

**Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola**

**Intraamygdaloid ghrelinerg mechanizmusok szerepe a táplálékfelvétel és a táplálékfelvételt befolyásoló metabolikus paraméterek és magatartási folyamatok szabályozásában**

Doktori (Ph.D.) Értekezés Tézisei

**Dr. Tóth Krisztián**

**Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László**

**Programvezető: Prof. Dr. Lénárd László**

**Doktori Iskola Vezetője: Prof. Dr. Lénárd László**

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

**Pécs, 2009**

## 1. Bevezetés

A testsúlyszabályozási zavarokat jelentős és egyre növekvő incidenciájuk miatt népbetegségnek tekintik. A felnőtt korú lakosság mintegy 1-1%-át érinti a két ismert pszichiatriai megbetegedés az anorexia nervosa és a bulimia nervosa mely zavarok szembetűnő tünete lehet a kóros soványság. Ezen kórképek gyermekkori előfordulása is növekvő tendenciát mutat. A testsúly szabályozási zavarok másik véglete a túlsúlyosság ill. elhízás. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) felmérése szerint a felnőtt korú lakosság kb. 40%-a túlsúlyos, míg az elhízottak aránya meghaladja a 20%-ot. Az iskolás korú gyermekek körében ezen arányszámok 25% ill. 11%. Az elhízás kihat szervezetünk minden egyes szervrendszerére, negatívan befolyásolva azok működését.

Jelen ismereteink szerint a testsúlyszabályozási zavarok hátterében (túl a társadalmi tényezőkön, a helytelen táplálkozáson, mozgásszegény életmódon és más, még nem ismert tényezőkön) a táplálkozási magatartás szabályozásának és az energia felhasználásban szerepet játszó neurokémiai folyamatoknak a zavara állhat. Az említett neurokémiai folyamatok jelentős része peptid molekulákon, neuropeptideken keresztül valósul meg. A neuropeptidek az emberi szervezetben a központi idegrendszer különböző struktúráiban és azon kívül, számos perifériás szövetben termelődnek. Ezen peptidek hatása a periférián és/vagy a központi idegrendszerben található éhség-jóllakottsági rendszereken keresztül juthat érvényre. Vannak köztük olyanok, melyek a táplálékfelvételt fokozzák (orexigén) és vannak melyek csökkentik (anorexigén peptidek).

Az előbbieken bemutatott neuropeptidek családjába tartozik a ghrelin (Ghr) is. A Ghr a gyomor fundus nyálkahártyában elhelyezkedő X/A típusú endokrin sejtekben található legnagyobb mennyiségben [14,16]. Kisebb mértékben ugyan, de más perifériás szövetben [14,28] és a központi idegrendszer egyes struktúráiban is fellelhető. A Ghr két fő formáját sikerült azonosítani az emlősök szervezetében: az egyik az úgynevezett acylált-ghrelin (A-Ghr) melyben egy poszttranszlációs módosulás révén a harmadik pozícióban elhelyezkedő serin aminosavmaradékhoz egy nyolc szénatom hosszúságú zsírsavlánc kapcsolódik észter kötéssel és a másik a desacylált-ghrelin (DA-Ghr), melyben az észterifikáció nincs jelen [29].

Az A-Ghr intravénás (i.v.), intraperitoneális (i.p.), valamint i.c.v. mikroinjekciója gyors, azonnal jelentkező táplálékfelvétel növekedést okoz [33,46,62,63], továbbá humán vizsgálatokban fokozza az éhségérzetet is. Ismételt i.c.v. injekciója növeli a testtömeget, mely elsősorban a

táplálékfelvétel növekedésnek, az adipogenesis fokozódásának, valamint a zsírsav oxidációs folyamatok csökkenésének köszönhető [33,46,62,63].

Az A-Ghr i.v. injekcióját követően nő a gyomorsav szekréció, és nő a gastrointestinalis motilitás [6,14,45], azaz potens prokinetikus hatással bír [61].

I.c.v. A-Ghr mikroinjekciók szorongást és memória retentiót idéznek elő [9]. A Ghr ezen memória retenciót fokozó hatása szelektív serotoninin visszavétel gátló fluoxetine előkezeléssel csökkenthető [8].

Diano és munkatársai azt igazolták, hogy a keringő Ghr a vér-agy gáton keresztül a hippocampusba jutva, fokozza az ott lévő neuronok dendritikus tüskéin kialakuló szinapszisok számát és a memória folyamatok háttérében meghúzódó „long-term” potenciáció generálását.

A Ghr ezen élettani hatásait legalább részben GH szekretagóg receptorokon (GHS-R) keresztül fejt ki, melynek két altípusa, az 1a és az 1b altípusai ismertek [30].

Habár a Ghr több hatását már ismerjük, számos kérdés tisztázatlan még. 1) A táplálékfelvétel szabályozásában részt vevő agyi struktúrák, mint pl. az amygdala, hogyan játszanak szerepet a Ghr közvetítette táplálkozási hatásokban? 2) Pontosan milyen receptorális mechanizmusok játszanak szerepet a Ghr hatásainak közvetítésében? 3) Az egyes agyi struktúrákban azonos vagy eltérő módon befolyásolja-e az acyl- (A-Ghr) és a desacyl-ghrelin (DA-Ghr) a táplálékfelvételt? 4) A táplálkozási magatartás megváltozása mögött az éhség-jóllakottság érzetének kialakulása vagy egyéb magatartásformák megváltozása áll-e? Eddigi ismereteink azt mutatják, hogy a Ghr komplex szerepének tisztázása a szervezetben lejátszódó energiaegyensúlyt szabályozó folyamatok jobb megértéséhez vezethet, és esetleg olyan terápiás lehetőséget eredményezhet, ami a testsúly szabályozási zavarok egy részének kezelésében hasznosítható.

Az egyes központi idegrendszeri területek léziójával ill. ugyanazon területek elektromos ingerlésével nyert információk rávilágítottak az egyes agyi struktúrák táplálékfelvétel szabályozásban betöltött szerepére. Így került a köztudatba a hypothalamus (HT) „kettős központ” hipotézise. A laterális HT area (LH) léziója aphagiát, adipsiát majd következményes testtömegcsökkenést okoz, míg a HT ventromediális (VMH) magjának roncsolása hyperphagiához és elhízáshoz vezet [4,26,41,42,58]. A további léziós kutatások egyre több olyan extrahypothalamicus területet tártak fel, melyek résztvesznek a táplálkozási magatartásformák létrejöttének szabályozásában. Ezek között is az egyik fontos struktúra a limbikus rendszerhez tartozó amygdala (AMY) [20,39,43].

Az AMY az agy temporális lebenyében található, számos magból álló, mandula alakú képlet. Az amygdala-komplex basolaterális része (BLA) egy külön szubdivízióját alkotja az AMY-nak és mint basolaterális amygdaloid komplex, vagy mint basolaterális magcsoport ismert [11,25]. A BLA kétirányú összeköttetésben áll a temporális kéreggel az orbitális kéreggel valamint a mediális és laterális (insula)-prefrontális cortex-el, a hippocampusszal [2,25,55,56] és a thalamus dorsomediális részével is [37,38]. Végül ki kell emelnünk, hogy BLA-t inerválja a mesolimbicus dopaminerg rendszer is, melyről tudjuk, hogy jelentős szereppel bír a tanulási és memóriefolyamatok szabályozásában.

Az AMY szerteágazó anatómiai kapcsolatrendszeréből szinte egyenesen következik funkcionális heterogenitása. Elsőként Klüver és Bucy számoltak be 1939-ben az AMY-t is érintő, temporális lebeny léziót elszenvedett majmokkal végzett kísérleteikről, melynek során az állatok táplálkozási szokása megváltozott [35]. Hasonló hatást értek el macskákban kétoldali AMY léziót követően: az állatok hyperphagiássá váltak, valamint testtömegük 6-8 hétig gyarapodott. Az AMY teljes kiirtása azt eredményezte, hogy a macskák még a romlott ételt is elfogyasztották, sőt az ehetetlen tárgyakat is megkísérelték megenni (omniphagia), mindezt a Klüver-Bucy tünetegyüttes részjelenségeként is értelmezhetjük [12].

Ezt követően az 1970-es években Fonberg kutyákkal végzett kísérletei bizonyították, hogy az AMY táplálékfelvételi magatartásban betöltött szerepe nem egységes. Kutyákban a centrális mag léziója hypophagiát és testtömeg csökkenést okoz, míg a BLA elpusztítása hyperphagiát és testtömeg növekedést eredményez. [19-24].

Az AMY jelentős szerepet játszik a memóriefolyamatok szabályozásában is, elsősorban a munkamemória fontos struktúrája. Részt vesz a külvilágból beérkező új információk feldolgozásában, szűrésében, kiemeli az egyedi, az egyén számára releváns ingerek hatását [51]. Lézióját követően az új dolgok megtanulása sérül [34].

Végül, az AMY résztvesz a térbeli tanulási folyamatok szabályozásában is. Ez azonban úgy tűnik, hogy az amygdalo-hippocampalis összeköttetés épségéhez kötött. Ezen összeköttetés léziója esetén romlik a kísérleti állatok helytanulási képessége [2,3].

