 149–155.
- Levin, B.E., Routh, V.H., Kang, L., Sanders, N.M., Dunn-Meynell, A.A., 2004. Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes* 53, 2521–2528.
- Levin, B.E., Magnan, C., Dunn-Meynell, A., Le Foll, C., 2011. Metabolic sensing and the brain: who, what, where, and how? *Endocrinology* 152, 2552–2557.
- Levin, B.E., 2002. Metabolic sensors: viewing glucosensing neurons from a broader perspective. *Physiol. Behav.* 76, 397–401.
- Levin, B.E., 2006. Metabolic sensing neurons and the control of energy homeostasis. *Physiol. Behav.* 89, 486–489.
- Like, A.A., Rossini, A.A., 1976. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science* 193, 415–417.
- Lukats, B., Egyed, R., Karadi, Z., 2005a. Single neuron activity changes to interleukin-1beta in the orbitofrontal cortex of the rat. *Brain Res.* 1038, 243–246.
- Lukats, B., Egyed, R., Lenard, L., Karadi, Z., 2005b. Homeostatic alterations induced by interleukin-1beta microinjection into the orbitofrontal cortex in the rat. *Appetite* 45, 137–147.
- Lukats, B., Egyed, R., Papp, S., Takacs, G., Szalay, C., Lenard, L., Karadi, Z., 2006. Involvement of the orbitofrontal cortical IL-1 β mechanisms in the central homeostatic control. *Int. Congr. Ser.* 1291, 137–140.
- Lukats, B., Inoue, T., Mizuno, M., Papp, S., Takacs, G., Szalay, C., Egyed, R., Lenard, L., Oomura, Y., Karadi, Z., Aou, S., 2007. Electrophysiological and behavioral evidences of the feeding-related neuronal processes in the orbitofrontal cortex. *Int. Congr. Ser.* 1301, 230–233.
- Marston, O.J., Hurst, P., Evans, M.L., Burdakov, D.I., Heisler, L.K., 2011. Neuropeptide Y cells represent a distinct glucose-sensing population in the lateral hypothalamus. *Endocrinology* 152, 4046–4052.
- May, A.A., Woods, S.C., 2015. Is endogenous GLP-1 a major influence on the orbitofrontal cortex? *Mol. Metab.* 4, 977–978.
- Minami, T., Oomura, Y., Sugimori, M., 1986. Electrophysiological properties and glucose responsiveness of guinea-pig ventromedial hypothalamic neurones in vitro. *J. Physiol.* 380, 127–143.
- Mizuno, Y., Oomura, Y., 1984. Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study. *Brain Res.* 307, 109–116.
- Morcrafft, R.J., Geula, C., Mesulam, M.M., 1992. Cytoarchitecture and neural afferents of orbitofrontal cortex in the brain of the monkey. *J. Comp. Neurol.* 323, 341–358.
- Moskowitz, H.R., Kumraiah, V., Sharma, K.N., Jacobs, H.L., Sharma, S.D., 1976. Effects of hunger, satiety and glucose load upon taste intensity and taste hedonics. *Physiol. Behav.* 16, 471–475.
- Nagy, B., Papp, S., Takacs, G., Szalay, C., Keresztes, D., Hideg, B., Farago, B., Nemeth, L., Csulak, T., Hanna, S., Karadi, Z., 2010. Taste responsiveness of glucose-monitoring neurons in the mediadorsal prefrontal cortex. *Acta Physiol. Hung.* 97 (1), 125.
- Nagy, B., Szabo, I., Papp, S., Takacs, G., Szalay, C., Karadi, Z., 2012a. Glucose-monitoring neurons in the mediadorsal prefrontal cortex. *Brain Res.* 1444, 38–44.
- Nagy, B., Takacs, G., Szabo, I., Lenard, L., Karadi, Z., 2012b. Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediadorsal prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 234, 228–232.
- Nagy, B., Szabo, I., Csetenyi, B., Hormay, E., Papp, S., Keresztes, D., Karadi, Z., 2014. Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediadorsal prefrontal cortex. *Brain Res.* 1543, 159–164.
- Nagy, B., Szabo, I., Takacs, G., Csetenyi, B., Hormay, E., Karadi, Z., 2016. Impaired glucose tolerance after streptozotocin microinjection into the mediadorsal prefrontal cortex of the rat. *Acta Physiol. Hung.* 103, 403–412.
- Nakano, Y., Oomura, Y., Nishino, H., Aou, S., Yamamoto, T., Nemoto, S., 1984. Neuronal activity in the medial orbitofrontal cortex of the behaving monkey: modulation by glucose and satiety. *Brain Res. Bull.* 12, 381–385.
- Nakano, Y., Oomura, Y., Lenard, L., Nishino, H., Aou, S., Yamamoto, T., Aoyagi, K., 1986. Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala. *Brain Res.* 399, 167–172.
- Nakano, Y., Lenard, L., Oomura, Y., Nishino, H., Aou, S., Yamamoto, T., 1987. Functional involvement of catecholamines in reward-related neuronal activity of the monkey amygdala. *J. Neurophysiol.* 57, 72–91.
- Nonneman, A.J., Kolb, B.E., 1974. Lesions of hippocampus or prefrontal cortex alter species-typical behaviors in the cat. *Behav. Biol.* 12, 41–54.
- Oomura, Y., Yoshimatsu, H., 1984. Neural network of glucose monitoring system. *J. Auton. Nerv. Syst.* 10, 359–372.
- Oomura, Y., Kimura, K., Ooyama, H., Maeno, T., Iki, M., Kuniyoshi, M., 1964. Reciprocal activities of the ventromedial and lateral hypothalamic areas of cats. *Science* 143, 484–485.
- Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., Wayner, M.J., 1969. Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature* 222, 282–284.
- Oomura, Y., 1980. Input-output organization of the hypothalamus relating to food intake behavior. In: Morgane, P.J., Panksepp, Jaak (Eds.), *Handbook of the Hypothalamus*. Marcel Dekker, New York, pp. 557–620.
- Oomura, Y., 1988. Chemical and neuronal control of feeding motivation. *Physiol. Behav.* 44, 555–560.
- Pandya, D.N., Van Hoesen, G.W., Mesulam, M.M., 1981. Efferent connections of the cingulate gyrus in the rhesus monkey. *Exp. Brain Res.* 42, 319–330.
- Pannacciuilli, N., Le, D.S., Salbe, A.D., Chen, K., Reiman, E.M., Tataranni, P.A., Krakoff, J., 2007. Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans. *Neuroimage* 35, 511–517.

