

A ventromediális prefrontális kéreg szerepe az ízzel kapcsolatos tanulási és hedonikus folyamatokban

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Marosné Berta Beáta

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Vezető: Prof. Dr. Szekeres Júlia

Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán

Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László

Pécs, 2020.

1. BEVEZETÉS

A ventromediális prefrontális kéreg (vmPFC) a mediális prefrontális kéreg ventrális területén helyezkedik el, két fő régió építi fel: a prelimbikus kéreg ventrális része és az infralimbikus kérgi area. Kiterjedt kapcsolatokkal rendelkezik a limbikus és asszociációs kérgi régiókkal és számos magasabbrendű agyi funkció szabályozásában vesz részt, mint pl. jutalmazás, memória, emóció, figyelem, tervezés, végrehajtó feladatok és autonóm funkciók. Citoarchitektonikailag, idegi kapcsolataikat tekintve és funkcionálisan is különbözik a mediális prefrontális kéreg másik fő areájától, a dorzális régiótól [1]. Ehhez az areához soroljuk az anterior cinguláris kérgi és a prelimbikus kérgi területeket, melyek denz kapcsolatot létesítenek a szomatoszenzoros és motoros kéreggel.

A vmPFC reciprok kapcsolatban áll a táplálkozással összefüggő gusztátoros, valamint az ízek hedonikus értékét kódoló struktúrákkal is (pl. laterális hypothalamus, amygdala, inzuláris kéreg) [2, 3]. Jól ismert, hogy a vmPFC masszív katekolaminerg beidegzést kap az agytörzsi és középagyi monoaminerg magvakból [4]. Dopaminerg rostjai elsősorban a VTA A10-es sejtsortjából erednek, amelyek a mezokortikális dopaminrendszert képezik [5], míg noradrenerg beidegzését a locus coeruleus A6-os régiójából kapja [6]. Elektrofiziológiai kutatások igazolják, hogy a vmPFC neuronjai érzékenyek az ízingerekre és szerepet játszanak az ízek hedonikus értékének reprezentációjában [7, 8]. Magas élvezeti értékű ételek fogyasztása növeli a vmPFC extracelluláris dopamin és noradrenalin koncentrációját [9, 10]. Optogenetikai tanulmányok számoltak be arról, hogy a vmPFC DA-1 dopaminerg receptorainak aktiválása fokozza a magas élvezeti értékű táplálék felvételét [11]. A katekolaminerg neurotranszmitterek szerepét az ízzel kapcsolatos tanulási folyamatokban is (kondicionált íz-averzió) már számos agyterületen igazolták (pl. nucleus accumbens, laterális hypothalamus, bazolaterális amygdala) [12-14], de a vmPFC területén végződő rostok erre vonatkozó vizsgálata még hiányos a szakirodalomban. Funkcionális képalkotó eljárásokkal diszfunkciót és atrófiás elváltozásokat [15-17] mutattak ki evési zavarral küzdő és obezitásban szenvedő betegek Br 25 és Br 32 régióiban, mely agyterületek homológ struktúrái a patkány vmPFC területének [18]. Ezen vizsgálati alanyokat az ízek hedonikus kiértékelésének zavara is jellemezte. Ezen adatok fényében joggal feltételezzük hogy a vmPFC szerepet játszik az ízek hedonikus értékelésében, illetve az ízzel összefüggő tanulási és memóriefolyamatokban.

Jelen tanulmány célja feltárni, hogy a vmPFC neuronjai és katekolaminerg beidegzése rész vesz –e a táplálkozás hedonikus szabályozásában, a megfelelő táplálék kiválasztásának mechanizmusában, illetve a táplálkozással kapcsolatos tanulási és memóriefolyamatokban.

Ennek céljából neurotoxikus mikroléziókat végeztünk a célterületen kainsavval vagy 6-hydroxi-dopaminnal (6-OHDA). A kainsav a neuronok pusztulásához vezet anélkül, hogy az alkalmazása területén átmenő axonokat károsítaná [19]. A 6-OHDA a katekolaminerg axonok retrográd degenerációját okozza [20]. A neurotoxinokat iontoforetikus módszerrel juttattuk a célterületre, mely által jól körülhatárolható, kis kiterjedésű léziókkal kiküszöbölhetővé válnak a mikroinjekciós módszernél megfigyelhető nem kívánt tünetek (pl. fokozott epileptikus aktivitás, fokozott vegetatív aktivitás, motoros zavarok, aphagia, adipsia, különböző fiziológiás terhelésekre adott regulációs zavar, hypokinetikus tünetek) [21, 22].

2. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja feltárni, hogy a vmPFC neuronjainak, illetve a VTA-ból és a locus coeruleusból érkező és a vmPFC területét beidegző katekolaminerg termináloknak (inputok) a károsodása milyen funkcionális kiesést okoz a táplálkozással kapcsolatos magatartásban. Ezért megvizsgáltuk, hogy az egyes léziók milyen következményekkel járnak:

- 1) a testsúlyszabályozásban,
- 2) a táplálékfelvételben,
- 3) illetve az ad libitum vízfelvételben.
- 4) Megvizsgáltuk továbbá, hogy a vmPFC részt vesz –e egyes fiziológiás terhelésekre (0.15 M, illetve 1 M NaCl oldat i.p. injektálása) adandó adaptációs mechanizmusokban.
- 5) Irodalmi adatok, valamint korábbi vizsgálataink szerint a mPFC nagyobb kiterjedésű léziója, illetve a dmPFC-t érintő katecholaminergiás mikrolézió hyperaktivitást eredményez. Kísérleteinkben azt tanulmányoztuk, hogy a vmPFC szerepet játszik –e az általános és sztereotíp aktivitás szabályozásában.
- 6) Kutatócsoportunk korábban megállapította, hogy a dmPFC dopaminerg léziója növeli az állatok glükóz iránti preferenciáját. Jelen tanulmányban két édes ízű, de eltérő energiatartalmú ízoldat (glükóz, illetve szacharin) preferenciájának vizsgálatát tűztük ki célul a vmPFC lézióit követően.
- 7) Eredményeink tükrében felvetődött a kérdés, hogy az édes íz iránti megváltozott preferenciát okozhatta –e az ízek élvezeti értékelésének zavara. Ennek tanulmányozása céljából íz-reaktivitási tesztekét végeztünk különböző ízű és koncentrációjú ízoldatokkal a vmPFC lézióit követően.

8) Kísérleteink további fázisaiban arra kerestük a választ, hogy a vmPFC befolyásolja-e a kondicionált íz-averziós tanulási folyamatot, vagyis a kísérleti állatok elkerülik –e a vizsgált ízoldatot.

9) Tanulmányoztuk továbbá, hogy a vmPFC szerepet játszik –e a már korábban megtanult averzív íz-információk memóriából történő megtartási és előhívási (retenciós) mechanizmusában.

10) A kondicionált íz-averziós tanulás nemcsak az íz elkerülését, hanem az íz hedonikus értékének eltolódását is eredményezi. Ezért tisztázni szeretnénk volna, hogy a vmPFC léziói valóban megváltoztatják –e az ízoldat hedonikus eltolódását kondicionált íz-averzió kiépítése után. Ennek céljából vizsgálatunkhoz egy magas élvezeti értékkel rendelkező ízt választottunk.

3. MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez 298 felnőtt hím Wistar törzsbe tartozó patkányt használtunk fel, melyek átlagos testsúlya a kísérletek idején 270-340 g volt. Az állatokat egyenként, különálló ketrecekben helyeztük el, tartásuk során az egyetemi (BA02/2000-8/2012), a hazai (40/2013. (II. 14.) számú Magyar Kormányrendelet) és a nemzetközi (European Community Council Directive, 86/609/EEC, 1986, 2010) állatkísérletes etikai irányelveknek megfelelően jártunk el. Az állatházban állandó hőmérsékletet (22 ± 1 °C) és páratartalmat ($55 \pm 10\%$) biztosítottuk számukra. A természetes napszaknak megfelelő mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, 12 óránként váltakozó ciklusban (reggel 6:00 órától 12 óra világos, este 18:00 órától 12 óra sötét). Az állatok standard laboratóriumi rágsálótápot (CRLT/N standard rágsálótáp, Charles River Laboratories, Budapest) szabadon fogyaszthattak. Az ivóvízhez való hozzáférés kísérletenként eltér, ezért ezt a későbbi leírásokban ismertetjük. A patkányokat naponta kézhez szoktattuk (ú.n. „handling”) a könnyebb kezelhetőség érdekében.

3.2. Neurotoxikus műtétek

Az operációkat ketamin (Calypsol, Richter Gedeon Rt., 80 mg/testtömeg kg) és benzodiazepam (Seduxen, Richter Gedeon Rt., 20 mg/testtömeg kg) 4:1 arányú keverékével biztosított teljes anesztéziában végeztük (i. p. 2 ml/testtömeg kg térfogatban). Sztereotaxiás készülékben rögzítve az állat fejét először egy kis méretű (1,5-2 mm) lyukat fúrtunk a célterület fölött. Azután mikroszkópikus kontroll alatt felnyitottuk a durát. Tribarrel üveg mikropipettákat (Pyrex üveg; 17-25 μ m hegyátmérő) töltöttünk fel egy neurotoxinnal és

Pontamine Sky Blue festékekkel [(PSB), GURR, 0.15 M NaCl és 0.05 M Na-acetátban oldva]. A lokális neuronok elpusztításához kainsavat (KA, 80 mM, desztillált vízben feloldva, Sigma-Aldrich Co.), a vmPFC katekolaminerg beidegzésének eliminálásához 6-hydroxidopamin-hydrobromidot (6-OHDA, 80 mM, 1 % aszkorbinsav tartalmú 0.15 M NaCl oldatban feloldva, Sigma-Aldrich Co.) használtunk. Az üveg mikropipettákat hidraulikus mikromanipulátorral (Narishige, MN-33, Japán) óvatosan levezettük a célterülethez. A a sztereotaxikus agyatlasz [23] szerint a vmPFC sztereotaxikus koordinátái a következők: anteroposterior (AP): 3.2 mm, mediolaterálisan (ML): 0.6 mm, dorzoventrálisan (DV): 4.2 mm a dura felszínétől mérve. A kainsav vagy 6-OHDA mikroiontoforézisét bilaterálisan a vmPFC területén konstans egyenárammal (5 μ A, 5 min) (Biostim Professional, Supertech) végeztük. A neurotoxinok alkalmazása után a PSB iontoforézise következett (12 μ A, 4 min) a mikropipetta helyének azonosítása céljából. A diffúzió elősegítése végett a mikropipettákat az áram kikapcsolása után további 2 percig a célterületen hagytuk. A kontroll állatoknál fiziológiás sóoldattal feltöltött mikropipettát vezettünk a vizsgálandó agyterületre, majd eltávolítottuk az agyból (álműtét).

3.3. Intarorális íz-kanül beépítése

Az íz-reaktivitási tesztekhez, a léziós műtéteket követően az állatok szájüregébe ízkanült építettünk, melyen keresztül ízoldatokat tudtunk közvetíteni a nyelvre. Az ízkanülok polietilén csőből (PE-100) készültek, melyek végét előzőleg felforrósítva peremet képeztünk azért, hogy megakadályozzuk a cső visszahúzódását a szájüregből. A kanült az első felső őrlőfogtól anterolaterálisan a koponyatetőig szubkután vezettük. Az intraorális ízkanül ezen végét egy „L” alakú 16 mm hosszú 19 gauge átmérőjű rozsdamentes fém kanülhöz kapcsoltuk, melyet fogászati akrylással és rozsdamentes acél csavarokkal a koponyacsonthoz rögzítettük. Az ízoldatokat Cole-Parmer programozható, automata pumpa (Cole-Parmer, IITC, Life Sci. Instruments, California) adagolta, biztosítva ezzel a folyamatos és egyenletes sebességű (0.5 ml/perc) ingerlést. Az állatok a műtétet követően antibiotikus profilaxisban részesültek (G-Penicillin). A posztoperatív időszakban az állatoknak minimum 1 hetet biztosítottunk a felépüléshez a kísérletek megkezdése előtt. Ez idő alatt az eldugulás megelőzésére az íz-kanüloket naponta desztillált vízzel mostuk ki.

3.4. Magatartási vizsgálatok

3.4.1. Testsúly, táplálék- és folyadékfelvétel

Az állatok testsúlyát, valamint táplálék- és folyadékfelvételét a léziós műtéteket követően (CO: n=7, KA: n=7, 6-OHDA: n=7) naponta, ugyanabban az időpontban (reggel 8:00 – 8:30 között) grammos pontossággal mértük a kísérletek egész időtartama alatt.

3.4.2. Fiziológias terheléses vizsgálatok

A műtétből való felépülési idő után (CO: n=13, KA: n=10, 6-OHDA: n=10), amikor az állatok táplálék- és folyadékfelvétele normalizálódott, fiziológias terheléses vizsgálatoknak vetettük alá. A kísérlet első felében fiziológias NaCl oldat (0.15 M, 20 ml/testtömeg kg) i.p. injekcióját követően az állatok folyadékfelvételét regisztráltuk 4 óra, 6 óra és 24 óra elteltével. A kísérlet második részében, 5 nap felépülési időt követően intracelluláris dehidrációt idéztünk elő mindhárom állatcsoportban hipertóniás NaCl oldat (1 M, 20 ml/testtömeg kg) i.p. injekciójával. Majd 4 óra, 6 óra és 24 óra elteltével lemértük az állatok által elfogyasztott vízmennyiséget és az eredményeket összehasonlítottuk.

3.4.3. Általános aktivitás és mozgás-sztereotípiák vizsgálata open field tesztben

A patkányokat (CO: n=18, KA: n=15, 6-OHDA: n=16, reprezentatív minta) 3 napos habituációs periódust követően egy 60x60x60 cm méretű szürkére festett dobozba helyeztük a vizsgálat 3 percére. A doboz alja 16 egyforma (4x4 cm) négyzetre volt osztva, melyben az állatok általános aktivitását és sztereotíp mozgásformáit regisztráltuk, mint az ágaskodás ("rearing"), tisztálkodás ("grooming"), szaglászás ("sniffing"), megdermedés ("freezing"), valamint a bolusok számát.

3.4.4. Íz-preferencia vizsgálatok kétüveges tesztel

Az iontoforetikus lézókából (CO: n=7, KA: n=6, 6-OHDA: n=7) való felépülést követően a glükóz preferenciáját teszteltük kétüveges teszt segítségével. 4 napon keresztül (10-14. posztoperatív napok) az egyik üveg csapvizet, a másik 250 mM glükóz oldatot tartalmazott, melyekből ad libitum folyadékfelvételt biztosítottunk a saját ketrecükben. 4 nap ad lib. vízivási periódus után, víz és 500 mM glükóz oldat preferenciájának tesztelése zajlott, szintén 4 napon keresztül (18-21. napok) ad libitum hozzáféréssel. Majd újabb 4 nap ad lib. vízivást követően a 10 mM szacharin preferenciáját teszteltük vízzel szemben. Végezetül két édes, de eltérő energiatartalmú ízoldat, 10 mM szacharin és 500 mM glükóz oldatok preferenciájának összehasonlítása zajlott. A víz és az ízoldatok fogyasztását naponta ml

pontossággal mértük. A preferencia értékét az irodalomban is használt számítással határoztuk meg: 4 napi 250 mM glükózfelvétel mennyisége/4 napi teljes folyadékfelvétel.