## 2. Célkitűzések

Korábbi kísérletek alapján megállapították, hogy az A-Ghr i.c.v. és az LH-ba adott injekciója patkányban fokozza a táplálékfelvételt, facilitálja a memória folyamatokat, valamint immunhisztokémiai vizsgálatok szerint fokozza a c-fos aktivitást az AMY-ban [48,49]. Az irodalomban nem találtunk adatot arra, hogy a AMY-ba mikroinjektált A-Ghr miként befolyásolja az étvágyat és a memória folyamatokat, s hogy ebben milyen receptorok involváltak. Kísérleteinkben az AMY egy jól körülhatárolható magcsoportjára, a BLA-ra fókuszáltunk, mivel ezen intraamygdaloid szubrégió bizonyítottan fontos szerepet játszik mind az éhség-motívált magatartás, mind pedig a memória kialakulás és memória retenció központi idegrendszeri folyamataiban.

Mindezekért:

1) Vizsgáltuk a BLA-ba injektált A-Ghr étvágyra gyakorolt hatását ad libitum táplált patkányokban.

a) Tanulmányoztuk, hogy a étvágyra gyakorolt hatás specifikus antagonistával előkezeléssel kivédhető-e?

b) Vizsgáltuk, hogy a 24 órás éheztetés milyen hatással van az A-Ghr kiváltotta étvágy-eltérésre.

c) Összehasonlítottuk a BLA-ba mikroinjektált A-Ghr és DA-Ghr étvágyra gyakorolt hatását.

d) Megvizsgáltuk az i.c.v. injektált A-Ghr étvágyra gyakorolt hatását.

2) Vizsgáltuk a BLA-ba injektált A-Ghr akut hatását az éhség-motívált magatartás kialakulásával kapcsolatba hozható metabolikus paraméterekre: a vércukorszintre, a szérumban lévő inzulin-, leptin-, össz-koleszterin-, HDL koleszterin-, triglicerid-, össz-fehérje-, és húgysavkoncentrációkra.

3) Vizsgáltuk a BLA-ba injektált A-Ghr spontán motoros aktivitására és szorongásra kifejtett hatását patkányokon, az előbbit open field tesztben, utóbbit emelt keresztpalló tesztben tanulmányozva.

4) Vizsgáltuk a BLA-ba injektált A-Ghr tanulásra, memória kialakulásra és rögzülésre kifejtett hatását passzív elhárító szituációban és térbeli tanulást vizsgáló paradigmában.

### **3. Anyagok és módszerek**

#### **3.1. Kísérleti állatok**

Kísérleteinket 280-320 g testtömegű hím Wistar patkányokon végeztük (LATI, Gödöllő). Az állatokat klímatisztált állatházban (22°C), külön ketrecekben helyeztük el. A természetes napszaknak megfelelően 12 óra sötét és 12 óra világos periódust biztosítottunk az állatok számára. A világos periódus reggel 7 órától 19 óráig tartott. Vízzel korlátlanul állt az állatok rendelkezésére, szilárd táp (CRLT/N egységes rágcsálótáp, Charles River Kft., Budapest) azonban csak a kísérlet menetének megfelelően volt elérhető számukra. Az állatok tartásánál és a kísérletek során végig az állatetikai kódex szabályait betartva jártunk el (Pécsi Tudományegyetem, ill. European Union Council Directive 86/609/EEC).

#### **3.2. Műtétek**

Sztereotaxikus technikával végzett műtét során fém vezetőkanülöket vezetünk be a BLA fölé, ill. a laterális agykamrákba, a kanülök átmérője 22 gauge (0,7 mm) volt és vége a célzott struktúra felett 0,5 mm-rel helyezkedett el. A célzott terület koordinátáit Paxinos és Watson atlasza szerint választottuk meg: BLA: AP: a bregmától -2,3 , ML: 4,8, DV: 6,1 mm a durától számítva. Az i.c.v. mikroinjekciók esetében: AP: a bregmától -1,0 , ML: 1,5, DV: 3 mm a durától számítva [50].

### 3.3. Anyagok, mikroinjekciók

A BLA-ban végzett kísérletekhez A-Ghr-t (1465, Tocris) 25 ng, 50 ng, 100 ng, 250 ng és 500 ng (7,42; 14,83; 30,16; 74,16 és 148,32 pmol), GHS-R antagonistá [D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP-6-ot (ANT) (1922, Tocris) 15 ng és 30 ng (14,83 ill. 32,25 pmol) és DA-Ghr-t (2260, Tocris) 25 ng, 50 ng és 100 ng (7,71; 15,41 és 30,82 pmol) dózisban használtunk. Az anyagokat 0,15 M-os steril NaCl-ben oldottuk. A mikroinjekciók térfogata 0,4 µl volt. Kontrollként a vehiculum (0,15 M steril NaCl) hasonló térfogatú (0,4 µl) injekcióját alkalmaztuk. Mivel kétoldali mikroinjekciókat alkalmaztunk, az össz-dózisok a fent említett dózisok kétszeresei voltak.

A kísérletet megelőzően a vezetőkanülökbe 30 gauge (0,4 mm) külső átmérőjű injektort vezettünk, mely 0,5 mm-rel túlnyúlt a vezetőkanülön. Ezen keresztül történtek a mikroinjekciók.

A táplálkozási kísérletek keretén belül végzett i.c.v. A-Ghr mikroinjekciók esetén a dózisok a következők voltak: 500 ng (148,32 pmol) és 1000 ng (296,64 pmol), az oldatok elkészítése és beadása hasonló módon történt, míg az injekciók térfogata 1 µl volt.

Az ANT előkezelések minden esetben 15 perccel előzték meg az A-Ghr mikroinjekciókat, az ANT-ot szintén bilaterálisan a BLA-ba injektáltuk.

### 3.4. Táplálékfelvétel mérés

Ad libitum táplált állatokkal végzett kísérletek során a patkányok a kísérlet teljes ideje alatt szabadon fogyaszthattak táplálékot, míg a 24 órát éheztetett állatokkal végzett kísérletek során a mikroinjekciókat megelőző 24 órában és a mérési periódusok ideje alatt a táplálékot megvontuk. A neofóbia elkerülése végett, 14 nappal a kísérletek előtt az állatokat folyékony táp felvételre, tejvásra (136,45 kJ/100 ml, Milk Quick, Berettyóújfalu) szoktattuk. A tejhez egy kalibrált milliliteres beosztású tubusból juthattak. Azon állatokat, melyeknél nem alakult ki stabil fogyasztás, kizártuk a kísérletből. Ezen táplálkozási paradigma előnye, hogy biztosítható az azonos ízű és energiatartalmú táplálék minden kísérleti állat esetében, továbbá lehetővé teszi, hogy az állatok megzavarása nélkül, akár 5 perces időintervallumokban leolvasható legyen az aktuális fogyasztás [18,60]. Vizsgálataink során ml-ben mértük az akut táplálékfelvételt, az injekciókat követő első fél órában 5 percnként, majd a 40., 50., 60. percben.

### **3.5. Vércukorszint mérési vizsgálatok**

A vércukorszintet ad libitum táplált patkányok farokvénájából vett vérmintából határoztuk meg vércukor mérő elektróda (Glucometer Elite 2000, Bayer) segítségével. A farokvéna megsliccelését követően mindösszesen 3 µl vér elegendőnek bizonyult egyetlen méréshez, melyet az elektróda saját kapillaritásánál fogva szívott fel. Az intraamygdaláris mikroinjekciókat megelőzően 10 perccel valamint azt követően 10, 20, 30, 50, 70, 90 és 120 perccel történt mintavételezés. A kísérlet ideje alatt az állatoknak nem állt rendelkezésére sem szilárd sem pedig folyékony táp. Vízet azonban szabadon fogyaszthattak.

### **3.6. Egyéb metabolikus paraméterek mérése**

Ad libitum táplált patkányok vérszérumában mértük az össz-koleszterin, HDL koleszterin, triglicerid, húgysav és össz-fehérje koncentrációt ARKRAY, SPOTCHEM EZSP 4430 (Arkray Technology, Japán) készülék segítségével. Mértük továbbá a szérum inzulin és leptin szintet előre érzékenyített inzulin ill. leptin ELISA kittel (ALPCO Diagnostics, Amerikai Egyesült Államok). A méréshez szükséges mintákat törzsvérvétetéssel nyertük 20 perccel a kétoldali BLA injekciókat követően (a táplálékfelvételi kísérleteinkben tapasztalt hatás kezdetének időpontja). A konkrét méréseket szérum mintákból végeztük, 100 µl szérumot az analizáló automatába pipettáztunk. Az ELISA mérések során az ELISA-lemezek gyártója által előírt lépéseket követtük és a lemezekhez mellékelt gyári oldatokat használtuk.

### **3.7. Magatartási tesztek**

#### **3.7.1. *Open field* teszt**

Tíz perccel a kétoldali intraamygdaloid injekciókat követően a patkányokat egy 60x60x60 cm-es dobozba helyeztük. A doboz alját festett vonalakkal 16 egyenlő méretű négyzetre osztottuk. Öt percen keresztül figyeltük és a doboz fölé erősített videokamerával rögzítettük az állatok viselkedését. Mértük a megtett távolságot és a keresztezések számát, melyek jó indikátorai a spontán motoros aktivitásának. Eredményink analízisét a Noldus EthoVision Basic (NEVB) (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, The Netherlands) nevű program segítségével végeztük. Ez a program követi és digitálisan rögzíti az állat mozgását az általunk kijelölt területen, on-line és off-line analízisre is lehetőséget ad.



### **3.7.2. Emelt keresztpalló teszt (*Elevated plus-maze*)**

A kísérleti berendezés 2-2 egymással szemben elhelyezkedő nyitott (50x12 cm) és zárt (50x12x40 cm) karból állt, melyek 1 méterrel a talaj fölött helyezkedtek el. Az apparátust 40 W-os piros fényű (patkány számára nem látható, a videófelvételt mégis lehetővé tévő megvilágítás) égővel világítottuk meg. Tíz perccel az A-Ghr BLA injekcióját követően a kísérleti állatot az apparátus közepére helyeztük, orral az egyik zárt kar irányába. Ezt követően 5 percig mértük a zárt karokon, a nyitott karokon és a nyitott karok végein eltöltött időt, valamint a zárt karokra, a nyitott karokra és a nyitott karok végeire történő belépések számát. Az értékelés NEVB programmal történt.