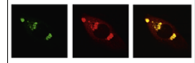
- Papp, S., Lukács, B., Takács, G., Rábai, M., Szalay, C., Karádi, Z., 2005a. Endogenous and exogenous chemosensitivity of feeding-related limbic neurons. *Acta Physiol. Hung.* 92 (3–4), 292–293.
- Papp, S., Lukács, B., Takács, G., Szalay, C., Rábai, M., Karádi, Z., 2005b. Multiple chemosensitivity of feeding-associated neurons in the limbic forebrain. *Clin. Neurosci.* 58 (Suppl. 1), 74–75.
- Papp, S., Lukacs, B., Takacs, G., Szalay, C., Karadi, Z., 2007. Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *Neuroreport* 18, 1561–1565.
- Paxinos, G.W.C., 1997. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press Inc.
- Pritchard, T.C., Edwards, E.M., Smith, C.A., Hilgert, K.G., Gavlick, A.M., Maryniak, T.D., Schwartz, G.J., Scott, T.R., 2005. Gustatory neural responses in the medial orbitofrontal cortex of the old world monkey. *J. Neurosci.* 25, 6047–6056.
- Rakieten, N., Rakieten, M.L., Nadkarni, M.R., 1963. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother. Rep.* 29, 91–98.
- Ren, X., Zhou, L., Terwilliger, R., Newton, S.S., de Araujo, I.E., 2009. Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor. *Front. Integr. Neurosci.* 3, 12.
- Rocca, A.S., Brubaker, P.L., 1999. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology* 140, 1687–1694.
- Rolls, E.T., Baylis, L.L., 1994. Gustatory, olfactory, and visual convergence within the primate orbitofrontal cortex. *J. Neurosci.* 14, 5437–5452.
- Rolls, E.T., Grabenhorst, F., 2008. The orbitofrontal cortex and beyond: from affect to decision-making. *Prog. Neurobiol.* 86, 216–244.
- Rolls, E.T., Sienkiewicz, Z.J., Yaxley, S., 1989. Hunger modulates the responses to gustatory stimuli of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey. *Eur. J. Neurosci.* 1, 53–60.
- Rolls, E.T., Yaxley, S., Sienkiewicz, Z.J., 1990. Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey. *J. Neurophysiol.* 64, 1055–1066.
- Rolls, E.T., Critchley, H.D., Mason, R., Wakeman, E.A., 1996a. Orbitofrontal cortex neurons: role in olfactory and visual association learning. *J. Neurophysiol.* 75, 1970–1981.
- Rolls, E.T., Critchley, H.D., Wakeman, E.A., Mason, R., 1996b. Responses of neurons in the primate taste cortex to the glutamate ion and to inosine 5'-monophosphate. *Physiol. Behav.* 59, 991–1000.
- Rolls, E.T., 1989. Information processing in the taste system of primates. *J. Exp. Biol.* 146, 141–164.
- Rolls, E.T., 1997. Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. *Crit. Rev. Neurobiol.* 11, 263–287.
- Rolls, E.T., 2008. Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion. *Acta Physiol. Hung.* 95, 131–164.
- Rolls, E.T., 2011. Taste, olfactory and food texture reward processing in the brain and obesity. *Int. J. Obes. (Lond)* 35, 550–561.
- Routh, V.H., 2003. Glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus (VMN) and hypoglycemia-associated autonomic failure (HAAF). *Diabetes Metab. Res. Rev.* 19, 348–356.
- Shimizu, N., Oomura, Y., Sakata, T., 1984. Modulation of feeding by endogenous sugar acids acting as hunger or satiety factors. *Am. J. Physiol.* 246, R542–550.
- Song, Z., Levin, B.E., McArdle, J.J., Bakhos, N., Routh, V.H., 2001. Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes* 50, 2673–2681.
- Sun, X., Veldhuizen, M.G., Wray, A.E., de Araujo, I.E., Sherwin, R.S., Sinha, R., Small, D.M., 2014. The neural signature of satiation is associated with ghrelin response and triglyceride metabolism. *Physiol. Behav.* 136, 63–73.
- Szabo, I., Nagy, B., Csetenyi, B., Hormay, E., Bajnok Gore, M., Karadi, Z., 2013. Complex functional attributes of neurons in the orbitofrontal cortex (in Hungarian). In: Szabó, I. (Ed.), 2nd Interdisciplinary Doctoral Conference. Pécs, Hungary. pp. 435–443.
- Szabo, I., Hormay, E., Csetenyi, B., Nagy, B., Bajnok Gore, M., Karadi, Z., 2014. Complex functional attributes of glucose-monitoring neurons in medial orbitofrontal cortex and their homeostatic significance. *Acta Physiol.* 2011 (697), 150.
- Szabo, I., Hormay, E., Csetenyi, B., Torda, V., Toth, M., Karadi, Z., 2015. Complex functional attributes of orbitofrontal cortical glucose-monitoring neurons. *Obesitol. Hung.* 14 (Suppl. 2), 58.
- Szabo, I., Hormay, E., Csetenyi, B., Nagy, B., Karadi, Z., 2017. Glucose-monitoring neurons of the medial ventrolateral prefrontal (orbitofrontal) cortex are involved in the maintenance of homeostasis (in Hungarian). *Orv. Hetil.* 158, 692–700.
- Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50, 537–546.
- Takacs, G., Lukats, B., Papp, S., Szalay, C., Karadi, Z., 2008. Taste reactivity alterations after IL-1beta microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat. *Neurosci. Res.* 62, 118–122.
- Takacs, G., Papp, S., Lukats, B., Szalay, C., Nagy, B., Fotakos, D., Karadi, Z., 2010. Homeostatic alterations after IL-1beta microinjection into the nucleus accumbens of the rat. *Appetite* 54, 354–362.
- Takagi, S.F., 1979. Dual systems for sensory olfactory processing in higher primates. *Trends Neurosci.* 2, 313–315.
- Tanabe, T., Yarita, H., Iino, M., Ooshima, Y., Takagi, S.F., 1975. An olfactory projection area in orbitofrontal cortex of the monkey. *J. Neurophysiol.* 38, 1269–1283.
- Tataranni, P.A., Gautier, J.F., Chen, K., Uecker, A., Bandy, D., Salbe, A.D., Pratley, R.E., Lawson, M., Reiman, E.M., Ravussin, E., 1999. Neuroanatomical correlates of hunger and satiation in humans using positron emission tomography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 4569–4574.
- Vogt, B.A., Pandya, D.N., 1987. Cingulate cortex of the rhesus monkey: II. Cortical afferents. *J. Comp. Neurol.* 262, 271–289.
- Welcome, M.O., Mastorakis, N.E., Pereverzev, V.A., 2015. Sweet taste receptor signaling network: possible implication for cognitive functioning. *Neurol. Res. Int.* 2015, 606479.
- Yamaguchi, S., 1998. Basic properties of umami and its effects on food flavor. *Food Rev. Int.* 14, 139–176.
- Zeeb, F.D., Floresco, S.B., Winstanley, C.A., 2010. Contributions of the orbitofrontal cortex to impulsive choice: interactions with basal levels of impulsivity, dopamine signalling, and reward-related cues. *Psychopharmacology (Berl)* 211, 87–98.

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/brainres

Brain Research



Research Report

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



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

Pécs University, Medical School, Institute of Physiology, and Molecular Neurophysiology Research Group, Pécs University Szentágothai Research Center, Pécs, Hungary

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 9 November 2013

Available online 16 November 2013

Keywords:

Glucose-monitoring neuron
Mediodorsal prefrontal cortex
Noradrenaline
Acetylcholine

ABSTRACT

The mediodorsal prefrontal cortex (mdPFC), as part of the forebrain glucose-monitoring (GM) system, plays important role in several regulatory processes to control the internal state of the organism and to initiate behavioral outputs accordingly. Little is known, however, about the neurochemical sensitivity of neurons located in this area. Substantial evidence indicates that the locus ceruleus – noradrenaline (NA) projection system and the nucleus basalis magnocellularis – cholinergic projection system regulate behavioral state and state dependent processing of sensory information, various cognitive functions already associated with the mdPFC. The main goal of the present study was to examine noradrenergic and cholinergic responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive (GIS) neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. One fifth of the neurons tested changed in firing rate to microelectrophoretically applied NA. Responsiveness of the GM cells to this catecholamine proved to be significantly higher than that of the GIS units. Microiontophoretic application of acetylcholine (ACh) resulted in activity changes (predominantly facilitation) of more than 40% of the mdPFC neurons. Proportion of ACh sensitive units among the GM and the GIS neurons was found to be similar. The glucose-monitoring neurons of the mdPFC and their distinct NA and remarkable ACh sensitivity are suggested to be of particular significance in prefrontal control of adaptive behaviors.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The prefrontal cortex (PFC) plays important role in many regulatory processes, including cognitive functions, attention, decision making, working memory, and the control of motivated

behaviors such as the food and fluid intake (Baldwin et al., 2002; Cardinal et al., 2002; Dalley et al., 2004; Heidbreder and Groenewegen, 2003; Kolb and Nonneman, 1975; Kolb, 1984, 1990; Morgane et al., 2005). The prefrontal cortex performs its complex roles via multiple interrelationships with forebrain and

Abbreviations: NA, noradrenaline; Ach, acetylcholine; DA, dopamine; GM, glucose-monitoring; GIS, glucose-insensitive; MB, methylene-blue; mdPFC, mediodorsal prefrontal cortex; PFC, prefrontal cortex; LC, locus ceruleus; NBM, nucleus basalis magnocellularis

*Correspondence to: Pécs University, Medical School, Institute of Physiology, Szigeti str.12, Pécs H-7624, Hungary. Fax: +36 72536424.

E-mail address: bernadett.nagy@aok.pte.hu (B. Nagy).

brainstem areas (Kolb, 1984). Our previous results showed that one fourth of the neurons in the mediodorsal prefrontal cortex (mdPFC) changed in firing rate in response to glucose, thus, these cells proved to be elements of the central glucose-monitoring (GM) neural network (Nagy et al., 2012a). Constituents of this hierarchically organized network (hypothalamus, amygdala, nucleus accumbens, globus pallidus, orbitofrontal cortex, mdPFC) integrate neurochemical and other signals from the periphery, from the local brain milieu and signals arriving via projections from other brain areas (Aou et al., 1984; Karadi et al., 1992, 2004; Lénárd and Karádi, 2012; Oomura et al., 1969; Papp et al., 2007).

Several neuromodulatory pathways converge in the mPFC, among others, the locus ceruleus (LC) – noradrenaline (NA) projection system and the nucleus basalis magnocellularis (NBM) – cholinergic projection system (Chandler and Waterhouse, 2012; Condes-Lara, 1998; Porrino and Goldman-Rakic, 1982) as well. The LC is the primary source of noradrenergic innervation of the forebrain and the PFC (Berridge and Waterhouse, 2003; Chandler and Waterhouse, 2012) in it. This cortical area has been demonstrated to play important role in the modulation of sensory processing, arousal, cognitive and other behavioral processes (Aston-Jones and Cohen, 2005; Devilbiss and Waterhouse, 2004; Devilbiss et al., 2006). A variety of appetitive and aversive stimuli elicit increases in LC discharge activity, and increased NA output from the LC is reportedly correlated with enhanced transmission of sensory signals. The NA release increases the ability to process relevant or salient stimuli – via actions on sensory, attention, memory and motor processes – while suppressing responses to irrelevant stimuli (Berridge and Waterhouse, 2003).

Electrophysiological and lesion analysis studies support the hypothesis that acetylcholine (ACh) is also important in significance associated evaluation of sensory information, and this “classic” neurotransmitter was also shown to improve the “signal-to-noise” ratio of the incoming sensory information (Sarter and Bruno, 2000; Wenk, 1997; Wilson and Rolls, 1990a, 1990b). The NBM cholinergic system is supposed to be involved in the control of attention processes, such as the control of shifting attention towards potentially more important sensory stimuli that predict biologically relevant events, such as, e.g. the availability of food reward.

Considering the above, it is proposed that the mediodorsal prefrontal cortex, as integral part of the forebrain glucose-monitoring neural network, accomplishes its complex roles by means of, at least in part, the integration of its noradrenergic and cholinergic inputs. In the present experiments, therefore, we aimed to examine the impact of noradrenaline and acetylcholine on the discharge rate of mdPFC neurons. To identify GM neurons here, and to estimate their modulation by the NA and ACh circuitries, the extracellular single neuron activity of the mediodorsal prefrontal cortex of anesthetized Wistar and Sprague-Dawley rats was recorded by means of tungsten wire multibarreled glass microelectrodes during microiontophoretic administration of D-glucose, NA and ACh.

2. Results

Activity changes of altogether 230 neurons have been recorded in the Wistar and Sprague-Dawley rat mdPFC. The mean

spontaneous firing rates in the two strains were 2.2 ± 0.2 and 2.3 ± 0.3 spikes/s, respectively. Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of mdPFC neurons was examined during microiontophoretic administration of these neurotransmitters. Results of the neurochemical stimulations are summarized in Table 1. Thirty-seven (18.4%) of 201 mdPFC cells showed responsiveness to NA. The proportion of excitatory (19, 9.4%) and inhibitory (18, 8.9%) activity changes was almost the same.

ACh responsiveness of 177 cells was examined in the rodent mdPFC. Microiontophoretic application of ACh resulted in firing rate changes of 75 neurons (42.4%). The predominant response to this neurotransmitter was facilitation (65 of the 75 ACh-sensitive neurons, 86.7%), however, definite inhibitory activity changes were also detected (10/13.3% of the 75 neurons).