3.4.5. Íz-reaktivitási teszt

25 db kísérleti állat szájüregébe (CO: n=10, KA: n=8, 6-OHDA: n=7) íz-kanült építettünk. Egy héttel a műtéteket követően a vizsgálandó állatokat egy 200 mm átmérőjű, 250 mm magas átlátszó plexihengerbe helyeztük, mely egy üveglapon állt. Ez alá 45° szögben egy tükröt rögzítettünk, mely lehetővé tette a patkány szájmozgásainak megfigyelését és videokamerával való rögzítését. A habituáció a 8. posztoperatív napon kezdődött, mely során az állatok három napig (8-10.) napi 15 percet töltöttek a plexi hengerben. A 15 perces adaptációs idő elteltével desztillált vizet injektáltunk a szájüregbe (1 ml, 0,5 ml/perc). A 11. posztoperatív napon közepes koncentrációjú ízoldatokat (625 mM glükóz, 55 mM szacharin, 430 mM NaCl, 4,75 mM citromsav, 0.625 mM kinin) injektáltuk a szájüregbe, hogy kizárjuk a neofóbiát. Az állatok íz-reaktivitását a 12-16. posztoperatív napokon teszteltük, minden nap más ízoldatra adott íz-reaktivitást vizsgáltunk, egyfajta íz kvalitást 4 koncentrációban alkalmaztuk. Az íz-kvalitásokat és azok koncentrációit az **1. táblázat** mutatja. Az ízoldatok beadása felmenő koncentrációban követte egymást. Az egyes koncentrációk alkalmazása között desztillált vízzel mostuk át az intraorális kanült (1 ml), így az állat száját is, amit 3 cm³ levegő injektálása követett. Az egyes íz-ingerekre adott reakciókat a videofelvételeken frame by frame analízissel, valamint lassított lejátszással (az aktuális sebesség 1/10 vagy 1/25 része) értékeltük. Az eltérő hedonikus értékű ízoldatok különböző mimikai választ váltanak ki, melyek pozitív (ingesztív) illetve negatív (rejektív) kategóriákba sorolhatók. A kiértékelésnél Grill és Norgren [24] protokollját alkalmaztuk. Eszerint ingesztív válaszoknak tekintettük az előre irányuló ritmikus nyelvöltögetést, az oldalirányú nyelvöltögetést és a mancsnyalást. Rejektív válaszként dokumentáltuk a szájtátást, fejrázást, mancsrázást, álldörzsölést és arcmosást. Azokat a válaszokat, melyek elkülönülten jelennek meg, így az oldalirányú nyelvöltögetést szájtátást, fejrázást, mancsrázást, álldörzsölést diszkrét válaszokként értékeltük. A folyamatosan megjelenő, nehezen megszámolható reakciókat, mint az előre irányuló ritmikus nyelvöltögetés és a mancsnyalás időtartamát lemértük secundumban, majd megszoroztuk a mozgásforma általános frekvenciájával (6/sec), Flynn és Grill leírása szerint [25].

Ízoldatok**Koncentrációk (mM)**

Glükóz	250	500	750	1000
Szacharin	1	10	100	1000
NaCl	50	100	1000	1500
Citromsav	0.1	1	10	100
Kinin	0.125	0.25	1.25	2.5

1. táblázat Az íz-reaktivitási tesztben alkalmazott ízoldatok**3.4.6. Kondicionált íz-averzió kialakulása**

E kísérletsorozatban az íz-inger és a gasztrointesztinális diszkomfort asszociációjának képességét vizsgáltuk a vmPFC lézióit követően. A kísérletek kezdetén 7 napos (1-7. nap) habituációs időintervallumban napi 23.5 órás vízmegvonást vezettünk be, tehát az állatoknak naponta 30 perc állt rendelkezésükre folyadékigényük kielégítésére. A 8. napon a patkányokat 3 csoportra osztottuk és elvégeztük az iontoforetikus operációkat. Két állatcsoportban neurotoxikus léziókat végeztünk kainsav (KA csoport, n=27) illetve 6-OHDA (6-OHDA csoport, n=29) iontoforézisével. A kontroll csoportban "álműtétet" hajtottunk végre (CO csoport n=30). A léziós műtétet egy 8 napos (9-16. napig) felépülési időszak követte: 5 napig ad libitum víz hozzáférést és 3 napig napi 30 perces vízfogyasztást biztosítottunk. Miután az állatok folyadékfelvétele elérte a preoperatív (ad libitum) értéket, a megszokott napi 30 perces ivási periódusban víz helyett kísérletenként eltérő ízoldatot kaptak az egyes kísérletek 17. napján. Mivel a kísérleti állatok még soha nem találkoztak ezekkel az íz-ingerekkel, a vártnak megfelelően neofóbia volt megfigyelhető ezen a napon, ami csökkent folyadékfogyasztásban nyilvánult meg. A következő napon, a Társítás napján (18. nap), amikor az állatok neofóbiája megszűnt, a 30 perces ízoldat fogyasztást követő 0.5 órás időszakban 0.15 M lítium-klorid (LiCl, 0.15 M, Reanal, Hungary, 20 ml/testtömeg kg) i.p. injekciójával gasztrointesztinális diszkomfortot idéztünk elő. Ezt egy 6 napos (19-24. napig) vízivási periódus követte, majd a Teszt-napon (25. nap) ugyanazt az ízoldatot kapták, mint a Társítás napján. A kondicionált íz-averzió kialakulásának megállapításához összehasonlítottuk a Tesztnapon mért folyadékfogyasztást a Társítás napján elfogyasztott mennyiséggel. A kondicionált íz-averzió meglétét tükrözi, ha a Teszt napi fogyasztás szignifikánsan lecsökken a Társítás-napi felvételhez képest [26, 27]. Ezen kísérletsorozatban 4 különböző íz-ingert

alkalmaztunk feltételes ingerként (50 mM NaCl, 10 mM szacharin, 10 mM citromsav vagy 0.25 mM kinin), mindegyik ízoldatot másik kísérletben.

3.4.7. Kondicionált íz-averzió megtartása (retenciós teszt)

Ezen kísérletekben egy korábban kiépített íz-averziós információ memóriából való visszahívási képességét tanulmányoztuk. Eszerint először intakt állatokon kondicionált íz-averziót építettünk ki a fent részletezett protokoll szerint (1-9. napok). Az íz-averzió kialakulását a Teszt-napon (16. nap) ellenőriztük. Ezt követően 3 napon keresztül (17-19. napokon) napi 30 perc vízivást biztosítottunk az állatok számára. A kísérlet 20. napján 3 csoportra osztottuk a patkányokat: az egyik csoportnál kainsavas léziót (n=26), a másikon 6-OHDA léziót (n=28) végeztünk iontoforetikus módszerrel, a kontroll csoporton (n=27) pedig „álműtétet” hajtottunk végre. A kondicionált íz-averzió megtartásának ellenőrzését egy 8 napos felépülési időszak (21-28. napok) után végeztük. A Retenciós teszt (Re-teszt) a kísérlet 29. napjára esett amikor az állatok a 30 perces ivási periódusban ismét a feltételes ingerként alkalmazott ízoldatot ihatták. Az alkalmazott ízoldatok megegyeztek az előző kísérletsorozatban használt ízekkel: 50 mM NaCl, 10 mM szacharin, 10 mM citromsav and 0.25 mM kinin. A kondicionált íz-averzió megtartásának kritériuma, hogy a Re-teszt napi ízoldat felvétele szignifikánsan kisebb legyen, mint a Társítás napi [26, 27]. Ellenkező esetben retenciós deficitről beszélünk.