### **3.7.3. Passzív elhárító teszt**

A kísérleti berendezés egy nagyobb (60x60x60 cm), jól megvilágított (100 W-os izzó) és egy kisebb (15x15x15 cm) fedett, sötét dobozból állt, melyeket egy guillotine ajtóval zárható nyílás kötött össze. A kisebb doboz aljára sokkoló rácsot építettünk. Vizsgálataink során a kísérleti állatokat a jól megvilágított doboz közepére helyeztük és mértük azt az időt ami a sötét dobozba való belépésükig telt el (latencia idő). A megfigyelés maximum 3 percig (180 s) tartott. Az első napi *habituáció* során az állatok szabadon mozoghattak az apparátusban. A *kondicionálás* során, amikor az állatok a sötét dobozba léptek a guillotine ajtót bezártuk és a patkányok elektromos áramütést kaptak (sokk). A kondicionálást gyenge sokkal (0,4 mA) háromszor 1 s-ig végeztük. Az A-Ghr-t a sokk után injektáltuk a BLA-ba. A kondicionálás után 24 órával, valamint 1 héttel később végeztünk teszteket (Teszt 1, 2), melyek során a sötét (sokkoló) dobozba lépés latencia idejét mértük. Az állatok viselkedését NEVB program segítségével értékeltük.

### **3.7.4. Morris féle úsztatási teszt (*Morris water maze*)**

Kísérleteinkhez egy 150 cm átmérőjű, 60 cm magas, kör alakú medencét használtunk, melyet vízzel töltöttünk meg. A vizet színtelen, szagtalan ételfestékkel festettük meg, hogy azon átlátni ne lehessen. A medence körül jól látható, a tájékozódást segítő tárgyakat helyeztünk el (külső cue). A medencét virtuálisan 4 negyedre osztottuk. Az egyikben (célkvadráns) egy 10x10 cm alapterületű platformot helyeztünk el úgy, hogy annak felszíne a víz szintje alatt 1 cm-el

helyezkedjen el (ne legyen látható). Az állatok a medence fala mellől úsztak a fix helyzetű platformra, a starthely ülésenként változott. A patkányok addig maradtak a medencében amíg a platformot meg nem találták. Amelyik állatnak ez 3 perc (180 s) alatt nem sikerült, azt a kísérletvezető helyezte a platformra. Másodperces pontossággal mértük a *céltalálási időt* (mennyi idő alatt találják meg az állatok a platformot). Első nap kétszer úsztak az állatok, majd ezután történtek a mikroinjekciók a BLA-ba. Második nap (kb. 24 óra elteltével) az állatok újra kétszer 3 percig úszhattak mely során ismét a céltalálási időt mértük. Az állatok viselkedését NEVB programmal értékeltük.

### **3.8. Adatok kiértékelése**

#### **3.8.1. Szövettan**

A kísérletek végeztével i.p. urethan (20%) oldattal az állatokat elaltattuk, és először fiziológias sóoldattal, majd 10%-os formaldehid oldattal transzkardiálisan perfundáltuk. Az eltávolított és fixált agyakból mikrotommal 40 µm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket krezil ibolyával festettünk meg. Az értékelés fénymikroszkóppal történt, Paxinos és Watson-féle sztereotaxikus atlasz segítségével rekonstruáltuk a kanülok valós helyét [50]. Az eredmények kiértékelése során kizártuk azon állatokat a kísérletből, melyek esetében a kanülok helyzetét nem megfelelő pozícióban találtuk.

#### **3.8.2. Statisztikai kiértékelés**

A táplálékfelvétel és vércukorszint mérési vizsgálatok során nyert adatok kiértékeléséhez dózisonként két szempontos variancia analízist (ANOVA, SPSS Windows 15.0) alkalmaztunk. Mivel ezen kísérleteink önkontrollosak voltak melyek során az A-Ghr ill. DA-Ghr különböző dózisait, valamint antagonistával kombinált kezeléseket is alkalmaztunk, a kísérletek menete és az állatsoportok nagy száma miatt az összes dózistartományt együtt kezelő ANOVA-t követően, post hoc tesztekkel nem értékelhettük adatainkat. Mindezért ahol a variancia analízis a kezelés és/vagy a kezelés-idő interakció szignifikáns voltát mutatta, párosított t-próbával hasonlítottuk össze egyes időpontokban ugyanazon állatsoport eltérő kezeléseket követően nyert adatait. További vizsgálataink esetében a kísérleti elrendezés nem önkontrollos volt, így azok során az eltérő kezelésekből részesült állatsoportok eredményeinek statisztikai értékelésére egy szempontos variancia analízist (ANOVA, GraphPad InStat for Windows 3.0) alkalmaztunk

melyet követően Student-Newman-Keuls féle többszörös összehasonlító (Student-Newman-Keuls Multiple Comparisons) post hoc tesztet végeztünk. A szignifikancia szintet minden esetben  $p < 0,05$ -nek tekintettük, a szignifikáns értékeket a grafikonokon csillaggal és kettős kereszttel jelöltük.

## **4. Eredmények**

### **4.1. Táplálékfelvétel mérési vizsgálatok**

#### ***4.1.1. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása a folyékony táplálékfelvételre ad libitum táplált állatokban***

Kísérleteink során az 50 ng, a 100 ng és a 250 ng A-Ghr mikroinjekciók szignifikáns táplálékfelvétel csökkenést okoztak. Az 50 ng A-Ghr a mérés 40. percétől a mérés végéig tartó szignifikáns táplálékfelvétel redukciót okozott a kontroll kezelés hatásához képest. A 100 ng A-Ghr mikroinjekció a 40. és az 50. percen, míg a 250 ng A-Ghr mikroinjekciója a megfigyelés 25., 30. és 40. percében okozott szignifikáns táplálékfelvétel csökkenést.

A 25 ng ill. az 500 ng A-Ghr mikroinjekciók nem okoztak változást a táplálékfelvételen.

#### ***4.1.2. GHS-R antagonistá D-Lys3-GHRP-6 mikroinjekcióinak hatása a táplálékfelvételre ad libitum táplált állatokban***

Az A-Ghr okozta anorexigén hatás szubsztrátspecifikusságáról ANT kezeléssel győződünk meg. Elsőként vizsgáltuk 30 ng ANT bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatását. Eredményeink szerint az ANT önmagában alkalmazva nem befolyásolja a táplálékfelvételt. Ezt követően kombinált kezeléseket kezdtünk. Irodalmi adatok és saját megfigyelések szerint a 15 perces időintervallum, melyet az ANT és az A-Ghr mikroinjekció között hagytunk, elegendő a receptorokhoz való kötődéshez, s az antagonistá hatásának kialakulásához.

Vizsgálataink során a korábbi kísérleteinkben leghatékonyabbnak bizonyult 50 ng ill. 100 ng A-Ghr dózissal ekvimoláris mennyiségű ANT (15 ng és 30 ng) előkezelés hatását

vizsgáltuk. Az ANT előkezelés mindkét esetben kivédte az A-Ghr táplálékfelvétel csökkentő hatását.

#### ***4.1.3. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása a folyékony táplálékfelvételre éheztetett patkányon***

Ezt követően megvizsgáltuk, vajon az 50 ng vagy a 100 ng A-Ghr bilaterális mikroinjekciója befolyásolja-e az előzőleg 24 órát éheztetett állatok táplálékfelvételét is, hiszen esetükben az éhezés egy külön motivációs drive-ot jelent. Eredményeink szerint sem az 50 ng sem pedig a 100 ng A-Ghr mikroinjekciója nem okozott szignifikáns változást a kontroll kezeléshez képest.

#### ***4.1.4. A DA-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása a folyékony táplálékfelvételre ad libitum táplált állatokban***

Az agyszövet gazdag nem specifikus észterázokban, melyek az A-Ghr-t is képesek deacyláció útján DA-Ghr-né bontani, így felmerülhet a kérdés, hogy az általunk tapasztalt hatás nem az A-Ghr deacylációja révén kialakuló DA-Ghr-nek tulajdonítható-e. Ezért külön kísérletben megvizsgáltuk 25 ng, 50 ng és 100 ng DA-Ghr bilaterális BLA mikroinjekciójának hatását a táplálékfelvételre. Ezen dózisok összevethetőek az A-Ghr-el végzett kísérleteinkben használt dózisokkal. Az elvégzett vizsgálatok során nem tapasztaltunk szignifikáns hatást a kontroll kezelésekhöz képest.

#### ***4.1.5. Intracerebroventriculáris A-Ghr injekciók hatása a táplálékfelvételre***

Az eddig ismert irodalmi adatok egy része ellentétes az általunk kapott eredményekkel. Ugyanis korábbi vizsgálatokban az i.c.v. injektált A-Ghr táplálékfelvétel növekedést okozott szilárd táp használata esetén [33,46,62,63]. Mindezt indokoltnak láttuk megvizsgálni, hogy az általunk az előző kísérletekben használt ugyanazon mintából származó A-Ghr miként hat a folyékony táplálékfelvételre i.c.v. alkalmazás után. Kísérleteinkben a laterális agykamrák dorsalis részébe injektált 500 ng dózisú A-Ghr nem okozott változást a tejfelvételben. Az 1000 ng A-Ghr

mikroinjekciója azonban a 15. perctől a mérés végéig tartó szignifikáns táplálékfelvétel növekedést okozott.