Table 2 demonstrates distinct NA responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive (GIS) neurons in the mdPFC. Nineteen (46.3%) of the 41 g units, whereas only 18 (11.2%) of the 160 GIS neurons displayed discharge rate changes to this neurotransmitter, so that NA responsiveness of the GM cells was found to be significantly higher than that of the glucose-insensitive units ($p < 0.001$; χ^2 test). Results of the ACh administrations are summarized in Table 3. The proportion of ACh-responsive GM (45.1%) and GIS neurons (41.7%) proved to be almost the same. Majority of the individual glucose-monitoring and glucose-insensitive cells were tested for sensitivity to both NA and ACh (Table 4). Firing rate changes of two characteristic mdPFC neurons responding to various neurochemicals are shown in Fig. 1.

The ejection current-dependent response characteristics to the micro-electrophoretically administered NA and ACh are demonstrated in Fig. 2. Higher current intensities resulted in significantly larger firing rate changes of cells of the responsive groups in the case of both neurotransmitters ($*p < 0.05$, $^{\#}p < 0.001$, Wilcoxon test).

As far as the topographic location of the NA and ACh-responsive units within the mdPFC is concerned, similar to the topography of the GM neurons (Nagy et al., 2012a), the various types of neurons with characteristic neurochemical sensitivities were found to be quite homogeneously distributed within the examined area in both rat strains.

3. Discussion

Data obtained in the current experiments provided evidence for the NA and ACh sensitivity of glucose-monitoring neurons in the mdPFC. Although these feeding-associated chemosensory neurons have already been identified in several other brain regions, and the majority of these cells were shown to

Table 1 – Effect of microelectrophoretically applied noradrenaline and acetylcholine on rat mdPFC neurons.

	Noradrenaline	Acetylcholine
↑	19	65
↓	18	10
∅	164	102
Total	201	177

↑: excitatory response; ↓: inhibitory response; ∅: no response.

have special neurochemical sensitivity (Karadi et al., 1989, 1992; Lenard et al., 1989, 1995; Lénárd and Karádi, 2012; Nakano et al., 1986; Oomura, 1980; Papp et al., 2007), this is the first systematic study to demonstrate noradrenergic and cholinergic responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex.

The GM neurons are known to integrate a broad variety of information relevant with respect to the maintenance of homeostasis (various endogenous and exogenous signals, sensory-motor and perceptual-motivational, learning and memory mechanisms) to control food and fluid intake and metabolism (Aou et al., 1984; Karadi et al., 1992, 1995, 2005; Nakano et al., 1986; Oomura, 1980). These regulatory processes are the target of inputs from modulatory neurotransmitter systems.

Our previous results proved that GM units in the mdPFC were more likely to change in activity in response to microiontophoretically administered dopamine (DA) than the GIS cells were (Nagy et al., 2012a). Since previous data showed that NA and Ach are also functional neurotransmitters in the

mdPFC, it was reasonable to suppose that GM neurons in this structure possess distinct sensitivity not only to DA, but also to other physiologically important neurotransmitters, like NA and Ach.

Indeed, as a major finding of the present experiments, distinct NA sensitivity of the mdPFC GM neurons has been elucidated: proportion of the NA-responsive neurons among the GM cells was found to be significantly higher than that among the glucose-insensitive units. As far as cholinergic modulation of the mdPFC cells is concerned, remarkable effect of Ach was observed with predominantly excitatory firing rate changes. When comparing the neuronal sensitivities, there was no significant difference in the Ach responsiveness of the GM and GIS cells.

Our present findings are in concordance with previous results demonstrating high noradrenaline, DA and Ach responsiveness of the GM neurons in the lateral hypothalamic area, globus pallidus and amygdala (Karadi et al., 1989, 1992; Lenard et al., 1989, 1995).

The dense noradrenergic and cholinergic innervation of the PFC (Chandler and Waterhouse, 2012) has already been indicated to play important roles in a variety of regulatory processes, in executive, sensory, attention and cognitive functions (Dalley et al., 2004). The LC-noradrenergic system has impact on neural circuits involved in the collection and processing of sensory information by enhancing transmission of sensory signals, even this way improving cognitive functions (Berridge and Waterhouse, 2003). NA has already been shown to modulate sensitivity of hypothalamic neurons to other neurotransmitter inputs (Sessler et al., 1988; Waterhouse et al., 1988). Based on our present findings, similar gating function of noradrenergic neurotransmission can be hypothesized in the mdPFC as well. Previous studies showed that noradrenergic, but not cholinergic deafferentation of the prefrontal cortex impairs attention set-shifting (McGaughy et al., 2008). Noradrenergic lesions in this area, however, did not alter the ability of rats to ignore irrelevant stimuli. As far as cholinergic modulation of these functions are concerned, the cortical Ach inputs were shown to be essential for the detection, selection (discriminate significant stimuli from irrelevant stimuli or background noise) and processing of stimuli and their associations. Cholinergic inputs of the medial PFC are especially important in sustained attention performance and in shifting attention towards relevant sensory stimuli that predict a biologically important event, such as, e.g. the availability of a food reward (Sarter and Bruno, 2000; Wenk, 1997).

Table 2 – NA responsiveness of GM and GIS neurons in the rat mdPFC.

	NA↑↓	NA↑	NA↓	NAØ
GM	19*	11	8	22
GIS	18	8	10	142
Total	37	19	18	164

GM: glucose-monitoring neuron; GIS: glucose-insensitive neuron; NA↑↓: NA-responsive neuron; NA↑: excitatory response to NA; NA↓: inhibitory response to NA; NAØ: NA-nonresponsive neuron; * $p < 0.001$ (χ^2 test).

Table 3 – Ach responsiveness of GM and GIS neurons in the rat mdPFC.

	Ach↑↓	Ach↑	Ach↓	AchØ
GM	14	11	3	17
GIS	61	54	7	85
Total	75	65	10	102

GM: glucose-monitoring neuron; GIS: glucose-insensitive neuron; Ach↑↓: Ach-responsive neuron; Ach↑: excitatory response to Ach; Ach↓: inhibitory response to Ach; AchØ: Ach-nonresponsive neuron.

Table 4 – Sensitivity of GM and GIS neurons of mdPFC to both NA and Ach.

	DA↑↓AchØ	Ach↑↓DAØ	DA↑↓Ach↑↓	AchØDAØ	Total
GM	6	10	3	10	29
GIS	5	51	11	78	145
Total	11	61	14	88	174

GM: glucose-monitoring neuron; GIS: glucose-insensitive neuron; DA↑↓AchØ: DA-responsive and Ach-nonresponsive neuron; Ach↑↓DAØ: Ach-responsive and DA-nonresponsive neuron; DA↑↓Ach↑↓: DA and Ach-responsive neuron; AchØDAØ: Ach and DA nonresponsive neuron.

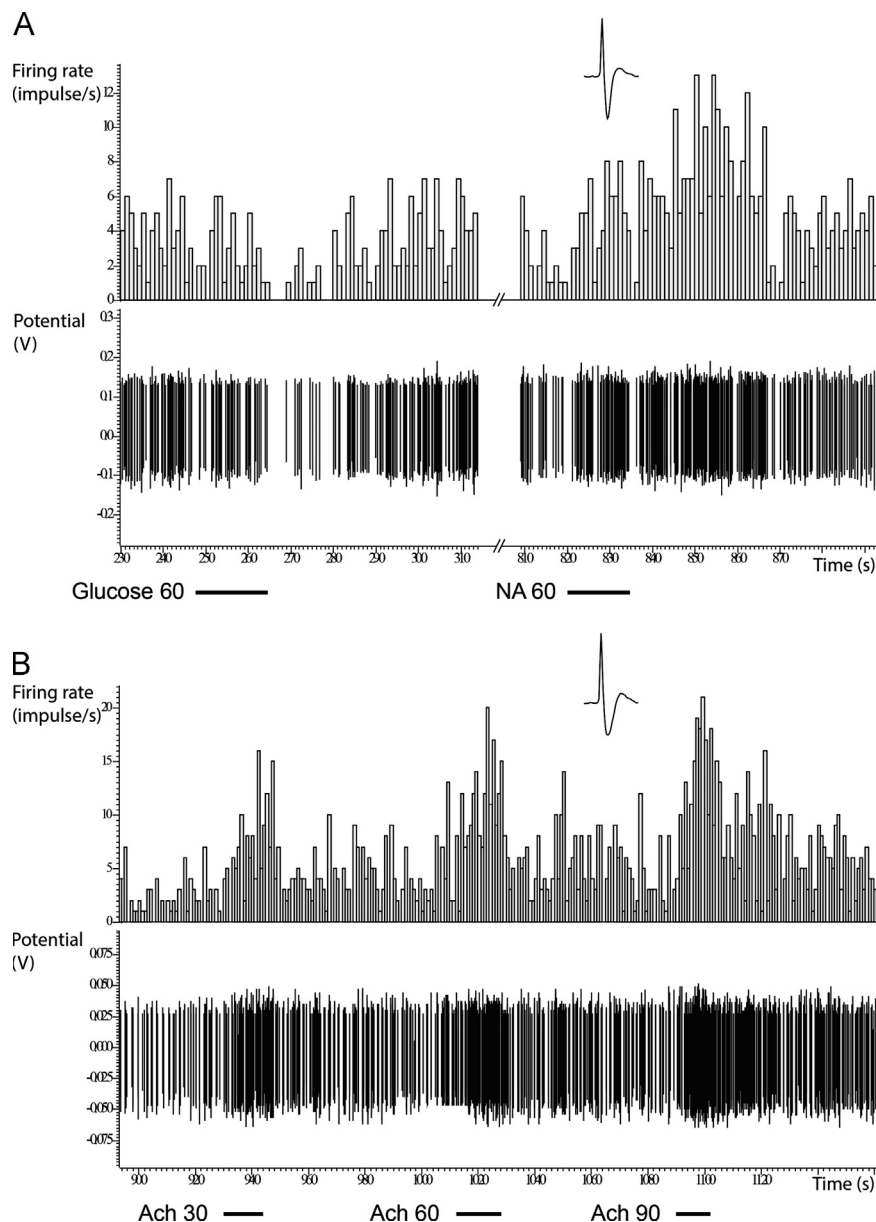


Fig. 1 – Responses of two mdPFC neurons to microiontophoretic application of chemicals. (A) glucose-sensitive cell inhibited by D-glucose and excited by NA; (B) dose-dependent excitatory responses elicited by Ach. Spike insets, characteristic action potentials. Horizontal lines and numbers, duration of drug application and ejection current intensities in nA, respectively. Abscissa, time in s; ordinate, firing rate in spikes/s and potential in mV, respectively.