3.4.8. Hedonikus eltolódás vizsgálata kondicionált íz-averziót követően

A léziós műtétet követő 8 napos felépülési időszak 6-8. napjain a kísérleti állatokat (CO: n=7; KA: n=7; n=6-OHDA: n=6) naponta 30 percig hozzászoktattuk az íz-reaktivitási apparátushoz. A habituációs ülés utolsó 10 percében 5 ml desztillált vizet injektáltunk az ízkanülön keresztül a szájüregbe (0.5 ml/perc). A műtétet követő 9. napon a neofóbia elkerülése érdekében a következő napi társításnál használt 10 mM szacharin oldatot juttattunk a szájüregbe. A 10. napon (Társítás) az 10 mM szacharin oldat injektálása alatt videokamerával rögzítettük a mimikai válaszokat és az ezt követő 30 percen belül 0.15 M LiCl i.p. injekcióval (20 ml/testtömeg kg) gasztrointesztinális diszkomfortot idéztünk elő. Ezt egy 4 napos felépülési periódus követte. Az operáció utáni 15. napon végeztük el újra az ízoldat infúziójára adott hedonikus válaszok tanulmányozását (5 ml ízoldat/10 min). A hedonikus érték megállapításához a 10 perc alatt adott összes válaszban megjelenő ingerstívis válaszok arányát kivontuk a rejektív válaszok arányából: (ingerstívis válaszok száma/összes

válasz)-(rejektív válaszok száma/összes válasz) Pfaffman kiértékelési paradigmája szerint [28].

3.5. Szövettani módszerek

Kísérleteink elvégzése után az állatokat uretán (2 g/testtömeg kg) oldat i.p. injekciójával túlaltattuk. Ezt követően a pakányokat transzkardiálisan először 0.9 %-os NaCl-oldattal, majd formaldehid (10 %) oldattal perfundáltuk. A tetemeket dekapitáltuk és eltávolítottuk az agyakat, amit pufferelt, szukrózt tartalmazó formalin oldatba helyeztük. Egy hét fixálás után az agyakat blokkra vágtuk és microtommal 40 µm vastag metszeteket készítettünk. A kontroll és kainsavval kezelt agymetszeteket szövettani analízis céljából krezil-ibolyával festettük meg. A 6-OHDA mikroiontoforézise által okozott katekolaminerg károsodás kimutatására kísérleti csoportonként 3 db 6-OHDA kezelt állat agyánál 20 µm-es metszeteket készítettünk, melyeket tirozin-hidroxiláz (TH) immunhisztokémiai jelöléssel festettük meg [29]. Primer szérumként hígított anti TH primer antitestet (monoklonális egér, TH-16 antiszérum, 1:10000, Sigma) alkalmaztunk. A maradék 6-OHDA-os állatok metszeteit neutrálvörössel festettük meg.

3.6. Statisztikai módszerek

Kísérleti adataink elemzéséhez az SPSS 20.0 for Windows programcsomagot használtuk. A testsúly, táp,- és folyadékfogyasztásra adott válaszokat kétszemponos ismételt méréses varianciaanalízissel (ANOVA), a fiziológiás terhelésekre adott válaszokat, valamint az általános aktivitás és open field tesztek, valamint az ízpreferencia eredményeit egyszemponos varianciaanalízissel vizsgáltuk. A kondicionált íz-averzió és íz-reaktivitási kísérletek adatait kétszemponos varianciaanalízissel, a kétpalackos teszt eredményeit pedig multifaktoros ismételt méréses, valamint kétszemponos ANOVA-val analizáltuk. Szignifikáns különbségek esetén Bonferroni vagy Tukey post hoc tesztekkel használtunk. A szignifikancia szintet minden esetben $p < 0.05$ -nek tekintettük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Szövettani eredmények

Az állatok agyának szövettani feldolgozását követően leellenőriztük a léziók pontos helyét és kiterjedését Paxinos és Watson patkány agyatlasza [23] alapján. A kísérletekben résztvevő 298 állat közül 286 esetben a lézió az infralimbikus kérget és a prelimbikus kéreg ventrális részét érintette. A bilaterális léziók szimmetrikusak voltak, kiterjedésük 600-800 µm átmérőjű volt. A krezil-ibolyával megfestett kainsavas léziós agyak szövettani analízise

szerint masszív sejthiány volt megfigyelhető a célterület 350-450 µm-es átmérőjű területén, amit egy külső, mérsékelt sejthiányú, 600-800 µm átmérőjű régió vett körül. A 6-OHDA lézió után a TH-immunoreaktív rostok hiányát tapasztaltuk a célterületen, mind a molekuláris rétegben (I.), ahol főleg noradrenerg rostok találhatók [6], mind pedig a mélyebb rétegekben (V., VI.) ahol viszont elsősorban a dopaminerg axonok húzódnak [30, 31]. Azon állatok adatait, melyeknél a szövettani vizsgálat nem igazolta a lézió meglétét vagy a lézió nem a megfelelő területen és kiterjedésben mutatkozott (n=12 állat) kizártuk a további elemzésekből.

4.2. Testsúly

Az adatokat elemezve szignifikáns különbséget találtunk a napok között [$F(20,360)=32.869$, $p<0.001$], a csoportok között [$F(2,18)=5.132$, $p<0.05$], valamint a napok és csoportok közötti interakcióban is [$F(40,360)=6.570$, $p<0.001$]. A post hoc teszt kimutatta, hogy a KA csoportba tartozó állatok testsúlya szignifikánsan kisebb volt a műtét utáni első 7 napban a CO patkányokhoz képest (1-7. napok, KA vs. CO: $p<0.01$). A 6-OHDA állatok testsúlya nem tért el szignifikánsan a CO csoporttól a kísérlet teljes időtartama alatt.

4.3. Táplálék- és vízfelvétel

A táplálékfelvételi adatok statisztikai feldolgozása azt mutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn az egyes napok között [$F(22,396)=11.212$, $p<0.001$], a csoportok között [$F(2,18)=7.151$, $p<0.001$] és az interakcióban is [$F(44,396)=8.108$, $p<0.01$]. A post hoc teszt rávilágított arra, hogy a KA csoport szignifikánsan kevesebb tápot fogyasztott a neurotoxikus műtét utáni 1. napon ($p<0.01$) a CO állatokhoz képest, viszont szignifikánsan több tápot ettek a 4-11. napokon (4. napon: $p<0.01$; 5. napon: $p<0.05$; 6-10. napokon: $p<0.01$; 11. napon: $p<0.05$). A vízfelvételi adatokat elemezve, a kétszemponos ismételt méréses ANOVA kimutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn az egyes napok között [$F(20,360)=76.439$, $p<0.0001$], de a csoportok között nincs kimutatható különbség [$F(2,18)=3.215$, n.s.]. Az analízis szignifikáns különbséget talált a napok és csoportok közötti interakcióban [$F(40,360)=3.047$, $p<0.0001$].

4.4. Fiziológias terheléses vizsgálatok

A 0.15 M NaCl oldat i.p. injekcióját követően mindhárom kísérleti állatcsoport vízfogyasztása hasonló volt. Az egyszemponos varianciaanalízis azt mutatta, hogy nincs szignifikáns különbség a kísérleti csoportok között sem a 4 órás [$F(2,30)=0.302$, n.s.], a 6 órás [$F(3,30)=0.693$, n.s.] és a 24 órás [$F(2,30)=0.549$] vízfelvételben sem. Az 1 M NaCl oldat i.p. injekciója által indukált intracelluláris dehidrációt követő vízfelvételi adatokat elemezve

megállapítható, hogy a kísérleti állatok hasonlóan reagáltak. Az egyszempontos varianciaanalízis azt mutatta, hogy nincs szignifikáns különbség sem a 4 órás vízfelvételben [$F(2,30)=2.811$, n.s.], sem a 24 órás vízfelvételben [$F(2,30)=2.721$, n.s.], de a 6 órás vízfelvételben szignifikáns különbséget talált [$F(2,30)=3.494$, $p<0.05$], mégpedig a KA csoport állatai szignifikánsan több vizet ittak az injekció utáni 6. órában, mint a CO állatok (CO vs. KA, 6. óra: $p<0.05$).