## **4.2. Metabolikus paraméterek mérése**

### ***4.2.1. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása a vércukorszintre ad libitum táplált állatokban***

Ezen kísérleteink során vehiculum, ill. a táplálékfelvétel mérési vizsgálatainkban hatékonynak bizonyult 50 ng és 100 ng A-Ghr hatását vizsgáltuk. Mindkét dózis esetén külön elemeztük a mikroinjekciókat megelőzően mért (-10 perc) vércukorszinteket párosított t-próbával, hogy igazoljuk a kiindulási vércukorszintekben nincs különbség a kontroll ill. az A-Ghr kezelésben részesülő állatok között. Az 50 ng A-Ghr mikroinjekciót követően szignifikáns vércukorszint emelő hatását igazoltunk a mikroinjekciót követő 20. és a 30. percben. Megfigyeléseink szerint az 100 ng A-Ghr injekciója szintén szignifikánsan megemelte a vércukorszintet a mikroinjekciókat követő 10. és a 20. percben a kontroll kezelés hatásához képest.

### ***4.2.2. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak akut hatása a szérum össz-koleszterin, HDL koleszterin, triglicerid, fehérje, húgysav, inzulin és leptin koncentrációra ad libitum táplált állatokban***

Vizsgálataink során olyan anyagok szérum koncentrációit mértük, melyek szerepet játszanak a táplálékfelvétel szabályozásában és/vagy koncentrációjuk jól jellemzi a szervezetben zajló anyagcsere-folyamatokat. Méréseinket vehiculum, 50 ng és 100 ng A-Ghr bilaterális BLA mikroinjekcióját 20 perccel követő tözsvéresztetéssel nyert vérmintából végeztük. A 20. percben történő mintavételt azért választottuk, mert az előzetes vércukorszint mérési vizsgálatokban ez az időpont bizonyult az A-Ghr hatás időpontjának, mindkét alkalmazott dózis esetén. Méréseink statisztikai értékelése során nem tapasztaltunk szignifikáns változást a szérum össz-fehérje, triglicerid, húgysav és leptin koncentrációkban az A-Ghr-el ill. vehiculummal kezelt csoportokban.

A szérum össz-koleszterin szint esetében mind az 50 ng mind pedig a 100 ng A-Ghr kezelésben részesült állatcsoport szérum össz-koleszterin koncentrációja szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult mint a vehiculum kezelésben részesült állatoknál. Hasonló eredményre kaptunk a szérum HDL koleszterin esetében is. A szérum inzulin mérés során az 50 ng A-Ghr mind a vehiculum mind pedig a 100 ng A-Ghr-el kezelt állatcsoportokhoz képest szignifikáns inzulin koncentráció csökkentő hatású volt.

### **4.3. Magatartási vizsgálatok**

#### ***4.3.1. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása open field tesztben***

Open field *tesztben* vizsgáltuk az A-Ghr spontán motoros aktivitásra kifejtett hatását, tíz perccel vehiculum, 50 ng vagy 100 ng A-Ghr bilaterális BLA injekcióját követően. Az eltérő kezelésben részesült állatcsoportok teszt során kapott adatait összevetettük ill. összehasonlítottuk az egy nappal a mikroinjekciókat megelőzően végzett mérés során felvett megtett út hosszával és keresztezések számával azaz az *alapakтивitással*. Az eredmények statisztikai értékelése során semmilyen összefüggésben nem találtunk eltérést az állatcsoportok között, sem a keresztezések számát illetően, sem pedig a megtett távolságban.

#### ***4.3.2. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása emelt keresztpalló tesztben (elevated plus maze)***

Emelt keresztpalló tesztben vizsgáltuk az A-Ghr lehetséges szorongást fokozó (anxiogén) ill. szorongás oldó (anxiolitikus) hatását, tíz perccel vehiculum, 50 ng vagy 100 ng A-Ghr bilaterális BLA injekcióját követően. Nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget egyetlen mért paraméterben sem. Ezen eredmények azt sugallják, hogy sem az 50 ng sem pedig a 100 ng A-Ghr nem anxiogén (nem okoz szorongást) ill. nem anxiolitikus (nem szorongás oldó) hatású.

#### ***4.3.3. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása passzív elhárító tesztben***

Kísérleteinkben vizsgáltuk 50 ng ill. 100 ng A-Ghr valamint ANT ill. ANT előkezelés hatását a passzív elhárításos tanulásra. Az 50 ng A-Ghr kétoldali BLA injekciója szignifikánsan növelte a latencia időt passzív elhárító tesztben 24 órával a kondicionálás után.

Egy héttel az elektromos sokkot követően az 50 ng A-Ghr hatása kiemelkedő maradt, de nem érte el a szignifikancia szintjét. Az eltérő kezelésben részesült állatcsoportok adatainak összehasonlítása az A-Ghr kezelést követően 24 órával azt mutatta, hogy az 50 ng A-Ghr kezelésben részesült állatoknak szignifikánsan több időre volt szükségük, hogy belépjenek a sötét dobozba, ahol az elektromos sokkot kapták. A 100 ng A-Ghr és az ANT önmagában hatástalan volt. Az 50 ng A-Ghr tanulást fokozó hatása bilaterális BLA ANT előkezeléssel meggátolható volt.

#### ***4.3.4. Az A-Ghr bilaterális intraamygdaláris mikroinjekcióinak hatása Morris féle úsztatási tesztben***

Morris féle úsztatási tesztben vizsgáltuk az A-Ghr mikroinjekciók hatását a helytanulásra. Az 50 ng A-Ghr kezelést kapott állatcsoport céltalálási latencia ideje (platform megtalálásához szükséges idő) szignifikánsan csökkent a kezelést követően. Sőt, az eltérő kezelésben részesült állatcsoportok mikroinjekció utáni (3. és 4. úszás átlaga) adatainak összevetéséből kitűnt, hogy az 50 ng A-Ghr kezelt állatoknak szignifikánsan kevesebb időre volt szükségük a platform megtalálásához mint a vehiculum, ANT vagy az ANT+50 ng A-Ghr kezelt állatoknak. A 100 ng A-Ghr és az ANT kezelés önmagában hatástalannak bizonyult. Az 50 ng A-Ghr tanulást fokozó hatása ANT előkezeléssel eliminálható volt. A kísérlet során mindegyik csoport mutatott tanulási tendenciát. Az 50 ng A-Ghr kezelést kapott állatcsoportnak a kezelést követően mindössze a mikroinjekció előtti céltalálási latencia idő 21,5 %-ra volt szüksége a platform megtalálásához, ez a többi csoport esetében 53-74 % volt.

## 5. Eredményeink összefoglalása, diszkusszió

### 5.1. Táplálékfelvétel mérési kísérletek

Táplálékfelvétel mérési vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy az A-Ghr mikroinjekciója a BLA-ba szignifikáns, tranzienst okozó folyékony táplálék felvétel csökkenést okoz az 50 ng-250 ng dózistartományban. A legalacsonyabb és a legmagasabb dózisok (25 ng és 500 ng) hatástalanok voltak, mutatva a jól ismert fordított U alakú dózis-hatás összefüggést, mely nagyon gyakran megfigyelhető különböző neuropeptid alkalmazása során [17,31]. Az említett dózistartományban az A-Ghr hatása specifikusnak bizonyult, mivel GHS-R antagonistával eliminálható volt. Eredményink azonban szemben állnak az irodalomban eddig fellelhető adatokkal [7,48,59,62,63]. Nevezetesen azokban a kísérletekben, melyekben az A-Ghr-t i.c.v. vagy direkt intrahypothalamicusan injektálták az A-Ghr szilárd táplálékfelvétel növelő hatását figyelték meg [7,59,62,63]. Ezért külön kísérletsorozatban tanulmányoztuk az i.c.v. injektált A-Ghr hatását a folyékony táplálékfelvételi paradigmában. Amint azt eredményink mutatják az A-Ghr (1000 ng/oldal) i.c.v. injekciója növelte a folyékony táplálékfelvételt. Ez teljesen egybevág a korábbi i.c.v. beadásokon alapuló eredményekkel [7,59,63] melyeket szilárd táplálék felvételének mérésével végeztek. Másrészt viszont szemben áll az A-Ghr BLA injekciója által okozott táplálékfelvétel csökkenéssel. Ez az ellentmondás feloldható az i.c.v. A-Ghr injekciók lehetséges hatáshelyének magyarázatával. Az i.c.v. injekció esetében az alkalmazott neuropeptid diffúziós sebessége nagyobb a cerebrospinális folyadékban mint az agyi parenchymában, így az A-Ghr az agy kamrára viszonylag nagy felszínén szétterjed mielőtt bekerülne az agyállományba. Ezért, véleményünk szerint, az i.c.v. injekció egy jóval általánosabb hatást okoz mint a lokális mikroinjekció. Továbbá, irodalmi adatok alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a perifériásan vagy az i.c.v. alkalmazott Ghr táplálékfelvételt fokozó hatása a NPY és/vagy a AgRP rendszeren keresztül valósul meg [36]. A mi kísérleteinkben azonban az i.c.v. beültetett kanülök meglehetősen távol voltak az AMY-tól. A diffúzió miatt minél távolabb van egy adott agyi terület, ott annál kisebb a beadott anyag koncentrációja. Következésképpen tehát az A-Ghr koncentrációja a távoli BLA-ban nagyon alacsony volt (ha volt egyáltalán). Ezzel szemben, az A-Ghr célzott BLA mikroinjekciója esetén a neuropeptid a lokális, elérhető GHS receptorokhoz tud kötni és módosíthatja a lokális neuronhálózatok működését.