Substantiating the homeostatic significance of chemosensory cells of various brain areas (ventromedial hypothalamus, globus pallidus, orbitofrontal prefrontal cortex), evidence has been accumulated for their selective destruction cause severe deficits of ingestive behavior, taste perception and metabolism (Egyed et al., 2000; Karadi et al., 2004, 2005; Nagy et al., 2012b). It is of particular significance that GM neurons have been found at this high cortical level of neuronal information processing. The GM neurons may play distinguished role in the regulatory functions of the mdPFC. These complex control mechanisms are utilized in harmony with the specific activity patterns of individual constituents of the hierarchically organized forebrain GM neuronal network. The noradrenergic and cholinergic inputs of the mdPFC are suggested

to play significant role in these coordinated regulatory processes. The mediodorsal prefrontal cortical GM neurons were also demonstrated to integrate several homeostatically relevant endogenous and exogenous signals. These chemosensory neurons at this high decision making level of the nervous system, by utilizing their remarkable and differential NA and Ach sensitivities, are supposed to play significant role in the dynamic neural control of sensory, attention and cognitive determinants of adaptive behaviors, like food and fluid intake.

To elucidate details of complex neurochemical attributes of the glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mdPFC, including their specific receptor mechanisms, further studies are required.

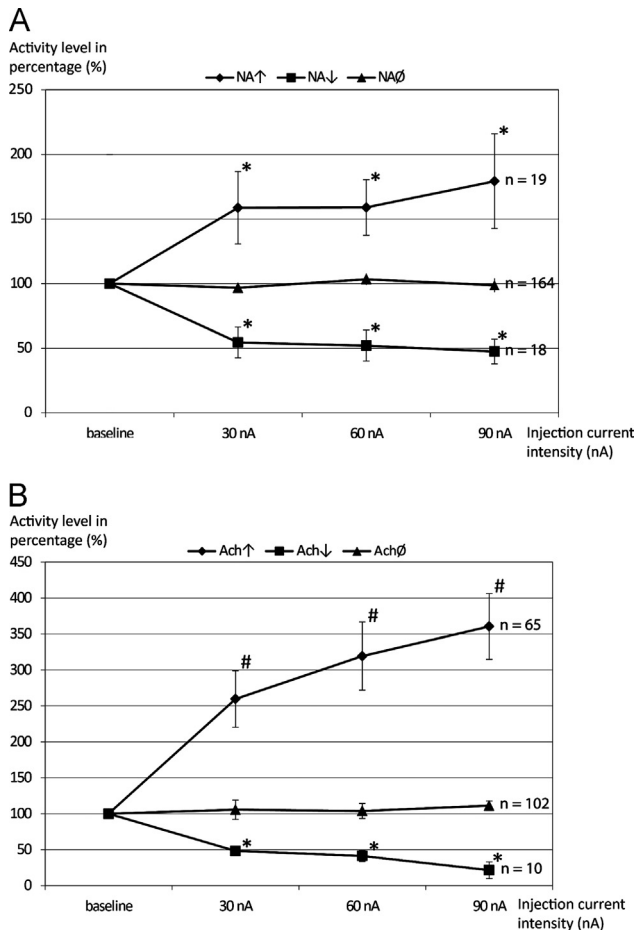


Fig. 2 – Current response curves showing the magnitude of the neurotransmitter elicited neuronal responses (mean \pm SEM) in percentage of baseline firing rate for 3 representative ejection current intensities (30 nA, 60 nA, 90 nA, respectively). NA \uparrow : neurons excited by NA; NA \downarrow : neurons inhibited by NA; NA \emptyset : NA-nonresponsive cells; Ach \uparrow : neurons excited by Ach; Ach \downarrow : neurons inhibited by Ach; Ach \emptyset : Ach-nonresponsive cells. * $p < 0.05$, # $p < 0.001$, Wilcoxon test.

4. Conclusion

Our results provided evidence for distinct neurochemical attributes of special chemosensory neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. It is supposed that these GM cells of the mdPFC, as important constituents of the forebrain glucose-monitoring neural network, accomplish multiple functional roles by utilizing modulatory effects of the prefrontal noradrenergic and cholinergic circuitries.

5. Experimental procedures

Thirty-nine Wistar, and nineteen Sprague-Dawley male laboratory rats (weighing 300–380 g) were used in these experiments. Individually caged animals were kept and cared for in accordance with institutional, national and international regulations (BA02/2000–8/2012, Pécs University, Medical School; Law XXVIII, 1998; Gvmnt. Decree 2013, Hungary; European

Community Council Directive 86/609/EEC, 1986, 2006, 2010; NIH Guidelines, 1997).

Microelectrophysiological experiment was performed in the rat as previously described (Nagy et al., 2012a). Briefly, animals were anesthetized by i.p. injection of urethane (0.6 ml/100 g body weight, 25% fresh solution, Sigma, Hungary). Stereotaxic coordinates of the recording sites in the mdPFC were chosen according to the Pellegrino rat brain atlas (Pellegrino et al., 1979): anteroposterior, bregma +3.1–4.3 mm; mediolateral, 0.7–1.8 mm; vertical, 0.6–3.1 mm. For the extracellular single neuron recording, tungsten wired multibarreled glass microelectrodes were used. Extracellular action potentials of the mdPFC neurons were recorded via the central barrel containing a tungsten wire (10 μ m in diameter), while neurochemicals (D-glucose /0.5 M, dissolved in 0.15 M NaCl, NA /0.5M, pH=6/, Ach /0.5M, pH=6/) were applied electrophoretically through the capillaries surrounding the central recording electrode. Constant currents (in the 5–90 nA range) of appropriate polarity were applied to eject the chemicals from their respective barrels. The action potentials were passed into a preamplifier, than to a high gain amplifier including low and high cut filters and a window discriminator, and then into an A/D converter device (CED 1401 plus). The Spike 2 software package (Cambridge Electronic Design Ltd., United Kingdom) was used for real-time and off-line analyses. Similar to our previous studies, a neuron was considered to be responsive to a certain neurochemical if its firing rate changed by at least $\pm 30\%$ or by ± 2 SD from the mean baseline level, and if the reactions were dose dependent (by using different current intensities), and replicable. Only the activity of spontaneously firing, well-isolated cells has been recorded.

For statistical analysis of the data, the Wilcoxon test and the χ^2 test were used. Recording sites in the mdPFC were marked by Methylene-Blue (MB) labeling – anodal labeling current (50 nA, 10–15 min) was delivered through the MB containing barrel at the end of the recording sessions – and confirmed by subsequent histological examination. Other technical details are delineated elsewhere (Kovacs et al., 2005; Nagy et al., 2012a).

Acknowledgments

The authors thank Ms. Ildikó Fuchs, Dr. László Póttó, Mr. Bence Faragó and Dr. Barnabás Hideg for their valuable technical help. This research was supported by the European Union and the State of Hungary, co-financed by the European Social Fund in the framework of TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001 ‘National Excellence Program’ (Bernadett Nagy), as well as by the Ajinomoto Co. (51064/2009), PTE AOK-KA 2013/34039/1 and the Hungarian Academy of Sciences (Zoltán Karádi).

REFERENCES

- Aou, S., Oomura, Y., Lenard, L., Nishino, H., Inokuchi, A., Minami, T., Misaki, H., 1984. Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain Res.* 302, 69–74.
- Aston-Jones, G., Cohen, J.D., 2005. Adaptive gain and the role of the locus coeruleus-norepinephrine system in optimal performance. *J. Comp. Neurol.* 493, 99–110.