4.5. Általános aktivitás és mozgás-sztereotípiák vizsgálata open field tesztben

Az általános aktivitás mérésénél regisztrált adatok egyszempontos varianciaanalízissel való elemzése kimutatta, hogy az egyes állatcsoportok között nincs szignifikáns különbség [$F(2,46)=1.215$, n.s.]. A fajspecifikus magatartási minták adatainak egyszempontos varianciaanalízissel történő elemzése szerint a vmPFC KA vagy 6-OHDA mikrolézióját követően nem jelent meg szignifikáns különbség sem az ágaskodásban [$F(2,46)=0.834$, n.s.], sem a tisztálkodásban [$F(2,46)=0.426$, n.s.], sem a szaglászásban [$F(2,46)=0.220$, n.s.], sem a megdermedésében [$F(2,46)=0.810$, n.s.], valamint a bolusok számában sem [$F(2,46)=1.171$, n.s.]

4.6. Íz-preferencia vizsgálatok kétiveges tesztel

250 mM glükóz vs. víz: Mindhárom állatcsoport hasonló preferenciát mutatott a 250 mM glükóz oldatra vízzel szemben. A többszempontos ismételt méréses varianciaanalízis szignifikáns különbséget mutatott ki a folyadékfelvételek között [$F(1,34)=42.322$, $p<0.0001$], de nem talált szignifikáns különbséget a csoportok között [$F(2,34)=0.816$, n.s.] és az interakcióban sem [$F(2,34)=0.27$, n.s.]. A 250 mM glükóz oldat fogyasztásokat összehasonlítva szignifikáns különbséget találtunk a napok között [$F(3,51)=4.877$, $p<0.01$], viszont a csoportok között nem volt szignifikáns különbség [$F(2,17)=0.289$, n.s.], ahogy az interakcióban sem [$F(6,51)=0.568$, n.s.]. A preferencia értékeket elemezve az egyfaktoros ANOVA nem talált különbséget a csoportok között [$F(2,17)=1.241$, n.s.].

500 mM glükóz vs. víz: Az 500 mM glükóz oldatra mindhárom kísérleti állatcsoportban kialakult a preferencia vízzel szemben, de különböző mértékben. A többszempontos ismételt méréses varianciaanalízis szignifikáns különbséget mutatott ki a folyadékfelvételek között [$F(1,34)=194.927$, $p<0.0001$] és a csoportok között [$F(2,34)=5.911$, $p<0.001$], valamint az interakcióban is [$F(2,34)=11.334$, $p<0.0001$]. Az 500 mM glükóz felvételeket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns eltérést a napok között [$F(3,51)=1.305$, n.s.], viszont szignifikáns különbség mutatkozott a csoportok között [$F(2,17)=10.472$, $p<0.005$]. Az interakcióban az

analízis szignifikáns különbséget nem talált [$F(6,51)=1.404$, n.s.]. A post hoc teszt kimutatta, hogy a 6-OHDA kezelt állatok szignifikánsan több 500 mM glükóz oldatot fogyasztottak, mint a CO csoport tagjai a vizsgálat 2., 3. és 4. napján (2. nap: 6-OHDA vs. CO: $p<0.05$; 3. és 4. nap: $p<0.01$). A KA lézió után nem változott meg az állatok preferenciája az 500 mM glükóz oldatra. A preferencia értékeket elemezve szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között [$F(2,17)=8.691$, $p<0.01$]. A post hoc teszt szerint a 6-OHDA állatcsoport szignifikánsan magasabb preferenciát mutatott a CO vagy KA csoportokhoz képest (6-OHDA vs. CO: $p<0.05$; 6-OHDA vs KA: $p<0.05$).

10 mM szacharin vs. víz: A többszemponos ismételt mérés varianciaanalízis kimutatta, hogy a folyadékfelvételek között nincs szignifikáns különbség [$F(1,34)=2.733$, n.s.], viszont szignifikáns különbség áll fenn a csoportok között [$F(2,34)=7.557$, $p<0.01$] és az intreakcióban [$F(2,34)=21.752$, $p<0.001$]. Amikor csak a szacharin fogyasztásokat hasonlítottuk össze, a kétszemponos ismételt mérés ANOVA nem mutatott ki szignifikáns különbséget a napok között [$F(3,51)=0.574$, n.s.], viszont szignifikáns eltérés volt a csoportok között [$F(2,17)=30.083$, $p<0.001$], valamint az interakcióban is [$F(6,51)=4.589$, $p<0.005$]. A post hoc teszt megállapította, hogy a 6-OHDA csoport szignifikánsan több 10 mM szacharint ivott a vizsgálat napjain, mint a CO állatok (6-OHDA vs. CO, 1. nap: $p<0.05$, 2-4. napokon $p<0.01$). A preferencia értékeket elemezve szignifikáns különbség állt fenn a csoportok között [$F(2,17)=7.896$, $p<0.01$], ugyanis a 6-OHDA állatcsoport szignifikánsan magasabb preferenciát mutatott a CO vagy KA csoportokhoz képest (6-OHDA vs. CO: $p<0.01$; 6-OHDA vs KA: $p<0.05$).

500 mM glükóz vs. 10 mM szacharin: A többszemponos ismételt mérés varianciaanalízis szignifikáns különbséget talált a folyadékfelvételek között [$F(1,34)=12.428$, $p<0.005$], de nem talált különbséget a csoportok között [$F(2,34)=2.349$, n.s.]. A csoportok és folyadékfelvételek közötti interakcióban is szignifikáns eltérés mutatkozott [$F(2,34)=5.081$, $p<0.05$]. Az 500 mM glükóz felvételek statisztikai elemzése során nem találtunk szignifikáns eltérést a napok között [$F(3,51)=1.424$, n.s.], viszont szignifikáns különbség mutatkozott a csoportok között [$F(2,17)=5.187$, $p<0.05$]. Az interakcióban az analízis szignifikáns különbséget nem talált [$F(6,51)=0.263$, n.s.]. A post hoc teszt azt mutatta, hogy a 6-OHDA állatok szignifikánsan több 500 mM szacharint ittak a vizsgálat 3. és 4. napjain (3. napon: $p<0.05$; 4. napon: $p<0.01$) a CO csoporthoz képest. A preferencia adatokat elemezve szignifikáns különbség állt fenn a csoportok között [$F(2,17)=3.761$, $p<0.05$], ugyanis a 6-OHDA állatcsoport szignifikánsan

magasabb preferenciát mutatott az 500 mM glükózra, mint a CO csoport (6-OHDA vs. CO: $p < 0.05$).

4.7. Íz-reaktivitási teszt

Glükóz: Az ingesztív válaszok adatainak kétszemponos varianciaanalízises vizsgálata kimutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn a csoportok ($F[2,88]=44.544$, $p < 0.0001$), valamint a koncentrációk között ($F[3,88]=15.829$, $p < 0.0001$), de nincs szignifikáns eltérés a csoportok és koncentrációk közötti interakcióban ($F[6,88]=2.005$, n.s.). A post hoc tesztek feltárták, hogy a 6-OHDA csoport szignifikánsan több ingesztív választ adott az 500 mM ($p < 0.01$), a 750 mM ($p < 0.01$) és az 1000 mM ($p < 0.01$) koncentrációjú glükóz oldatokra, mint a CO állatok. A KA csoport csak a 750 mM glükóz oldatra mutatott szignifikánsan több ingesztív választ a CO csoporthoz képest ($p < 0.05$). A glükóz oldatok mindhárom kísérleti állatcsoportban kevés rejektív választ váltottak ki. A rejektív válaszok adatainak analízise nem talált szignifikáns különbséget a koncentrációk között ($F[3,88]=0.868$, n.s.), de szignifikáns eltérést mutatott a csoportok között ($F[2,88]=7.930$, $p < 0.01$). A koncentrációk és csoportok közötti interakcióban nem volt szignifikáns különbség ($F[6,88]=0.746$, n.s.). A post hoc tesztek szerint a KA csoport tagjai szignifikánsan kevesebb rejektív választ adtak a 750 mM glükóz oldatra, mint a CO állatok (KA vs. CO: $p < 0.05$).