Külön kísérletekben vizsgáltuk a 24 órás éhztetés hatását a BLA-ba injektált A-Ghr táplálékfelvétel csökkentő hatására. Jól ismert, hogy táplálékmegevonást követően fokozódik az éhség-hajtóerő (drive). Éhztetés hatására kezdetben nő a kísérleti állatok táplálék felkutatásra kifejtett aktivitása, ami a fokozott explorációban ill. fokozott motoros aktivitásban nyilvánul meg. Másrészt azt is ismerjük, hogy éhezés során a szérumban nő a keringő Ghr koncentráció (mind az A-Ghr, mind pedig a DA-Ghr). Vizsgálatainkban azt tapasztaltuk, hogy az éhség fokozásával a korábban hatékonynak bizonyult 50 ng és 100 ng A-Ghr táplálékfelvétel csökkentő hatása megszűnt. Azaz a fokozott éhség-motiváció ellensúlyozta az A-Ghr szatiációs hatását. Mindez arra utal, hogy a BLA-ba injektált A-Ghr az éhség-motívált magatartás modulálásában vesz részt.

Mivel az A-Ghr poszttranszlációs észterifikációja nem stabil [27] és az agyszövet nem-specifikus észterázokat tartalmaz, így felmerül a lehetősége annak, hogy az általunk tapasztalt hatás az A-Ghr deacylációja során létrejött DA-Ghr által közvetített. Kísérleteinkben azonban igazoltuk, hogy az azonos folyékony táplálékfelvételi paradigmában, az A-Ghr kezelésekkel összevethető dózistartományban (25 ng, 50 ng ill. 100 ng) a DA-Ghr bilaterális BLA injekciója nem befolyásolta a táplálékfelvételt.

## 5.2. Metabolikus paraméterek mérése

Vizsgálatainkban 50 ng és 100 ng A-Ghr mikroinjekcióját követően mérve a vércukorszintet azt találtuk, hogy ad libitum táplálált, normoglikémiás patkányokban mind az 50 ng mind pedig a 100 ng A-Ghr BLA injekciója emelte a vércukorszintet, miközben a kisebbik dózis esetén az inzulin szérumban koncentrációjának csökkenését is detektálhattuk. Ez a vércukorszint növekedés mindkét dózis esetében megelőzte a szignifikáns táplálékfelvétel csökkenést. Ebből arra következtethetünk, hogy a BLA-ba juttatott A-Ghr okozta akut és tranziens vércukorszint emelkedés jóllakottsági szignálként hatva átmeneti táplálékfelvétel csökkenést okozhat. A megemelkedett vércukorszintek mindkét alkalmazott dózis esetében a normál tartományon belül voltak.

A megnövekedett vércukorszintről biztosan tudjuk, hogy inzulin elválasztást indukál. Azonban a táplálkozás megkezdése során az inzulin szekréció azonnal megkezdődik, noha még a táplálékból történő glukóz felszívódás és vércukorszint emelkedés nem tapasztalható [57]. Az inzulin szekréció előfeltétele a  $\beta$  sejtek membránjának depolarizáció okozta fokozott  $Ca^{2+}$

permeabilitása. Az így megemelkedő intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció iniciálja az inzulin tartalmú vesiculák kiürülését. Az A-Ghr kötődése GHS-R 1a receptorához intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció emelkedést indukál az  $\text{IP}_3$  mediálta jelátviteli úton keresztül [44]. Mindez azt sugallná, hogy a Ghr (A-Ghr) kötődése funkcionálisan aktív receptorához az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció emelése révén inzulin szekréciót indukálna. A kísérletes tapasztalatok azonban ellentmondásosak. Egyes szerzők az A-Ghr inzulin szekréciót gátló, mások az inzulin szekréciót serkentő hatásáról számoltak be [1,15,40,52]. Lehetséges, hogy az A-Ghr-nek szérumban glükóz koncentráció függő hatásai vannak az inzulin ill. glukagon elválasztásra [54].

Az inzulin bizonyosan részt vesz a lipoprotein metabolizmus szabályozásában is. Növeli a koleszterin és így a HDL koleszterin szintézisét a májban, többek között a HMG CoA reduktáz enzim aktivitásának fokozása révén [47]. Ha feltételezzük tehát, hogy az euglikémiás patkányban az A-Ghr az inzulin szekréciót csökkenti, akkor ennek következménye lehet a májban zajló lipoprotein szintézis csökkenése is [53], mely magyarázhatja az A-Ghr mindkét általunk alkalmazott dózisának (50 ng ill. 100 ng A-Ghr) intraamygdaláris mikroinjekcióit követően tapasztalt plazma össz-koleszterin és HDL koleszterin koncentrációk csökkenését.

Ezen változások lehetséges mechanizmusa az HT vegetatív központjaiból kiinduló vegetatív efferensek intraamygdaloid A-Ghr injekciók okozta aktivitás változása, mely az AMY és a HT anatómiai kapcsolatrendszerén keresztül valósulhat meg. Ezen efferensek azután a pancreas hormontermelését és a máj metabolikus folyamatait befolyásolva létrehozhatják az említett változásokat.

### **5.3. Magatartási vizsgálatok**

Mind a passzív elhárító teszt mind pedig a Morris féle úsztatási teszt a memória kialakulást és memória retenciót vizsgáló magatartási paradigma. Ugyanakkor, elengedhetetlen e tesztek értékeléséhez az A-Ghr kísérleti állatok spontán motoros aktivitására, motoros képességére és szorongására kifejtett hatásának ismerete.

#### **5.3.1. *Open field és emelt keresztpalló teszt***

Az open field tesztben mérhető motoros aktivitás megváltozása hatással lehet mind a passzív elhárításos, mind a Morris féle úsztatási tesztben mérhető tanulás latencia idejére. A

motoros aktivitás meglassulása a latencia idők növekedéséhez vezethet, ami passzív elhárító tesztben a memória retenció fokozódásának, míg az úsztatási tesztben a tanulás romlásának hamis következtetéséhez vezethet. A motoros aktivitás fokozódása pedig nehezen megjósolható, de jelentős hatással lehet a latenciaidőkre, így befolyásolva a tesztek értékelhetőségét. Irodalmi adatok az A-Ghr open field tesztben mérhető hatásával kapcsolatosan többfélék, részben ellentmondóak. Egyes szerzők azt tapasztalták, hogy az A-Ghr i.c.v. injekciója fokozta a keresztezések és az ágaskodások (rearing: mikor az állat két hátsó lábára áll, jellemző viselkedésforma az exploráció során) számát [32], mások ugyanakkor nem találtak változást a lokomócióban [9]. Ezek a kísérletek i.c.v. mikroinjekciók voltak, melyek hatása jóval általánosabb, mint az általunk használt direkt agyi mikroinjekció. Vizsgálatainkban nem találtunk változást a lokomócióban az akut 50 ng vagy 100 ng A-Ghr mikroinjekciók hatására.

Az emelt keresztpalló teszt alkalmas egy kémiai anyag szorongásra kifejtett hatásának vizsgálatára. A patkányok természetes viselkedésüknél fogva több időt töltenek az apparátus biztonságos, zárt karjain [13]. A szorongás keltő (anxiogén) anyagok növelik a normál tendenciát, azaz az averziót a nyitott karokkal szemben. Így az állat több időt tölt a zárt karokon, mozgása is erre a területre koncentrálódik, azaz a nyitott karokra történő belépések száma is csökken. Az anxiolitikus (szorongás csökkentő) anyagok hatására az állat kimerészkedik a nyitott karokra, sőt annak végeire is, többször lép ki és több időt tölt ott el. A rendelkezésünkre álló kevés adat szerint az i.p. vagy i.c.v. alkalmazott A-Ghr csökkenti a nyitott karokra történő kilépések számát és az ott eltöltött időt is, így anxiogén hatásúnak bizonyult [5,9]. Kísérletinkben azonban a BLA-ba injektált 50 ng vagy 100 ng dózisú A-Ghr nem befolyásolta a mért paramétereket, sem anxiogén, sem anxiolitikus hatást nem fejtett ki.

### **5.3.2. Passzív elhárító teszt**

Carlini és munkatársai számoltak be először arról, hogy az A-Ghr i.c.v. injekciója képes megváltoztatni a memória folyamatokat [9]. Tanulmányukban az A-Ghr i.c.v. alkalmazása dózis függő módon fokozta a memória retenciót “step down” tesztben. Ebben a kísérleti szituációban az állatnak egy kisméretű platformon kell megmaradnia, ha a platformról lelép elektromos sokkal büntetik. Ezen a ponton újra ki kell hangsúlyoznunk azt a tényt, hogy alapvető különbség mutatkozik az i.c.v injekció és a direkt intracerebrális injekció hatása között [60]. Ahogy azt már korábban is említettük (előző fejezet) az i.c.v alkalmazás sokkal “általánosabb” hatást fejthet ki

mint a lokális agyi beadás, hiszen a diffúzióknak köszönhetően minél távolabb van az adott agyi terület a beadás helyétől annál kisebb lesz ott a beadott anyag koncentrációja. Más kísérletekben azt találták, hogy az A-Ghr intrahippocampális vagy a raphe dorsalisba adott injekciója fokozta a memóriát elhárításos szituációban [10]. Eredményeink bizonyítják, hogy averzív szituációban az intraamygdaloid A-Ghr fokozza a tanulási folyamatokat és a memóriát. Ez a hatás specifikus, mivel ekvimoláris mennyiségű ANT előkezeléssel kivédhető. Ugyanakkor további vizsgálatok szükségesek, hogy feltárják az intraamygdaloid A-Ghr tanulási mechanizmusokra kifejtett hatásának részleteit.