- Baldwin, A.E., Sadeghian, K., Kelley, A.E., 2002. Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 22, 1063–1071.
- Berridge, C.W., Waterhouse, B.D., 2003. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 42, 33–84.
- Cardinal, R.N., Parkinson, J.A., Hall, J., Everitt, B.J., 2002. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26, 321–352.
- Chandler, D., Waterhouse, B.D., 2012. Evidence for broad versus segregated projections from cholinergic and noradrenergic nuclei to functionally and anatomically discrete subregions of prefrontal cortex. *Front. Behav. Neurosci.* 6, 20.
- Condes-Lara, M., 1998. Different direct pathways of locus coeruleus to medial prefrontal cortex and centrolateral thalamic nucleus: electrical stimulation effects on the evoked responses to nociceptive peripheral stimulation. *Eur. J. Pain* 2, 15–23.
- Dalley, J.W., Cardinal, R.N., Robbins, T.W., 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28, 771–784.
- Devilbiss, D.M., Waterhouse, B.D., 2004. The effects of tonic locus coeruleus output on sensory-evoked responses of ventral posterior medial thalamic and barrel field cortical neurons in the awake rat. *J. Neurosci.* 24, 10773–10785.
- Devilbiss, D.M., Page, M.E., Waterhouse, B.D., 2006. Locus coeruleus regulates sensory encoding by neurons and networks in waking animals. *J. Neurosci.* 26, 9860–9872.
- Egyed, R., Lukats, B., Karadi, Z., 2000. Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. *J. Physiol. (Lond.)* 526, 173–174.
- Heidbreder, C.A., Groenewegen, H.J., 2003. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 27, 555–579.
- Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Aou, S., 1989. Olfactory coding in the monkey lateral hypothalamus: behavioral and neurochemical properties of odor-responding neurons. *Physiol. Behav.* 45, 1249–1257.
- Karadi, Z., Oomura, Y., Nishino, H., Scott, T.R., Lenard, L., Aou, S., 1992. Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. *J. Neurophysiol.* 67, 389–400.
- Karadi, Z., Faludi, B., Lenard, L., Czurko, A., Niedetzky, C., Vida, I., Nishino, H., 1995. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes. *Brain Res. Bull.* 37, 157–162.
- Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., Takacs, G., Egyed, R., Lenard, L., 2004. The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. *Int. Congress Ser.* 1269, 30–33.
- Karadi, Z., Lukats, B., Papp, S., Szalay, C., Egyed, R., Lenard, L., Takacs, G., 2005. Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem. Senses* 30 (Suppl 1), i168–i169.
- Kolb, B., Nonneman, A.J., 1975. Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 88, 806–815.
- Kolb, B., 1984. Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res.* 320, 65–98.
- Kolb, B., 1990. Animal models for human PFC-related disorders. *Prog. Brain Res.* 85, 501–519.
- Kovacs, P., Denes, V., Kellenyi, L., Hernadi, I., 2005. Microiontophoresis electrode location by neurohistological marking: comparison of four native dyes applied from current balancing electrode channels. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 51, 147–151.
- Lenard, L., Oomura, Y., Nakano, Y., Aou, S., Nishino, H., 1989. Influence of acetylcholine on neuronal activity of monkey amygdala during bar press feeding behavior. *Brain Res.* 500, 359–368.
- Lenard, L., Karadi, Z., Faludi, B., Czurko, A., Niedetzky, C., Vida, I., Nishino, H., 1995. Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res. Bull.* 37, 149–155.
- Lénárd, L., Karádi, Z., 2012. Regulatory processes of hunger motivated behavior. *Acta Biol. Hung.* 63, 80–88.
- McGaughy, J., Ross, R.S., Eichenbaum, H., 2008. Noradrenergic, but not cholinergic, deafferentation of prefrontal cortex impairs attentional set-shifting. *Neuroscience* 153, 63–71.
- Morgane, P.J., Galler, J.R., Mokler, D.J., 2005. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog. Neurobiol.* 75, 143–160.
- Nagy, B., Szabo, I., Papp, S., Takacs, G., Szalay, C., Karadi, Z., 2012a. Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res.* 1444, 38–44.
- Nagy, B., Takacs, G., Szabo, I., Lenard, L., Karadi, Z., 2012b. Taste reactivity alterations after streptozotocin microinjection into the mediodorsal prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 234, 228–232.
- Nakano, Y., Oomura, Y., Lenard, L., Nishino, H., Aou, S., Yamamoto, T., Aoyagi, K., 1986. Feeding-related activity of glucose- and morphine-sensitive neurons in the monkey amygdala. *Brain Res.* 399, 167–172.
- Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H., Wayner, M.J., 1969. Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature* 222, 282–284.
- Oomura, Y., 1980. Input-output organisation in the hypothalamus relating to food intake behaviour. In: Morgane, P.J., Panksepp, J. (Eds.), *Handbook of the Hypothalamus*, vol. II. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 557–620.
- Papp, S., Lukats, B., Takacs, G., Szalay, C., Karadi, Z., 2007. Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *Neuroreport* 18, 1561–1565.
- Pellegrino, L.J., Pellegrino, A.S., Cushman, A.J., 1979. In: *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. Plenum Press, New York.
- Porrino, L.J., Goldman-Rakic, P.S., 1982. Brainstem innervation of prefrontal and anterior cingulate cortex in the rhesus monkey revealed by retrograde transport of HRP. *J. Comp. Neurol.* 205, 63–76.
- Sarter, M., Bruno, J.P., 2000. Cortical cholinergic inputs mediating arousal, attentional processing and dreaming: differential afferent regulation of the basal forebrain by telencephalic and brainstem afferents. *Neuroscience* 95, 933–952.
- Sessler, F.M., Cheng, J.T., Waterhouse, B.D., 1988. Electrophysiological actions of norepinephrine in rat lateral hypothalamus. I. Norepinephrine-induced modulation of LH neuronal responsiveness to afferent synaptic inputs and putative neurotransmitters. *Brain Res.* 446, 77–89.
- Waterhouse, B.D., Sessler, F.M., Cheng, J.T., Woodward, D.J., Azizi, S.A., Moises, H.C., 1988. New evidence for a gating action of norepinephrine in central neuronal circuits of mammalian brain. *Brain Res. Bull.* 21, 425–432.
- Wenk, G.L., 1997. The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: one hundred years of progress. *Neurobiol. Learn. Mem.* 67, 85–95.
- Wilson, F.A., Rolls, E.T., 1990a. Neuronal responses related to the novelty and familiarity of visual stimuli in the substantia innominata, diagonal band of Broca and periventricular region of the primate basal forebrain. *Exp. Brain Res.* 80, 104–120.
- Wilson, F.A., Rolls, E.T., 1990b. Neuronal responses related to reinforcement in the primate basal forebrain. *Brain Res.* 509, 213–231.

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

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

Institute of Physiology, School of Medicine, University of Pécs, Pécs, Hungary

Received: December 28, 2015

Accepted: September 5, 2016

The mediodorsal prefrontal cortex (mdPFC) is a key structure of the central glucose-monitoring (GM) neural network. Previous studies indicate that intracerebral streptozotocin (STZ) microinjection-induced destruction of local chemosensory neurons results in feeding and metabolic alterations. The present experiments aimed to examine whether STZ microinjection into the mdPFC causes metabolic deficits. To do so, glucose tolerance test (GTT) and measurements of plasma metabolites were performed in STZ-treated or control rats. Intraperitoneal D-glucose load was delivered 20 min or 4 weeks following the intracerebral microinjection of STZ or saline (acute or subacute GTT, respectively). The STZ-treated rats displayed acute glucose intolerance: at the 120th min of the test, blood glucose level of these rats was significantly higher than that of the ones in the control group. When determining the plasma level of various metabolites, 30 min following the intracerebral STZ or saline microinjection, the triglyceride concentration of the STZ-treated rats was found to be reduced compared with that of the control rats. The GM neurons of the mdPFC are suggested to be involved in the organization of complex metabolic processes by which these chemosensory cells contribute to adaptive control mechanisms of the maintenance of homeostasis.

Keywords: forebrain limbic circuitry, mediodorsal prefrontal cortex, glucose-monitoring neurons, STZ, glucose intolerance, hypotriglyceridemia

Introduction

The prefrontal cortex (PFC) is implicated in various regulatory processes, including cognitive functions, attention, working memory, drive and motivation, and organization of goal-oriented behaviors like food and fluid intake (5, 16, 17, 24). In addition to these already known regulatory functions, the PFC was recently shown to play an important role in glucoreception as well (27).

The homeostatically important process of glucoreception has been demonstrated originally in some visceral organs, and later also in the peripheral, then, in the central nervous systems (CNSs). By investigating the peripheral nervous system, Nijijima (29) observed that glucose injection of the portal vasculature reduced discharge frequency of hepatic vagal fibers in guinea pigs. A further step was the discovery of the existence of the so-called glucose-monitoring (GM) neurons in the CNS (2, 31, 32). These cells detect changes in the extracellular glucose concentration, in addition, they also utilize glucose as a signaling modulator molecule to alter firing rate. The GM neurons have to be distinguished from the

Corresponding author: Bernadett Nagy, MD

Institute of Physiology, School of Medicine, University of Pécs

Szigeti st. 12, H-7624 Pécs, Hungary

Phone: +36 72 536245; Fax: +36 72 536424; E-mail: bernadett.nagy@aok.pte.hu

glucose-insensitive cells that use the glucose only in their metabolism and do not show activity changes to it at all (30).

The existence of neurons that are a part of the GM neural network has already been verified in brain regions mutually interconnected with each other and the PFC, such as the lateral hypothalamic area, ventromedial hypothalamic nucleus (VMH), amygdala, globus pallidus (GP), nucleus accumbens, orbitofrontal (OBF) cortex, nucleus tractus solitarii, and in the area postrema (AP) (1, 3, 11, 12, 14, 19, 34). The GM neurons have also been discovered in the mediodorsal PFC (mdPFC) composed by neuroanatomical subdivisions of the PFC, such as the prelimbic and cingulate cortices (27). GM neurons of the mdPFC possess special neurochemical responsiveness: their distinct dopamine and remarkable acetylcholine sensitivities are suggested to be of distinguished significance in the prefrontal cortical control of adaptive behaviors (26, 27).

Streptozotocin (STZ) – a chemical naturally produced by *Streptomyces achromogenes* – is known to selectively destroy insulin producing β -cells of the pancreatic islets of Langerhans. Correspondingly, it is widely used to induce experimental type 1 diabetes mellitus, creating an effective animal model of the disease (8, 39). Therapeutic application of STZ is limited, due to its severe side effects, to treating primary insulinomas. The STZ is similar enough to glucose to be selectively transported into the cells by the type 2 glucose transporter protein (GLUT2), and it has not been shown to be recognized by other type glucose transporters. After entering the cell via GLUT2, STZ – among others – causes alkylation and consequent fragmentation of DNA and its cytotoxic action includes reactive oxygen species mediated oxidative stress mechanisms (39). The toxic effect of STZ is exerted not only in the pancreatic β -cells; it has been reported that intracerebral microinjection of STZ decreases glucose utilization and glycolytic processes of certain brain areas (6, 36). According to the previous findings of our laboratory, similar intracerebral STZ microinjections destroy the GLUT2 positive chemosensory (GM) neurons in various brain areas (e.g., VMH, OBF cortex, PFC, and GP) causing severe deficits of feeding and metabolism (7, 11–13, 15).

Despite the recent emerging of scarce and indirect data in the literature (23, 25, 28), little is known yet about the involvement of prefrontal cortical neurons in the central metabolic control.

In the present experiments, therefore, to eliminate local chemosensory neurons, STZ was microinjected bilaterally into the mdPFC of rats, and acute and subacute glucose tolerance tests (GTTs) were performed as well as plasma metabolite levels determined to elucidate metabolic significance of chemosensory (GM) cells of the mdPFC.