Szacharin: Az ingesztív válaszok adatainak statisztikai elemzése szerint szignifikáns különbség áll fenn a csoportok között ($F[2,88]=15.604$, $p < 0.0001$) és a koncentrációk között ($F[3,88]=9.133$, $p < 0.0001$), valamint szignifikáns a koncentrációk és a csoportok közötti interakció is ($F[6,88]=5.524$, $p < 0.0001$). A post hoc tesztek felfedték, hogy a KA és a 6-OHDA csoportok szignifikánsan több ingesztív választ adtak a 100 mM (CO vs. KA: $p < 0.01$; CO vs. 6-OHDA: $p < 0.01$) és az 1000 mM (CO vs. KA: $p < 0.01$; CO vs. 6-OHDA: $p < 0.01$) koncentrációjú szacharin oldatokra, mint a CO állatok. Míg a CO csoportnak a legkellemesebb az 1 mM szacharin oldat volt, addig a lézió átesett állatok (KA vagy 6-OHDA) legízletesebbnek a magasabb koncentrációjú (100 mM és 1000 mM) szacharin oldatokat ítélték. A rejektív válaszok adatainak analízise szignifikáns különbséget mutatott ki a csoportok között ($F[2,88]=6.143$, $p < 0.01$), de nem volt szignifikáns eltérés a koncentrációk között ($F[3,88]=1.557$, n.s.) és az interakcióban sem ($F[6,88]=0.934$, n.s.). A post hoc teszt szerint a 6-OHDA csoport szignifikánsan ($p < 0.01$) kevesebb rejektív választ adott a legnagyobb koncentrációjú, 1000 mM szacharinra, mint a CO állatok.

NaCl: A kétszemponos varianciaanalízis kimutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn a csoportok között ($F[2,88]=17.227$, $p<0.0001$) és a koncentrációk között ($F[3,88]=19.159$, $p<0.0001$), de nem volt kimutatható különbség a koncentrációk és a csoportok közötti interakcióban ($F[6,88]=1.334$, n.s.). A post hoc tesztek szerint a KA csoport szignifikánsan több ingerztív választ adott az 1000 mM (CO vs. KA: $p<0.01$) és az 1500 mM (CO vs. KA: $p<0.05$) koncentrációjú NaCl oldatokra, mint a CO állatok. A NaCl viszonylag kevés rejektív választ váltott ki mindhárom kísérleti állatcsoportban. A rejektív válaszok adatainak analízise szignifikáns különbséget mutatott ki a csoportok között ($F[2,88]=15.155$, $p<0.0001$), a koncentrációk között ($F[3,88]=9.995$, $p<0.0001$) és az interakcióban is ($F[6,88]=8.559$, $p<0.0001$). A post hoc teszt szerint a KA és 6-OHDA csoportok szignifikánsan kevesebb rejektív választ adtak a legnagyobb koncentrációjú, 1500 mM NaCl oldatra, mint a CO állatok (CO vs. KA: $p<0.01$; CO vs. 6-OHDA: $p<0.01$).

Citromsav: A kétszemponos varianciaanalízis szignifikáns különbséget állapított meg a csoportok között ($F[2,88]=21.117$, $p<0.001$) és a koncentrációk között ($F[3,88]=3.841$, $p<0.05$), de az interakciók között nem volt különbség ($F[6,88]=1.161$, n.s.). A post hoc teszt alapján a 6-OHDA kezelt állatok szignifikánsan kevesebb ingerztív választ adtak az 1 mM, a 10 mM és a 100 mM koncentrációjú citromsav oldatokra, mint a CO csoport (CO vs. 6-OHDA: 1 mM: $p<0.05$, 10 mM: $p<0.01$, 100 mM: $p<0.05$). A rejektív válaszok adatainak analízise szignifikáns különbséget mutatott ki a csoportok között ($F[2,88]=4.628$, $p<0.05$) és a koncentrációk között ($F[3,88]=3.752$, $p<0.05$), de az interakcióban szignifikáns eltérés nem talált ($F[6,88]=2.054$, n.s.). A post hoc tesztek szerint a KA csoport szignifikánsan több rejektív választ mutatott, mint a CO vagy 6-OHDA csoportok (KA vs. CO: $p<0.05$; KA vs. 6-OHDA: $p<0.005$).

Kinin: A kinin oldatok viszonylag kevés ingerztív választ váltottak ki mindhárom állatcsoportban. A kétszemponos varianciaanalízis kimutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn a csoportok között ($F[2,88]=7.143$, $p<0.01$) és a koncentrációk között ($F[3,88]=24.079$, $p<0.001$), de az interakciók között nem volt különbség ($F[6,88]=1.927$, n.s.). A post hoc teszt alapján a 6-OHDA kezelt állatok szignifikánsan kevesebb ingerztív választ adtak a 0.125 mM kinin oldatra, mint a CO állatok (CO vs. 6-OHDA: $p<0.01$). A rejektív válaszok számát tekintve szignifikáns különbséget mutatkozott a csoportok között ($F[2,88]=29.058$, $p<0.001$), és a koncentrációk között ($F[3,88]=6.202$, $p<0.01$) de az interakcióban nem volt szignifikáns eltérés ($F[6,88]=0.985$, n.s.). A post hoc tesztek szerint a KA csoport szignifikánsan több

rejektív választ adott a két nagyobb koncentrációjú, az 1.25 mM (CO vs. KA: $p < 0.05$) és 2.5 mM (CO vs. KA: $p < 0.01$) kinin oldatokra, mint a CO csoport.

4.8. Kondicionált íz-averzió

4.8.1 Kondicionált íz-averzió kialakulása

Szacharin: 10 mM szacharin oldatot vizsgálva, a kétszemponos varianciaanalízis nem mutatott ki szignifikáns különbséget az állatcsoportok között ($F[2,34]=2.106$, n.s.), míg az egyes ülések között szignifikáns különbséget tapasztaltunk ($F[1,34]=8.622$, $p < 0.05$), ugyanúgy, ahogy az interakcióban is ($F[2,34]=8.549$, $p < 0.005$). A post hoc teszt kimutatta, hogy a CO csoportban jól kifejezett íz-averzió alakult ki, mivel a Tesztnapi fogyasztásuk szignifikánsan ($p < 0.01$) kisebb volt a Társítás napján mért mennyiséghez viszonyítva. Ezzel szemben a KA, illetve 6-OHDA csoportokban nem fejlődött ki averzió, mivel megközelítőleg azonos mennyiségű szacharin oldatot ittak a vizsgált napokon.