### **5.3.3. Morris féle úsztatási teszt**

A Morris féle úsztatási teszt egy elfogadott tér-tanulást vizsgáló metodika. Alapvetően eltér a passzív elhárításos tanulástól. A Morris féle úsztatási teszt során az állat tanulási folyamatait külső jelek, térbeli tájékozódást segítő szimbólumok, tárgyak szabályozzák. A szituáció az állat aktív közreműködését igényli. Ismereteink szerint eddig senki sem tanulmányozta az intraamygdaloid A-Ghr lehetséges hatását a térbeli tanulásra. A hatékony dózis a Morris féle úsztatási tesztben hasonlóan a passzív elhárító szituációban tapasztaltakhoz az 50 ng (14,84 pmol)/0,4 µl/oldal A-Ghr volt.

Eredményeink azt mutatják, hogy az A-Ghr részt vesz a térbeli tanulás AMY-hoz kötött folyamatainak facilitálásában. Ez specifikus hatás, mert ekvimoláris mennyiségű ANT előkezeléssel felfüggeszthető volt.

Magatartási kísérleteinkben, két különböző paradigmában igazoltuk, hogy az intraamygdaloid ghrelinerg mechanizmusok résztvesznek a memóriafolyamatok szabályozásában, a hatás GHS-R specifikus, mivel ANT előkezeléssel felfüggeszthető. A memória kialakulását és a memória retencióját jellemző latencia idő változások nem magyarázhatók a spontán motoros aktivitásra vagy szorongásra kifejtett hatással, mivel open field és emelt keresztpalló tesztben nem találtunk erre utaló változásokat.

Eredményeink az elsők az irodalomban melyek azt mutatják, hogy az intraamygdaloid ghrelinerg mechanizmusok résztvesznek mind az averzív szituációhoz kötött memóriafolyamatok kialakulásában, mind pedig a tér-tanulásban.

## **6. Irodalomjegyzék**

- [1] E. Adeghate and A.S. Ponery, Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats, *J Neuroendocrinol* 14 (2002) 555-560.
- [2] J.P. Aggleton, A description of the amygdalo-hippocampal interconnections in the macaque monkey, *Exp Brain Res* 64 (1986) 515-526.
- [3] J.P. Aggleton, H.S. Blindt and J.N. Rawlins, Effects of amygdaloid and amygdaloid-hippocampal lesions on object recognition and spatial working memory in rats, *Behav Neurosci* 103 (1989) 962-974.
- [4] B.K. Anand, Brobeck, J.R., Localization of "feeding center" in the hypothalamus of the rat, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 77 (1951) 323-324.
- [5] A. Asakawa, A. Inui, T. Kaga, H. Yuzuriha, T. Nagata, M. Fujimiya, G. Katsuura, S. Makino, M.A. Fujino and M. Kasuga, A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice, *Neuroendocrinology* 74 (2001) 143-147.
- [6] A. Asakawa, A. Inui, T. Kaga, H. Yuzuriha, T. Nagata, N. Ueno, S. Makino, M. Fujimiya, A. Nijima, M.A. Fujino and M. Kasuga, Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin, *Gastroenterology* 120 (2001) 337-345.
- [7] M. Bagnasco, G. Tulipano, M.R. Melis, A. Argiolas, D. Cocchi and E.E. Muller, Endogenous ghrelin is an orexigenic peptide acting in the arcuate nucleus in response to fasting, *Regul Pept* 111 (2003) 161-167.
- [8] V.P. Carlini, R.C. Gaydou, H.B. Schioth and S.R. de Barioglio, Selective serotonin reuptake inhibitor (fluoxetine) decreases the effects of ghrelin on memory retention and food intake, *Regul Pept* 140 (2007) 65-73.
- [9] V.P. Carlini, M.E. Monzon, M.M. Varas, A.B. Cragolini, H.B. Schioth, T.N. Scimonelli and S.R. de Barioglio, Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats, *Biochem Biophys Res Commun* 299 (2002) 739-743.
- [10] V.P. Carlini, M.M. Varas, A.B. Cragolini, H.B. Schioth, T.N. Scimonelli and S.R. de Barioglio, Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin, *Biochem Biophys Res Commun* 313 (2004) 635-641.
- [11] J. Carlsen and L. Heimer, The basolateral amygdaloid complex as a cortical-like structure, *Brain Res* 441 (1988) 377-380.
- [12] L.F. Crovetti, Mancia M., M. Mariotti, M. Porrini, P. Spinnler, G. Testolini, Food intake after amygdaloid lesions in the rats, *Nutr. Res.* 15 (1995) 565-570.
- [13] A.P. Cruz, F. Frei and F.G. Graeff, Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze, *Pharmacol Biochem Behav* 49 (1994) 171-176.
- [14] Y. Date, M. Kojima, H. Hosoda, A. Sawaguchi, M.S. Mondal, T. Suganuma, S. Matsukura, K. Kangawa and M. Nakazato, Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans, *Endocrinology* 141 (2000) 4255-4261.
- [15] Y. Date, M. Nakazato, S. Hashiguchi, K. Dezaki, M.S. Mondal, H. Hosoda, M. Kojima, K. Kangawa, T. Arima, H. Matsuo, T. Yada and S. Matsukura, Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion, *Diabetes* 51 (2002) 124-129.
- [16] C. Dornonville de la Cour, M. Bjorkqvist, A.K. Sandvik, I. Bakke, C.M. Zhao, D. Chen and R. Hakanson, A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control, *Regul Pept* 99 (2001) 141-150.
- [17] E. Fekete, J. Vigh, E.E. Bagi and L. Lenard, Gastrin-releasing peptide microinjected into the amygdala inhibits feeding, *Brain Res* 955 (2002) 55-63.
- [18] E.M. Fekete, E.E. Bagi, K. Toth and L. Lenard, Neuromedin C microinjected into the amygdala inhibits feeding, *Brain Res Bull* 71 (2007) 386-392.
- [19] E. Fonberg, Amygdala functions within the alimentary system, *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 34 (1974) 435-466.
- [20] E. Fonberg, The amygdaloid body and its significance in the appetitive and emotional behavior in animals, *Acta Physiol Pol*, 25 (1974) 93-139.
- [21] E. Fonberg, Aphagia, produced by destruction of the dorsomedial amygdala in dogs, *Bull Acad Pol Sci Biol* 14 (1966) 719-722.
- [22] E. Fonberg, Hyperphagia produced by lateral amygdalar lesions in dogs, *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 31 (1971) 19-32.
- [23] E. Fonberg, The instrumental alimentary-avoidance differentiation in dogs, *Acta Biol Exp (Warsz)* 28 (1968) 363-373.
- [24] E. Fonberg, The normalizing effect of lateral amygdalar lesions upon the dorsomedial amygdalar syndrome in dogs, *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 33 (1973) 449-466.