Materials and Methods

Male Wistar rats ($n = 97$) with an average body weight of 270–340 g were housed individually in a temperature and light controlled room (21 ± 2 °C; 12–12 h light–dark cycle) where constant humidity (55%–60%) was assured. Tap water and laboratory chow food were *ad libitum* available for the rats except where it is stated differently. The rats were divided into two randomized and counterbalanced, evenly formed groups on the basis of their body weight. A control GTT was performed before the experiments to select the unhealthy subjects. Twelve rats (12.3% of all rats) with impaired glucose tolerance were excluded from the further analysis.

Anesthetized rats ($n = 85$, intraperitoneal ketamine, 50 mg/ml, 0.3 ml/100 g bw) were operated on stereotaxically, their scalp was incised, and a small (4–5 mm in diameter) hole was drilled through the cleaned skull. Guide cannulas made of 23 G stainless steel pipettes were placed on the surface of the dura above the mdPFC by a mechanical microdrive

(MN-33 Narishige, Japan). After positioning, the guide cannulas were fixed to the cranium using anchoring screws and dental acrylic.

Following a week-long recovery period, microinjection cannulas (30 G) were passed through these guide cannulas to deliver the chemicals directly to the mdPFC. Stereotaxic coordinates for mdPFC according to the stereotaxic rat brain atlas of Pellegrino et al. (35) were: AP: +3.7 mm anterior to bregma (B), mediolateral (ML): 1 mm, and vertical (V): 1.5 mm from dura (Fig. 1). Alert, previously well-handled rats were microinjected bilaterally with either 7.5 µg STZ (Sigma S-0130, 10 µg/µl; dissolved in sterile physiological saline) or sterile physiological saline alone. Solutions were microinjected by a microinfusion pump (Cole Parmer 789200C) in a volume of 0.75 µl for 1 min through a stainless steel microinjection cannula extending 1.5 mm below the tips of the guide cannula fixed on the skull with dental acrylic. Microinjection cannulas were left in place for one more minute to help diffusion of solutions into the target area.

The standardized GTT was performed after a 12 h food deprivation of the rats ($n = 29$). Intraperitoneal injection of 20% D-glucose solution (0.2 g/100 g bw/ml) was administered at the 20th min following the intracerebral microinjection of STZ or saline (acute GTT) and then 4 weeks later (subacute GTT). Blood samples were taken from the tail of rats and the measurements were performed by glucometer (Glucometer Elite, Bayer, Germany).

In another animal group ($n = 56$), relevant plasma metabolites [total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), triglycerides (TGs), and uric acid] were determined after a 12-h food deprivation and 30 min after the bilateral STZ or saline microinjection by a semi-automatic cold chemistry photometer (Spotchem EZ SP4430, Arkray, Japan).

After finishing all experiments, the rats were intraperitoneally overdosed with urethane and transcardially perfused with physiological saline followed by 4% formalin. The brains were fixed in 4% formalin, then frozen and cut in 40 µm sections. Nissl (cresyl violet) staining was used to examine and identify the exact site of microinjections. Rats with inappropriate cannula positions ($n = 4$) were excluded from the further analysis.

In the GTT experiment, blood glucose levels of the animal groups were compared and statistically analyzed. Similarly, statistical analysis was also performed for plasma metabolites of rats of the STZ-treated and control groups. All results are reported as means \pm SEM. Analysis of variance (one-way ANOVA) and Tukey's test for *post hoc* comparisons were used for statistical analysis. Differences were considered to be significant at $p < 0.05$.

All experimental procedures were conducted in accordance with institutional, national, and international regulations (BA02/2000-8/2012, Pécs University, Medical School; Law XXVIII, 1998, Government Decree 40/2013, Hungary; NIH Guidelines 1997, European Community Council Directive 86/609/EEC 1986, 2006; European Directive 2010/63/EU of the European Parliament).

Results

GTT

Investigations of acute and subacute glucose tolerance after bilateral STZ or vehicle microinjection into the mdPFC were performed in 29 adult male Wistar rats. Seventeen rats were treated by STZ, whereas 12 control rats received physiological saline microinjection. The first GTT was performed 20 min after the intracerebral microinjection (acute GTT), whereas the second GTT was performed 4 weeks later (subacute GTT).

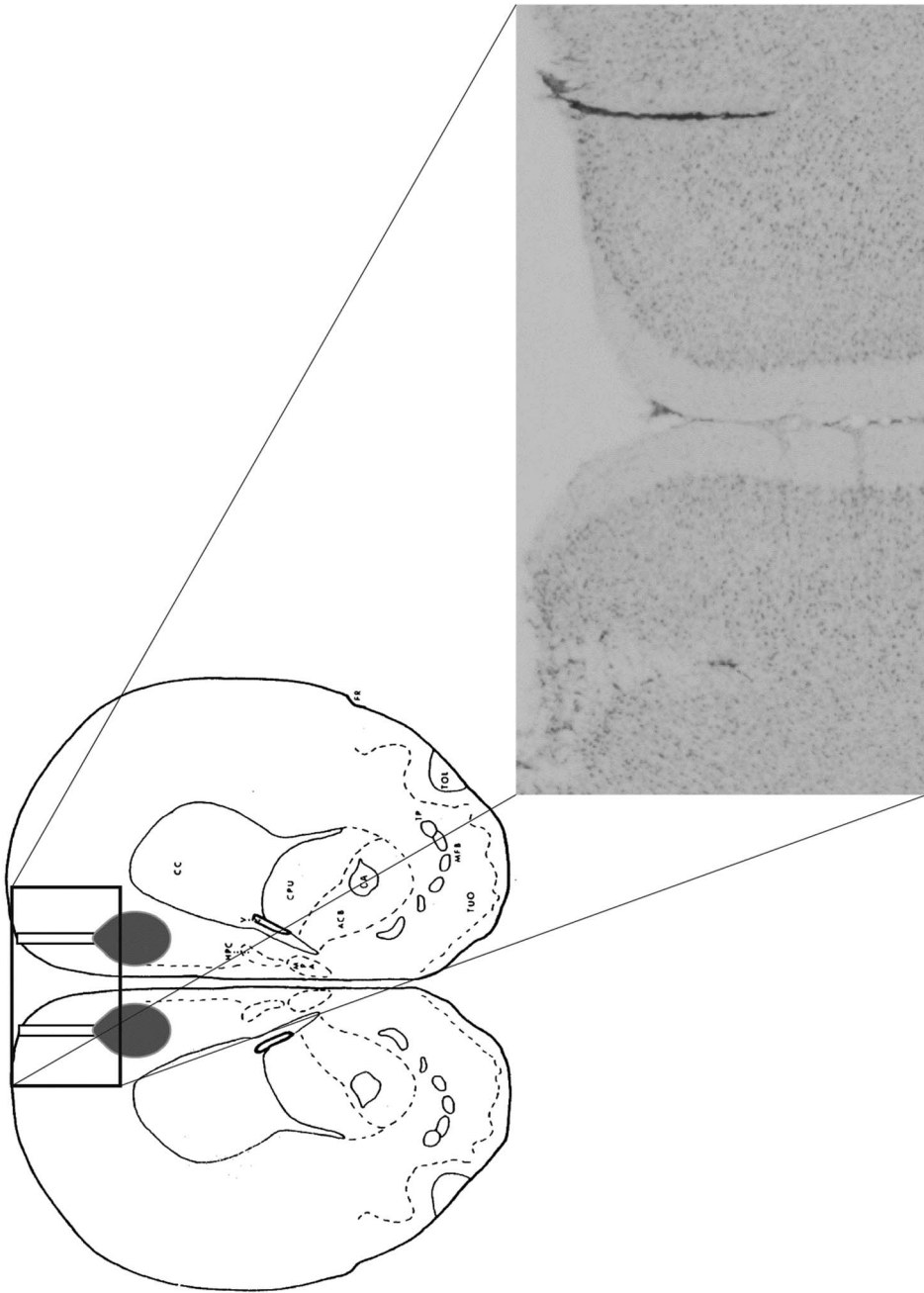


Fig. 1. Schematic of the delivery cannula and the microinjection target area at the level of the mediadorsal prefrontal cortex (mdPFC) according to the rat brain atlas of Pellegrino et al. (35). Photomicrograph of Nissl stained brain section shows the characteristic cannula sites of bilateral microinjection