NaCl: Az 50 mM NaCl oldatra kiépített íz-averziós kísérletünk adatainak kiértékelése során a kétszemponos varianciaanalízis nem talált szignifikáns különbséget a csoportok között ($F[2,38]=0.535$, n.s.), de szignifikáns különbség volt kimutatható a kísérlet egyes ülései között ($F[1,38]=4.381$, $p < 0.05$), ugyanakkor a csoportok és az ülések közötti interakció nem volt szignifikáns ($F[2,38]=0.715$, n.s.). A post hoc analízis kimutatta, hogy a CO állatok szignifikánsan kevesebb NaCl-oldatot fogyasztottak a Tesztnapon, mint a Társítás napján ($p < 0.05$) tehát a CO állatoknál kialakult az íz-averzió, ellentétben a két, neurotoxinnal kezelt csoportba tartozó állatokkal (KA, illetve 6-OHDA), ahol nem volt kimutatható különbség a két nap fogyasztása között, így averziós deficitet feltételezünk.

Citromsav: A 10 mM citromsav oldatra kiépített íz-averziós kísérletünk adatainak kiértékelése során a kétszemponos varianciaanalízis szignifikáns különbséget mutatott ki a csoportok között ($F[2,36]=12.912$, $p < 0.0001$), valamint az ülések között ($F[1,36]=6.91$, $p < 0.05$) és szignifikáns különbség mutatkozott a csoportok és az ülések közötti interakcióban is ($F[2,36]=4.464$, $p < 0.05$). A post hoc teszt kimutatta, hogy a CO csoportban jól kifejezett íz-averzió alakult ki citromsavra, mivel a Tesztnapi fogyasztásuk szignifikánsan ($p < 0.005$) kisebb volt a Társítás napján mért értékhez képest. Ellenben a KA és 6-OHDA csoportok állatainál nem fejlődött ki averzió, mivel a vizsgált napokon megközelítőleg azonos mennyiségű citromsav oldatot ittak. A post hoc tesztek kimutatták továbbá, hogy a KA, illetve

6-OHDA patkányok a Tesztnapon szignifikánsan nagyobb mennyiségű citrát oldatot fogyasztottak, mint a CO állatok (CO vs. KA: $p < 0.005$; CO vs. 6-OHDA: $p < 0.005$).

Kinin: Amikor 0.25 mM kinint alkalmaztunk feltételes ingerként, az adatok analízise kimutatta, hogy nincs szignifikáns különbség a csoportok között ($F[2,40]=2.031$, n.s.), viszont szignifikáns különbséget mutatott ki az ülések között ($F[1,40]=120.1$, $p < 0.0001$). A csoportok és az ülések közötti interakcióban viszont nem volt szignifikáns különbség ($F[2,40]=0.205$, n.s.). A post hoc analízis szerint jelentős averzió fejlődött ki mindhárom kísérleti csoportban, ugyanis a Tesztnapon szignifikánsan kevesebb kinin oldatot fogyasztottak, mint a Társítás napján (Társítás vs. Teszt; CO: $p < 0.001$, KA: $p < 0.001$, 6-OHDA: $p < 0.001$).

4.8.2. Kondicionált íz-averzió megtartása

Szacharin: A 10 mM szacharint vizsgálva, a kétszemponos varianciaanalízis szerint szignifikáns különbség volt a csoportok között ($F[2,45]=4.691$, $p < 0.05$), valamint az ülések között ($F[2,45]=79.897$, $p < 0.001$) és az interakció tekintetében is ($F[4,45]=2.706$, $p < 0.05$). A post hoc teszt kimutatta, hogy a CO patkányok szacharinfelvétele szignifikánsan kisebb volt a Re-teszt napon, mint a Társítás napján ($p < 0.01$), ebben az esetben az íz-averzió megtartásáról van szó. Ezzel szemben a neurotoxikus lézió átesett csoportoknál a Re-Teszt és Társítás napi fogyasztások nem különböztek, viszont szignifikánsan többet ittak a Re-teszt napján, mint a Teszt napon (Re-teszt vs. Teszt, KA: $p < 0.001$; 6-OHDA: $p < 0.001$), ami az íz-averzió megtartásának károsodását jelzi. A post hoc teszt analízise rávilágított arra is, hogy a KA és 6-OHDA csoportokba tartozó állatok szignifikánsan több szacharin oldatot ittak a Re-teszt napján, mint a CO patkányok (CO vs. KA: $p < 0.01$; CO vs. 6-OHDA: $p < 0.01$).

NaCl: Az 50 mM NaCl-dal végzett kísérletünkben nem volt szignifikáns különbség a csoportok között ($F[2,51]=1.945$, n.s.), de szignifikáns különbség volt megfigyelhető az ülések között ($F[2,51]=16.911$, $p < 0.001$). A csoportok és ülések közötti interakció nem volt szignifikáns ($F[4,51]=2.351$, n.s.). A post hoc teszt analízise szerint a CO csoportba tartozó állatok a Re-teszt során szignifikánsan kevesebb ($p < 0.05$) NaCl-oldatot fogyasztottak a Társítás napján mért értékhez képest, tehát képesek voltak az averzív íz-információkat előhívni a memóriából. A neurotoxikus lézió átesett állatcsoportok Re-teszt és Társítás napi fogyasztása nem különbözött, viszont szignifikánsan több íz oldatot fogyasztottak a Re-teszt napon, mint a Teszt napon (Re-teszt vs. Teszt, KA: $p < 0.01$; 6-OHDA: $p < 0.01$), ami azt jelzi, hogy a neurotoxikus mikroléziók károsították a retenciós képességet.

Citromsav: A 10 mM citromsav esetében a csoportok között nem volt szignifikáns különbség ($F[2,57]=0.611$, n.s.), viszont az ülések között szignifikáns eltérés állt fenn ($F[2,57]=30.764$, $p<0.0001$). A csoportok és ülések közötti interakció nem volt szignifikáns ($F[4,57]=0.195$, n.s.). A post hoc teszt szignifikáns különbséget talált a Re-teszt és Társítás napján fogyasztott ízoldat mennyiségek között (Re-teszt vs. Társítás; CO: $p<0.01$, KA: $p<0.01$, 6-OHDA: $p<0.01$), ami arra utal, hogy mindhárom kísérleti állatcsoportban megmaradt az íz-averzió információjának memóriából történő előhívási képessége.

Kinin: A 0.25 mM kinin vizsgálata során nem volt szignifikáns különbség a csoportok között ($F[2,54]=0.147$, n.s.), de szignifikáns különbséget találtunk az ülések között ($F[2,54]=90.837$, $p<0.001$). A csoportok és ülések közötti interakció nem különbözött szignifikánsan ($F[4,54]=0.366$, n.s.). A post hoc teszt kimutatta, hogy mindhárom kísérleti állatcsoport a Re-teszt napján szignifikánsan kevesebb ízoldatot fogyasztott, mint a Társítás napján (Re-teszt vs. Társítás; CO: $p<0.001$, KA: $p<0.001$, 6-OHDA: $p<0.001$), ami az előhívási képesség meglétére utal.

4.9. Hedonikus eltolódás vizsgálata kondicionált íz-averziót követően

A kondicionált íz-averzió intraorális kanüllel való kiépítése előtt mindhárom állatcsoportban hasonlóan magas volt az ingesztív és alacsony a rejektív válaszok száma 10 mM szacharin oldat injektálása esetén. Az egyszempontos ANOVA statisztikai analízis nem talált szignifikáns különbséget az állatcsoportok között az ingesztív ($F[2,17]=0.269$, n.s) és rejektív válaszok számában ($F[2,17]=1.041$, n.s.). A kondicionált íz-averzió kiépítését követő tesztelés során az egyszempontos varianciaanalízis szignifikáns eltérést mutatott ki a csoportok között ($F[2,17]=6.697$, $p<0.01$). A post hoc teszt szerint a CO állatok szignifikánsan kevesebb ingesztív választ adtak, mint a KA vagy 6-OHDA csoportba tartozó patkányok (KA vs. CO: $p<0.01$; 6-OHDA vs. CO: $p<0.005$). Az ízoldat hedonikus értékének kétszempontos varianciaanalízissel elvégzett összehasonlítása azt mutatta, hogy szignifikáns különbség áll fenn az ülések ($F[1,34]=95.328$, $p<0.0001$) és a csoportok között ($F[2,34]=45.653$, $p<0.0001$), valamint az ülések és csoportok közötti interakcióban is ($F[2,34]=46.435$, $p<0.0001$). A post hoc tesztek alapján a KA és 6-OHDA csoport állatai szignifikánsan kellemesebbnek értékelték a szacharin oldatot a Tesztnapon a CO csoporthoz képest (KA vs. CO: $p<0.001$; 6-OHDA vs. CO: $p<0.001$). A CO állatok viszont szignifikánsan kellemetlenebbnek ítélték meg a szacharin oldatot a Tesztnapon, mint a Társítás napján (CO: Társítás vs. Teszt: $p<0.0001$).