- [25] J.L. Fudge and A.B. Emiliano, The extended amygdala and the dopamine system: another piece of the dopamine puzzle, *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 15 (2003) 306-316.
- [26] S.W. Heterington, The spontaneous activity and food intake of rats with hypothalamic lesions, *Am J Physiol* 136 (1942) 609-617.
- [27] H. Hosoda, K. Doi, N. Nagaya, H. Okumura, E. Nakagawa, M. Enomoto, F. Ono and K. Kangawa, Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples, *Clin Chem* 50 (2004) 1077-1080.
- [28] H. Hosoda, M. Kojima, H. Matsuo and K. Kangawa, Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue, *Biochem Biophys Res Commun* 279 (2000) 909-913.
- [29] H. Hosoda, M. Kojima, T. Mizushima, S. Shimizu and K. Kangawa, Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing, *J Biol Chem* 278 (2003) 64-70.
- [30] A.D. Howard, S.D. Feighner, D.F. Cully, J.P. Arena, P.A. Liberators, C.I. Rosenblum, M. Hamelin, D.L. Hreniuk, O.C. Palyha, J. Anderson, P.S. Paresse, C. Diaz, M. Chou, K.K. Liu, K.K. McKee, S.S. Pong, L.Y. Chung, A. Elbrecht, M. Dashkevich, R. Heavens, M. Rigby, D.J. Sirinathsinghji, D.C. Dean, D.G. Melillo, A.A. Patchett, R. Nargund, P.R. Griffin, J.A. DeMartino, S.K. Gupta, J.M. Schaeffer, R.G. Smith and L.H. Van der Ploeg, A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release, *Science* 273 (1996) 974-977.
- [31] J.P. Huston and M.S. Oitzl, The relationship between reinforcement and memory: parallels in the rewarding and mnemonic effects of the neuropeptide substance P, *Neurosci Biobehav Rev* 13 (1989) 171-180.
- [32] M. Jaszberenyi, E. Bujdoso, Z. Bagosi and G. Telegdy, Mediation of the behavioral, endocrine and thermoregulatory actions of ghrelin, *Horm Behav* 50 (2006) 266-273.
- [33] J. Kamegai, H. Tamura, T. Shimizu, S. Ishii, H. Sugihara and I. Wakabayashi, Chronic central infusion of ghrelin increases hypothalamic neuropeptide Y and Agouti-related protein mRNA levels and body weight in rats, *Diabetes* 50 (2001) 2438-2443.
- [34] R.W.a.D.P. Kimble, Effect of amygdaloid lesions on retention of an avoidance response in overtrained and nonovertrained rats, *Psychonom. Sci.* 6 (1966) 9-10.
- [35] H.B. Klüver, and Bucy, P.C., Preliminary analysis of function of the temporal lobes in monkeys., *Arch. Neurol. Psychiatry* 42 (1939) 979-1000.
- [36] M. Kojima and K. Kangawa, Ghrelin: structure and function, *Physiol Rev* 85 (2005) 495-522.
- [37] J.E. Krettek and J.L. Price, A direct input from the amygdala to the thalamus and the cerebral cortex, *Brain Res* 67 (1974) 169-174.
- [38] J.E. Krettek and J.L. Price, Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat, *J Comp Neurol* 172 (1977) 723-752.
- [39] J.E. LeDoux, P. Cicchetti, A. Xagoraris and L.M. Romanski, The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning, *J Neurosci* 10 (1990) 1062-1069.
- [40] H.M. Lee, G. Wang, E.W. Englander, M. Kojima and G.H. Greeley, Jr., Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations, *Endocrinology* 143 (2002) 185-190.
- [41] L. Lénárd, G. Jandó, Z. Karádi, A. Hajnal and P. Sándor, Lateral hypothalamic feeding mechanisms: iontophoretic effects of kainic acid, ibotenic acid and 6-hydroxydopamine, *Brain Res Bull* 20 (1988) 847-856.
- [42] L. Lénárd, Z. Karadi, G. Jando, H. Yoshimatsu, A. Hajnal, P. Sandor and Y. Oomura, Feeding and body weight regulation after 6-OHDA application into the preoptic area, *Brain Res Bull* 27 (1991) 359-365.
- [43] L. Lénárd, Sarkisian, J. and Szabó, I., Sex-dependent survival of rats after bilateral pallidal lesions, *Physiol Behav* 15 (1975) 389-397.
- [44] M.M. Malagon, R.M. Luque, E. Ruiz-Guerrero, F. Rodriguez-Pacheco, S. Garcia-Navarro, F.F. Casanueva, F. Gracia-Navarro and J.P. Castano, Intracellular signaling mechanisms mediating ghrelin-stimulated growth hormone release in somatotropes, *Endocrinology* 144 (2003) 5372-5380.
- [45] Y. Masuda, T. Tanaka, N. Inomata, N. Ohnuma, S. Tanaka, Z. Itoh, H. Hosoda, M. Kojima and K. Kangawa, Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats, *Biochem Biophys Res Commun* 276 (2000) 905-908.
- [46] M. Nakazato, N. Murakami, Y. Date, M. Kojima, H. Matsuo, K. Kangawa and S. Matsukura, A role for ghrelin in the central regulation of feeding, *Nature* 409 (2001) 194-198.
- [47] D. Nelson and M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, Fourth Edition (2008).
- [48] P.K. Olszewski, M.K. Grace, C.J. Billington and A.S. Levine, Hypothalamic paraventricular injections of ghrelin: effect on feeding and c-Fos immunoreactivity, *Peptides* 24 (2003) 919-923.
- [49] P.K. Olszewski, D. Li, M.K. Grace, C.J. Billington, C.M. Kotz and A.S. Levine, Neural basis of orexigenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus, *Peptides* 24 (2003) 597-602.

- [50] G. Paxinos and C.R. Watson, The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, New York Second edition (1986).
- [51] M.A. Peinado-Manzano, The role of the amygdala and the hippocampus in working memory for spatial and non-spatial information, Behav Brain Res 38 (1990) 117-134.
- [52] M.K. Reimer, G. Pacini and B. Ahren, Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse, Endocrinology 144 (2003) 916-921.
- [53] M. Romon, P. Thomas-Desrousseaux, R. Beuscart, P. Fossati, G. Sezille and J. Jaillard, [Insulin and the metabolism of lipoproteins], Ann Endocrinol (Paris) 44 (1983) 77-81.
- [54] A. Salehi, C. Dornonville de la Cour, R. Hakanson and I. Lundquist, Effects of ghrelin on insulin and glucagon secretion: a study of isolated pancreatic islets and intact mice, Regul Pept 118 (2004) 143-150.
- [55] M. Sarter and H.J. Markowitsch, Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations, Behav Neurosci 99 (1985) 342-380.
- [56] L. Stefanacci and D.G. Amaral, Topographic organization of cortical inputs to the lateral nucleus of the macaque monkey amygdala: a retrograde tracing study, J Comp Neurol 421 (2000) 52-79.
- [57] J.H. Strubbe, Central nervous system and insulin secretion, Neth J Med 34 (1989) 154-167.
- [58] P. Teitelbaum, Epstein, A.N., The lateral hypothalamic syndrome: Recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions, Psychol. Rev. 69 (1962) 74-90.
- [59] A. Torsello, V. Locatelli, M.R. Melis, S. Succu, M.S. Spano, R. Deghenghi, E.E. Muller and A. Argiolas, Differential orexigenic effects of hexarelin and its analogs in the rat hypothalamus: indication for multiple growth hormone secretagogue receptor subtypes, Neuroendocrinology 72 (2000) 327-332.
- [60] K. Toth, K. Laszlo, E.E. Bagi, E. Lukacs and L. Lenard, Effects of intraamygdaloid microinjections of acylated-ghrelin on liquid food intake of rats, Brain Res Bull 77 (2008) 105-111.
- [61] L. Trudel, C. Tomasetto, M.C. Rio, M. Bouin, V. Plourde, P. Eberling and P. Poitras, Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 282 (2002) G948-952.
- [62] M. Tschop, D.L. Smiley and M.L. Heiman, Ghrelin induces adiposity in rodents, Nature 407 (2000) 908-913.
- [63] A.M. Wren, C.J. Small, C.R. Abbott, W.S. Dhillo, L.J. Seal, M.A. Cohen, R.L. Batterham, S. Taheri, S.A. Stanley, M.A. Ghatei and S.R. Bloom, Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats, Diabetes 50 (2001) 2540-2547.

## 7. Publikációs jegyzék

### 7.1. A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk

**K. Tóth**, K. László, É. E. Bagi, E. Lukács, L. Lénárd: Effect of intraamygdaloid microinjections of acylated-ghrelin on liquid food intake. Brain Research Bull. 77 (2008) 105-111. **IF: 2,281**

**K. Tóth**, K. László, E. Lukács, L. Lénárd: Intraamygdaloid microinjection of acylated-ghrelin influences passive avoidance learning. Behavioural Brain Research 202 (2009) 308-311. **IF: 3,171**

**K. Tóth**, K. László, L. Lénárd: Role of intraamygdaloid acylated-ghrelin in spatial learning. Brain Research Bull. 2009, PMID: 19828130. **IF: 2,281**

É. Lányi, K. Csernus, É. Erhardt, **K. Tóth**, B. Urbán, L. Lénárd and D. Molnár: Plasma levels of active ghrelin during an oral glucose tolerance test in obese children. Eur. Journal of Endocrinological Investigation, Vol.30, No. 2, (February 2007) 133-137.  
**IF: 2,021**

## 7.2. Egyéb publikációk

É. Fekete, É. E. Bagi, **K. Tóth** and L. Lénárd: Neuromedin C microinjected into the amygdala inhibits feeding. Brain Research Bull. 71 (2007) 386-392. *IF: 1,943*

Bagi, É.E., É. Fekete, **K. Tóth**, L. Lénárd: Angiotensinergic mechanism regulating NaCl and fluid balance in the zona incerta. Proceeding J. Physiology London, 2005.

O. Hangodi, B. Urbán, E. E. Bagi, E. M. Fekete, **K. Tóth** and L. Lénárd: Orexin-A microinjection mediated food and water intake are antagonized by selective orexin-1 receptor antagonist in the bed nucleus of stria terminalis. Int. Congress Series, 2005. Proceeding.

**Tóth K.**, Lukács E., László K., Bagi E. E., Lénárd L.: Effects of intraamygdalar injection of ghrelin on liquid food and water intake. Clinical Neuroscience 59 (1 suppl.), 66.

Bagi É., **Tóth K.**, Truta-Feles K., Lénárd L.: Angiotensinergic regulation of salt hunger in the zona incerta of rat brain. Acta Physiologica Hungarica, 92(3-4): 261, 2005.

**Tóth K.**, Bagi É., Lénárd L.: Effects of ghrelin injected into the amygdala on food intake of rats. Acta Physiologica Hungarica, 92(3-4): 317, 2005.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Intra-amygdaloid ghrelinergic mechanisms in different learning paradigms. Acta Physiologica Hungarica, 94(4): 398, 2007.

László K., **Tóth K.**, Bárdosi R., Oláh-Várady K., Kertes E., Lénárd L.: The role of neurotensin in Morris water maze and passive avoidance paradigm. Acta Physiologica Hungarica, 94(4): 369, 2007.

## 7.3. Konferencia absztraktok

É. Fekete, L. Lénárd, É. E. Bagi and **K. Tóth**: Effect of intraamygdalar gastrin releasing peptide and neuromedin B on food intake and blood glucose level in rats. Abstract of the 66th Joint Meeting of the Hungarian physiological Society, Szeged (Hungary), Abstract book, p:64, 2001.

É. Fekete, É. E. Bagi, D. H. Coy, **K. Tóth** and L. Lénárd: Elimination of feeding suppression effect of gastrin releasing peptide (GRP) by selective GRP receptor antagonist in the amygdala. Abstracts of the International Behavioral Neuroscience Society, Capri (Italy), Vol.11., p:34, 2002.