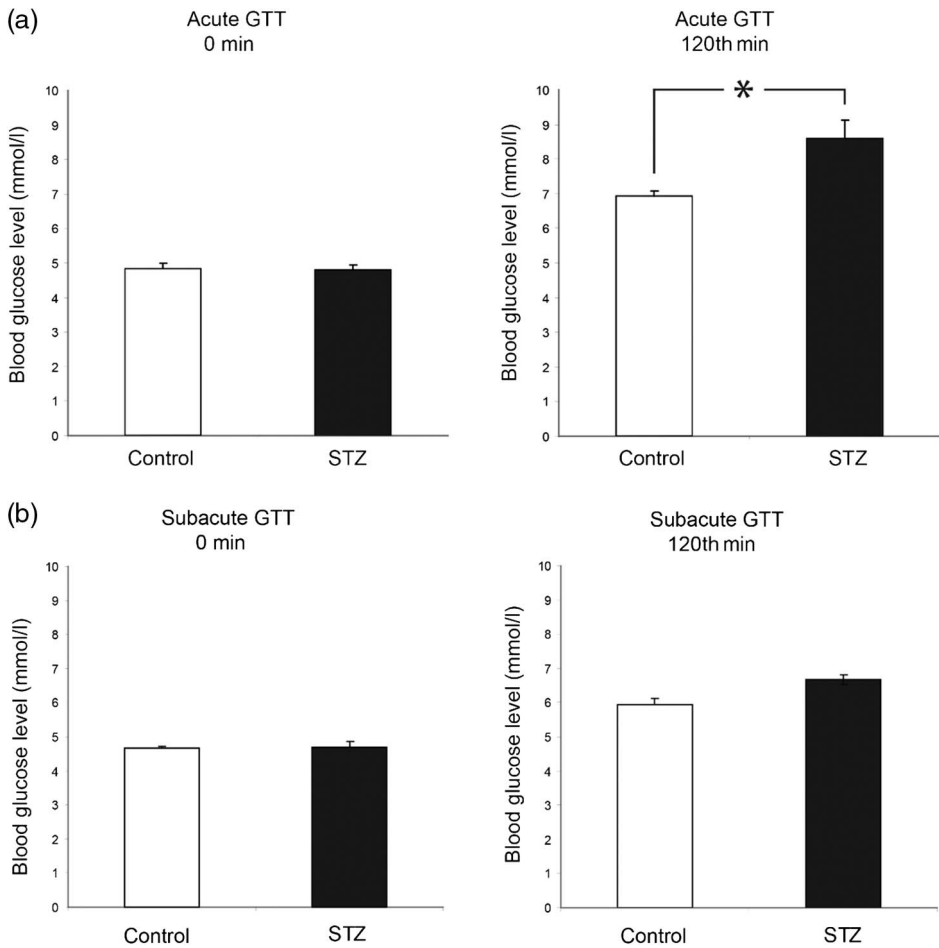


Fig. 2. Impaired glucose tolerance in the acute GTT after bilateral streptozotocin (STZ) microinjection into the mdPFC. (a) Fasting blood glucose levels of STZ-treated ($n = 17$) and control groups ($n = 12$) did not differ significantly. Two hours after the intraperitoneal glucose injection, however, blood glucose concentrations of the STZ-treated rats significantly increased compared with the control rats ($*p < 0.05$). Columns represent the mean blood glucose levels \pm SEM. (b) Four weeks following the STZ or physiological saline microinjection (subacute phase), the glucose tolerance was physiological in both groups: both the fasting and the 120th min's blood glucose levels of the rats were found to be in the similar range

Pathological alterations of blood glucose levels and a definite glucose intolerance of the STZ-treated rats became obvious in the acute GTT. The ANOVA test showed a significant group difference in the acute GTT ($F_{3,57} = 35.164$; $p < 0.05$). The fasting blood glucose levels were almost the same in the two groups (control: 4.84 ± 0.16 mmol/l and STZ: 4.81 ± 0.12 mmol/l, respectively). However, 2 h after the intraperitoneal glucose injection, blood glucose level of the STZ-treated rats was significantly higher than that of the rats in the control group (control: 6.95 ± 0.14 mmol/l and STZ 8.6 ± 0.51 ; $p < 0.05$). The results are shown in Fig. 2a.

In the subacute phase, there was no significant difference between the fasting blood glucose concentrations of the STZ-treated and control groups (control: 4.74 ± 0.09 mmol/l and STZ: 4.76 ± 0.12 mmol/l). Although the 120th min's blood glucose levels appeared to be higher in the rats subjected to STZ microinjection (control: 5.90 ± 0.21 mmol/l and STZ: 6.72 ± 0.18 mmol/l), there was no significant difference between the two groups (Fig. 2b).

Plasma levels of metabolites

In a separate series of experiments with 52 adult male Wistar rats, 30 min after the bilateral intracerebral microinjection into the mdPFC, plasma concentrations of total cholesterol, TG, HDL, and uric acid were determined. Twenty-seven rats were treated by STZ-treated and 25 control rats received physiological saline microinjection. Plasma concentrations of total cholesterol, HDL, and uric acid in the STZ-treated and control groups did not differ from each other. At the same time, however, significantly reduced plasma TG levels were detected in the rats with mediiodorsal prefrontal cortical STZ microinjection (control: 0.66 ± 0.03 mmol/l and STZ: 0.56 ± 0.03 mmol/l, $p < 0.05$). The results are shown in Fig. 3.

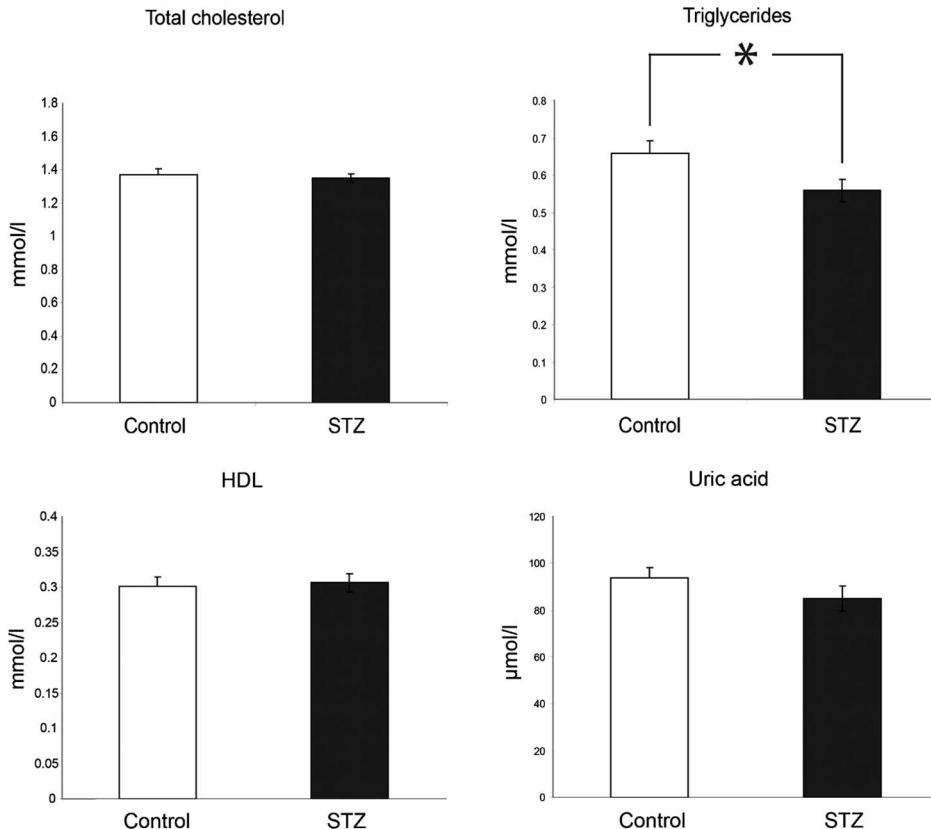


Fig. 3. Plasma levels of metabolites of the STZ-treated ($n = 27$) and control ($n = 25$) rats 30 min following the intracerebral microinjection. All results are reported as means \pm SEM. The plasma concentrations of total cholesterol, HDL, and uric acid in the STZ-treated and control rats did not differ significantly. Significant reduction of plasma TG levels was found, however, in the STZ microinjected group ($*p < 0.05$)

Discussion

In the present study, evidence was obtained for the intimate involvement of mdPFC neurons in the central regulation of metabolism. The results of our studies, first time in the literature, show that complex metabolic alterations develop as a consequence of bilateral mdPFC microinjection of STZ. Selective destruction of the STZ sensitive neurons led to temporary diabetes-like impaired glucose tolerance and altered TG level. The changes were characteristically selective since other tested parameters (total cholesterol, HDL, and uric acid plasma concentrations) and the subacute GTT did not show any significant difference between the STZ-treated and control rats.

In the healthy organism, the CNS takes part in the sophisticated control of metabolic processes using integrating metabolic (degraded nutrients, fatty acids, amino acids, ketone bodies, lactic acid, various metabolites, etc.), humoral–hormonal (e.g., insulin, leptin, GLP-1, etc.), and complex neural information coming from the periphery as well as from particular chemosensory neurons of various brain structures (12, 20, 33, 38). Since the physiologically effective metabolism that maintains the balance of homeostasis among broad environmental conditions is dependent upon central sensing of the relevant peripheral signals, altered sensitivity of these special neurons may result in severe metabolic disturbances that lead to such feeding-metabolic diseases as, e.g., obesity and diabetes mellitus are (20).

Among patients with type 1 diabetes mellitus (T1DM), associations between metabolic control measures and shrinkage of the prefrontal cortical thickness were found. Patients with T1DM, relative to healthy control subjects, had thinner cortex in the prefrontal cortical areas. Long-term glycemic control measures, expressed by the average value of HbA1c, were found to be associated with bilateral thickness reduction in the superior prefrontal cortical regions (21). The healthy human brain shows significant levels of hierarchical organization characterized by connections for top-down control with minimum wiring cost (37). Relative absence of hierarchically high-level hubs in the PFC of patients with T1DM was found, which suggests ineffective top-down control of the PFC in T1DM (22). All these data substantiate the important role of PFC in the control of carbohydrate metabolism.

Several data in the literature support the view that GLUT2, at least partially, is involved in cerebral glucose sensing (4, 18). STZ, which at the periphery was shown to enter the β -cells via GLUT2, has been demonstrated to also exert toxic effects in several brain regions. Intracerebroventricular administration of STZ was observed to result in significant reduction of glucose utilization and glycolytic processes (6, 36). The toxic effect of STZ on certain neurons, among others the GM ones, may get exerted via GLUT2 associated mechanisms. It is important to mention, however, that an *in vitro* study raised doubts concerning the role of GLUT2 in glucose sensing in the VMH, indicating a gatekeeper role of glucokinase in the cerebral glucose sensing (10). Nevertheless, a previous study of ours revealed deficits of hypothalamic GLUT2 immunolabeling after STZ microinjection into the VMH of the rat (40), and the present findings also support our hypothesis that the mdPFC neurons, among them the local constituents of the limbic forebrain GM neural network, play an essential role in the maintenance and preservation of the homeostatic balance.

One of our previous pilot studies showed that STZ treatment of the mdPFC caused elevation of plasma concentration of insulin (unpublished observations), but it is evident that further investigations are needed to confirm these results. Damage to these chemosensory

neurons appears to elicit and maintain complex feeding and metabolic disturbances. A single bilateral microinjection of STZ into either the VMH or OBF cortex was found to cause glucose intolerance and alterations of concentrations of plasma metabolites (12). STZ microinjection into the VMH caused decreased total cholesterol and increased TG levels, while STZ microinjection into the OBF resulted in significant decrease of plasma total cholesterol and TG levels. In the STZ-treated rats, in the present study, similar to the above findings, the decrease of plasma TG concentrations was observed. Based on all these data, it is reasonable to suppose that prefrontal cortical constituents of the forebrain GM network participate in the central regulation of feeding and metabolism. It takes place supposedly using complex control mechanisms, in part also determined by the existing multiple functional morphological interrelationships of these structures. The significance of these data is further underlined by the results of recent experiments revealing that high-fat/cholesterol diet increases plasma TG, total cholesterol, non-HDL, and HDL cholesterol levels in rodents with a subsequent activation of cholinergic processes within the PFC, along with cognitive impairments (23, 25), or by demonstrating the causal role of mdPFC D1 dopamine receptors in modifying high-fat food seeking (28). It is already a textbook material that decreased TG can be due to hepatic failure, but our metabolic data – physiological level of cholesterol and lactate dehydrogenase (LDH) – do not indicate liver failure. Instead, the decrease of TG concentration may be considered as a consequence of complex regulatory disturbance whose exact mechanism still remains to be revealed.

Feeding and metabolic disorders like obesity, diabetes mellitus, or metabolic syndrome cause increasing burden on the modern societies. The presently used therapeutic approaches these days targeting the peripheral pathology so far could not fully resolve the problems; consequently, at present, the above diseases cannot be cured yet. It is reasonable to suppose that this is at least in part because dysfunction of the central GM neurons is ignored in the evaluation of the above-mentioned illnesses. The physiological functioning of these neurons appears to be indispensable with respect to the maintenance of the homeostatic balance since these cells influence energy balance regulation in a complex manner by simultaneously affecting multiple factors of homeostasis, such as energy intake and energy expenditure, thermoregulation, and various other factors as well (9).

Our present findings support the view that disturbance of the regulatory processes of the CNS should necessarily be taken into consideration in elucidating the background of the above-mentioned diseases. With respect to this CNS involvement, the role of GM neurons here appears to be especially important. They integrate complex chemical and other information of various sources, which predestinate them to play significant adaptive role in the central regulation of feeding and metabolism.

Considering all of the above, we hope that the better understanding of complex functional attributes of mdPFC chemosensory neurons and those of other brain structures important in the maintenance of homeostasis can lead to the identification of new drug targets and the discovery of successful new therapeutic strategies as well.

Acknowledgements

The authors would like to thank Ildikó Fuchs and Erzsébet Korona for their valuable technical assistance. This work was supported by Ajinomoto Co. (51064/2009), PTE AOK-KA 2013/34039/1 and S.R.O.P. 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 “National Excellence Program.”

REFERENCES

1. 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.* 46, 215–218 (1984)
2. 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.* 207, 1146–1154 (1964)
3. Aou S, Oomura Y, Lenard L, Nishino H, Inokuchi A, Minami T, Misaki H: Behavioral significance of monkey hypothalamic glucose-sensitive neurons. *Brain Res.* 302, 69–74 (1984)
4. 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.* 28, 117–136 (2004)
5. Baldwin AE, Sadeghian K, Kelley AE: Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 22, 1063–1071 (2002)
6. 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.* 12, 737–743 (1994)
7. Egyed R, Lukats B, Karadi Z: Diabetes mellitus-like metabolic deficits elicited by ventromedial hypothalamic streptozotocin microinjection. *J. Physiol. (Lond.)* 526, 173–174 (2000)
8. Ganda OP, Rossini AA, Like AA: Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes* 25, 595–603 (1976)
9. Garami A, Székely M: Body temperature: its regulation in framework of energy balance. *Temperature (Austin)* 1(1), 28–29 (2014)
10. Kang L, Routh VH, Kuzhikandathil EV, Gaspers LD, Levin BE: Physiological and molecular characteristics of rat hypothalamic ventromedial nucleus glucosensing neurons. *Diabetes* 53, 549–559 (2004)
11. Karádi Z, Lukats B, Papp S, Szalay C, Egyed R, Lenard L, Takacs G: Involvement of forebrain glucose-monitoring neurons in taste information processing: electrophysiological and behavioral studies. *Chem. Senses* 30(Suppl. 1), i168–i169 (2005)
12. Karádi Z, Lukats B, Papp S, Takacs G, Egyed R, Lenard L: The central glucose-monitoring neural network: major protector of the adaptive homeostatic balance for well being of the organism. *International Congress Series* 1269, 30–33 (2004)
13. Karádi Z, Nagy B, Szabó I, Szalay C, Takács G, Keresztes D, Hideg B, Faragó B, Góré MB, Lénárd L: Complex functional attributes of forebrain glucose-monitoring neurons in the maintenance of homeostasis. *Acta Physiol. (Oxf.)* 202(Suppl. 684), O20 (2011)
14. Karádi Z, Oomura Y, Nishino H, Scott TR, Lenard L, Aou S: Responses of lateral hypothalamic glucose-sensitive and glucose-insensitive neurons to chemical stimuli in behaving rhesus monkeys. *J. Neurophysiol.* 67, 389–400 (1992)
15. Keszthelyi Z, Past T, Lukats B, Koltai K, Karadi Z: The central effect of chromium on glucose metabolism. *Pharmacopsychiatry* 37, 242 (2004)
16. Kolb B: Functions of the frontal cortex of the rat: a comparative review. *Brain Res.* 320, 65–98 (1984)
17. Kolb B, Nonneman AJ: Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 88, 806–815 (1975)
18. Leloup C, Arluison M, Lepetit N, Cartier N, Marfaing-Jallat P, Ferre P, Penicaud L: Glucose transporter 2 (GLUT 2): expression in specific brain nuclei. *Brain Res.* 638, 221–226 (1994)
19. Lénárd L, Karadi Z, Faludi B, Czurko A, Niedetzky C, Vida I, Nishino H: Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics. *Brain Res. Bull.* 37, 149–155 (1995)
20. Levin BE: Metabolic sensing neurons and the control of energy homeostasis. *Physiol. Behav.* 89, 486–489 (2006)
21. Lyoo IK, Yoon S, Jacobson AM, Hwang J, Musen G, Kim JE, Simonson DC, Bae S, Bolo N, Kim DJ, Weinger K, Lee JH, Ryan CM, Renshaw PF: Prefrontal cortical deficits in type 1 diabetes mellitus: brain correlates of comorbid depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 69, 1267–1276 (2012)
22. Lyoo IK, Yoon S, Renshaw PF, Hwang J, Bae S, Musen G, Kim JE, Bolo N, Jeong HS, Simonson DC, Lee SH, Weinger K, Jung JJ, Ryan CM, Choi Y, Jacobson AM: Network-level structural abnormalities of cerebral cortex in type 1 diabetes mellitus. *PLoS One* 8, e71304 (2013)
23. Moreira EL, de Oliveira J, Engel DF, Walz R, de Bem AF, Farina M, Prediger RD: Hypercholesterolemia induces short-term spatial memory impairments in mice: up-regulation of acetylcholinesterase activity as an early and causal event? *J. Neural Transm. (Vienna)* 121, 415–426 (2014)
24. Morgane PJ, Galler JR, Mokler DJ: A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Prog. Neurobiol.* 75, 143–160 (2005)

25. Morgenstern I, Ye Z, Liang S, Fagan S, Leibowitz SF: Involvement of cholinergic mechanisms in the behavioral effects of dietary fat consumption. *Brain Res.* 1470, 24–34 (2012)
26. Nagy B, Szabo I, Csetenyi B, Hormay E, Papp S, Keresztes D, Karadi Z: Noradrenaline and acetylcholine responsiveness of glucose-monitoring and glucose-insensitive neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res.* 1543, 159–164 (2014)
27. Nagy B, Szabo I, Papp S, Takacs G, Szalay C, Karadi Z: Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res.* 1444, 38–44 (2012)
28. Nair SG, Navarre BM, Cifani C, Pickens CL, Bossert JM, Shaham Y: Role of dorsal medial prefrontal cortex dopamine D1-family receptors in relapse to high-fat food seeking induced by the anxiogenic drug yohimbine. *Neuropsychopharmacology* 36, 497–510 (2011)
29. Nijijima A: Glucose-sensitive afferent nerve fibres in the hepatic branch of the vagus nerve in the guinea-pig. *J. Physiol.* 332, 315–323 (1982)
30. Oomura Y (1980): Input-output organisation in the hypothalamus relating to food intake behaviour. In: *The Handbook of the Hypothalamus II*, eds Morgane PJ, Panksepp J, Marcel Dekker Inc., New York, NY, USA, pp. 557–620
31. Oomura Y, Kimura K, Ooyama H, Maeno T, Iki M, Kuniyoshi M: Reciprocal activities of the ventromedial and lateral hypothalamic areas of cats. *Science* 143, 484–485 (1964)
32. Oomura Y, Ono T, Ooyama H, Wayner MJ: Glucose and osmosensitive neurons of the rat hypothalamus. *Nature* 222, 282–284 (1969)
33. Pannacciulli N, Le DS, Salbe AD, Chen K, Reiman EM, Tataranni PA, Krakoff J: Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans. *Neuroimage* 35, 511–517 (2007)
34. Papp S, Lukats B, Takacs G, Szalay C, Karadi Z: Glucose-monitoring neurons in the nucleus accumbens. *Neuroreport* 18, 1561–1565 (2007)
35. Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ (1979): *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain*. Plenum Press, New York, NY, USA
36. 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.* 11, 477–483 (1993)
37. Ravasz E, Barabasi AL: Hierarchical organization in complex networks. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* 67, 026112 (2003)
38. Rocca AS, Brubaker PL: Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. *Endocrinology* 140, 1687–1694 (1999)
39. Szkudelski T: The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50, 537–546 (2001)
40. Telkes I, Szalay C, Lénárd L, Karádi Z: Deficits of hypothalamic GLUT2 immunolabeling after streptozotocin microinjection into the ventromedial hypothalamic nucleus of the rat. *Front. Neurosci.* 5, 2–31 (2011)