Fekete É., Bagi É. E., **Tóth K.**, Lénárd L.: A bombezin típusú peptidek intraamygdaláris mikroinjekciójának hatása a patkány táplálékfelvételére és vércukorszintjére. Magyar Viselkedés-Élettani Konferencia, Budapest, november 14, 2002.

É. Fekete, É. E. Bagi, **K. Tóth** and L. Lénárd: Intraamygdaloid microinjection of neuromedin C influences feeding behavior. Abstract of the 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest (Hungary), 2002.

**Tóth K.**, Bányai D.: Neuromedin B intraamygdaláris injekciójának hatása patkány táplálékfelvételére. Tudományos Diákköri Konferencia (házi), Pécs 2002. Előadás. Első helyezés.

Bányai D., **Tóth K.**: A zona incertába adott angiotenzin II és III mikroinjekciók hatása patkányok ivási magatartására. Tudományos Diákköri Konferencia (házi), Pécs 2002. Előadás. Második helyezés.

**Tóth K.**: Neuromedin B intraamygdaláris injekciójának hatása patkány táplálékfelvételére.



Dékáni Pályamunka, 2002. Első helyezés.

**Tóth K.:** Intraamygdaláris Neuromedin B és Neuromedin C injekciók hatása patkány táplálékfelvételére. Tudományos Diákköri Konferencia (házi), Pécs 2003. Előadás. Második helyezés. Továbbjutás az Országos Diákköri Konferenciára.

**Tóth K.:** Intraamygdaláris Neuromedin B és Neuromedin C injekciók hatása patkány táplálékfelvételére. Marosvásárhelyi Magyar Orvostanhallgatók X. Tudományos Diákköri Konferencia, Marosvásárhely (Románia, Erdély), 2003. április 3-6. Előadás.

Bagi É. E., Fekete É., Bányai D., **Tóth K.**, Lénárd L.: A zóna incerta angiotenzinergias mechanizmusainak szerepe a szomjúság-motiválta magatartás szabályozásában. A MÉT LXVII. Vándorgyűlése, Pécs, E33, p.:31, 2003.

Bagi É. E., Trotta-Feles K., **Tóth K.**, Lénárd L.: A szervezet sóéhségének és vízháztartásának angiotenzinergias szabályozása patkány zona incertában és amygdalában. A MÉT LXVIII. Vándorgyűlése, Debrecen, 2004. Június 7-9. Előadás.

Bagi É. E., Fekete É., **Tóth K.**, Truta-Feles K., Lénárd L.: Sóéhséget és folyadék háztartást szabályozó angiotenzinerg mechanizmusok a központi idegrendszerben. A MITT XI. Kongresszusa, Pécs, 2005. Január 25-29. Előadás. Absztrakt könyv E:22.

Hangodi O., Urbán B., Bagi É. E., Fekete É., **Tóth K.**, Lénárd L.: Effects of orexin-A microinjections into the bed nucleus of stria terminalis on food and water intake are antagonized by selective orexin-1 receptor antagonist SB334867. A MITT XI. Kongresszusa, Pécs, 2005. Január 25-29. Poszter. Absztrakt könyv p.:A 111.

**Tóth K.**, Bagi É., Lénárd L.: Ghrelin intraamygdaláris injekciójának hatása patkány táplálékfelvételére. MÉT LXIX. Vándorgyűlése, Budapest, 2005. június 2-4. Előadás. Absztrakt könyv E.:54.

Bagi É., **K. Tóth**, K. Truta-Feles, L. Lénárd: A sóéhség központi idegrendszeri angiotenzinerg szabályozása patkány zona incertában. A MÉT LXIX. Vándorgyűlése, Budapest. E55, p.: 49, 2005.

Lénárd, L., O. Hangodi, E. Bagi, B. Urban, E. Fekete, **K. Tóth**: Orexin-1 receptors mediate food and water intake related effects of Orexin-A in the bed nucleus of stria terminalis. Ann. Congress of IBNS, Santa Fe, New Mexico, Abstr. of IBNS, Vol: 14, p.: 50, 2005.

O. Hangodi, B. Urbán, E. E. Bagi, E. M. Fekete, **K. Tóth** and L. Lénárd: Selective orexin-1 receptor antagonist (SB 334867) antagonizes the effects of orexin-A on food and water intake in the bed nucleus of stria terminalis. The 4th Neuroscience Workshop in Kyushu, Fukuoka (Japan), 2005. Poster.

**Tóth K.**, Lukács E., László K., Bagi E. E., Lénárd L.: Effects of intraamygdalar injection of ghrelin on liquid food and water intake. International IBRO Workshop, Budapest, 2006. Poster. Abstract book p.:94.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Bagi E. E., Lénárd L.: Intraamygdaláris ghrelin mikroinjekció hatása patkány táplálékfelvételére és spontán motoros aktivitására. MÉT 70. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. Előadás.

László K., Kertes E., **Tóth K.**, Oláhné Várady K., Táló Sz., Lénárd L.: A neurotensin és a neurotensin-1 receptor antagonista (SR 48692) szerepe a pozitív megerősítésben. MÉT 70. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. Előadás.

**K. Tóth**, K. László, É.E. Bagi, L. Lénárd: Ghrelinergic effect on feeding and spontaneous motor activity of rats in the amygdala. FENS, Vienna, 2006. Poster.

K. László, E. Kertes, **K. Tóth**, K. Oláh-Várady, É.E. Bagi, Sz. Táló, L. Lénárd: The role of neurotensin in positive reinforcement. FENS, Vienna, 2006. Poster.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Effects of intraamygdaloid ghrelin on passive avoidance learning. A MITT XII. Kongresszusa, Szeged, 2007. Január 25-27. Poszter.

K. László, **K. Tóth**, E. Kertes, K. Oláh-Várady, R. Bárdosi, L. Lénárd: Effect of neurotensin in amygdaloid learning mechanisms. A MITT XII. Kongresszusa, Szeged, 2007. Január 25-27. Poszter.

**Tóth K.**, Lukács E., László K., Bagi É. E., Lénárd L.: Intraamygdaloid acylated ghrelin causes food intake decrease. European Congress of Obesity 2007, Satellita: Táplálkozás, Metabolizmus és az Agy, Tihany, Hungary, Április 25-27. Poszter.

Lénárd L., Fekete É., **Tóth K.**, Hangodi O., Bagi É. E., Laszlo K., Urbán B.: Anorexigenic and orexigenic peptides influence feeding related regulation in the amygdaloid body. European Congress of Obesity 2007, Satellita: Táplálkozás, Metabolizmus és az Agy, Tihany, Hungary, Április 25-27. Előadás.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Intraamygdaláris ghrelinerg mechanizmusok vizsgálata különböző tanulási paradigmákban. A Magyar Élettani Társaság LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, június 6-8, 2007. Előadás C.4.2.

László K., **Tóth K.**, Bárdosi R., Oláh-Várady K., Kertes E., Lénárd L.: Neurotenzin hatásainak vizsgálata Morris féle úsztatási tesztben és passzív elhárító szituációban. A Magyar Élettani Társaság LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, június 6-8, 2007. Előadás C.4.4.

K. **Tóth** , E. Lukács , K. László , L. Lénárd: Role of intraamygdaloid acylated-ghrelin in learning. Programme of European Neuroscience Schools, Advanced Course in Neuroplasticity. PENS Blackwell Summer School 2007. September 5-11, 2007, Rome, Italy. Poster.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Effect of acylated ghrelin on learning and memory processes in the amygdala. Meeting of European Brain and Behaviour Society, September 15-19, 2007. Trieste, Italy. Poster.

**Tóth K.**, Lukács E., László K., Lénárd L.: Acylated-ghrelin microinjection into the amygdaloid body elevates blood glucose level and decreases food intake. International IBRO Workshop, Debrecen, Hungary, Jan. 23-26, 2008. Poster. Abstract book p.:47.

K. László, **K. Tóth**, R. Bárdosi, Á. Molnár, E. Kertes, K. Oláh-Várady, L. Lénárd: Enhancement of passive avoidance learning by Neurotensin injected into the rat central nucleus of amygdale. International IBRO Workshop, Debrecen, Hungary, Jan. 23-26, 2008. Poster. Abstract book p.:36.

K. László, R. Bárdosi, L. Péczely, Á. Molnár, Sz. Sánta, E. Kertes, K. Oláh-Várady, **K. Tóth**, L. Lénárd: Significance of the neurotensin- dopamine interactions in the reinforcement. 72nd Joint Meeting of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary, jun 4-6, 2008. Oral Presentation. Abstract book p.:86.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Blood glucose increasing and food intake decreasing effects of intraamygdaloid ghrelin. 72nd Joint Meeting of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary, jun 4-6, 2008. Oral Presentation. Abstract book p.:127.

Laszlo K., Bardosi R., Molnar A., Santa S., **Toth K.**, Kertes E., Olah-Varady K. and Lenard L.: Effects of neurotensin and D2 dopamine receptor antagonist in amygdaloid reinforcing mechanisms. 6th FENS, Abstr., vol.4, 093.5, 2008.

**Toth K.**, Laszlo K., Lukacs E. and Lenard L.: Intraamygdaloid acylated-ghrelin potentiates place- and avoidance learning. 6th FENS Abstr., vol.4, 158.30, 2008.

László K, Molnár Á., **Tóth K.**, Péczely L., Kertes E., Lénárd L.: The Role of Neurotensin and Dopamine Interaction in Spatial Learning Mechanism, MITT XIII. Kong.. MTA Székház, Budapest, 2009.

**Tóth K.**, László K., Lukács E., Lénárd L.: Microinjections of ghrelin into the amygdaloid body enhance memory processes. MITT XIII. Kong.. MTA Székház, Budapest, 2009.