5. DISZKUSSZIÓ

Testsúly, táplálék- és folyadékfelvétel

Kísérleteink eredményei szerint a vmPFC bilaterális kainsavas mikroléziója **nem okoz súlyos testsúly-, táplálék- és vízfelvételi zavarokat**. A kainsavas lézió után megfigyelhető átmeneti testsúlycsökkenés a műtétet követően egy hétig tartott. Irodalmi adatok szerint a teljes mPFC ablációja után a kísérleti állatok átlagosan 20 (18-31) nap elteltével érték csak el preoperatív testsúlyukat [32]. Valószínűsítjük, hogy e különbséget a léziók eltérő nagysága okozza. A vmPFC neuronjainak pusztulása a táplálékfelvételt is megváltoztatta: a léziót követő 1. napon kialakult hipofágiát egy 8 napig tartó, enyhe hiperfágiás szakasz követte. A fokozott táplálékfelvétel tendenciája a lézió utáni második héten is megfigyelhető volt. Hipotézisünk szerint ennek oka a testsúly csökkenésének kompenzációs mechanizmusa lehet. **Adataink szerint a vmPFC neuronjai nem játszanak szerepet a vízháztartás szabályozásában, mivel léziója a vízfelvételben nem okozott változást. A vmPFC katekolaminerg beidegzésének károsodása nem okozott testsúly, táplálék- és folyadékfelvételi zavarokat.** Hasonló eredményről számolt be kutatócsoportunk egy korábbi kísérletsorozatban, ahol a dmPFC iontoforetikus 6-OHDA léziója sem vezetett testsúly, táplálék- és folyadékfelvételi zavarok kialakulásához [26]. Ezzel szemben a mikroinjekciós módszerrel a vmPFC-be vagy a dmPFC-be beadott 6-OHDA hosszantartó testsúlycsökkenést eredményezett [29, 33]. Az iontoforetikus mikroléziós technikával jól körülhatárolható, kis méretű léziókat tudunk létrehozni súlyos magatartási mellékhatások elkerülésével, így a nagyobb kiterjedésű léziók által okozott esetleges testsúlycsökkenés, hipofágia vagy hipodipszia kiküszöbölhető [21, 22].

Fiziológiás terhelések

A vmPFC kainsavas vagy 6-OHDA-os mikrolézióját követően a kísérleti állatok jól alkalmazkodtak a 0.15 M NaCl-oldat i.p. injekciójával kiváltott hypervolaemia és az 1 M NaCl oldat által előidézett intracelluláris dehidrációs terhelésekhez. Eredményeink egybehangzóak a korábbi tanulmányokkal, melyekben a teljes mPFC eltávolítása után sem találtak regulációs zavarokat a fiziológiás terhelések után [34, 35]. Kutatócsoportunk korábbi kísérletei szerint a szomszédos agyterület (dmPFC) iontoforetikus mikroléziója sem eredményez zavart ezen válaszok kialakulásában [26]. **Adataink alapján kijelenthető, hogy a vmPFC neuronjai és katekolaminerg terminálisai nem játszanak meghatározó**

szerepet ezen fiziológiás terhelésekre adandó, megfelelő adaptációs magatartás kialakításában.

Általános aktivitás és sztereotip mozgásformák

A vmPFC kainsavas vagy 6-OHDA-os mikroléziója nem eredményezett eltérést az általános aktivitásban és a fajspecifikus sztereotip mozgásformák előfordulásában **open field** tesztben. Irodalmi adatok szerint a teljes mPFC aspirációja, NMDA, iboténsavas vagy quinolin savas léziója sem változtatja meg az állatok általános lokomotoros aktivitását [36-38]. A mPFC-be mikroinjekciós technikával juttatott 6-OHDA szintén nem befolyásolja sem a lokomotoros aktivitást, sem az amfetamin által előidézett stimulációs hatásokat open field tesztben [39, 40]. Amennyiben a 6-OHDA lézió csak a szomszédos dmPFC területét érinti, általános aktivitás fokozódás lép fel. Ezt a jelenséget mikroinjekciós és mikroiontoforézises módszerekkel is igazoltuk korábbi kutatásainkban. Szintén általános aktivitás fokozódást eredményez a mPFC dopamintartalmú rostjainak kiirtása.[26, 29]. **Jelen kísérleti adataink azt mutatják, hogy a vmPFC area nem játszik közvetlen szerepet az általános aktivitás és a fajspecifikus viselkedési mintázatok idegi kontrolljában.**

Íz-preferencia

Eredményeink szerint a vmPFC lokális neuronjainak léziója nem változtatta meg a 250 mM és 500 mM koncentrációjú glükóz, valamint a 10 mM szacharin oldatok fogyasztását kétüveges preferencia tesztben. A vmPFC katekolaminerg léziója után az állatok normál preferenciát mutattak 250 mM glükóz oldatra, de megnövekedett preferenciát az édesebb 500 mM glükóz és a 10 mM szacharin oldatokra. Amikor két intenzív édes, de eltérő energiatartalmú ízoldatot preferenciáját vizsgáltuk, akkor a 6-OHDA csoport nagyobb preferenciát mutatott a 500 mM glükózt iránt, szemben a kontroll állatokkal, akik hasonlóan értékelték a két ízoldatot. Kutatócsoportunk korábbi kísérletei szerint a szomszédos dmPFC területén végzett nagyobb méretű (mikroinjekcióval beadott 6-OHDA, DMI előkezeléssel) dopaminerg lézió megnövelte mind a 250M glükóz, mind az 500mM glükóz oldatok preferenciáját [33]. A különböző eredmények feltehetőleg egyrészt a 6-OHDA különböző beadási módszeréből, ennek következtében a léziók eltérő méretéből, másrészt a dmPFC és vmPFC közötti anatómiai és funkcionális különbségekből [1], illetve az eltérő mértékű dopaminerg és noradrenerg innervációból és receptordenzitásból fakadnak [31]. **Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a vmPFC-ben végződő katekolaminerg axonterminálisok esszenciális szerepet játszanak a magas élvezeti**

értékű, édes ízű táplálékok fogyasztásában. Ezen rostok hiánya megemelkedett preferenciához, így hedonikus evéshez vezethet.

Íz-reaktivitás

A vmPFC neuronjainak léziója elsősorban a magasabb koncentrációjú kellemes ízű oldatok, vagyis az intenzív édes és sós ízű ingerek esetében fokozta az ízek hedonikus megítélését. A kellemetlen ízű oldatok (citromsav, kinin) tesztelésekor az ízoldatok hedonikus értékét a lézió negatív irányba változtatta, vagyis nött a rejektív válaszok száma. A lézió hatására tehát az állatok a kellemes ízű oldatokat még kellemesebbnek, a kellemetlen ízű oldatokat még kellemetlenebbnek értékelték. **Hasonló jelenség figyelhető meg a vmPFC katekolaminerg innervációjának károsodása után is, ahol a kellemes ízű és magas koncentrációjú oldatok hedonikus megítélése nött, míg a kellemetlen ízű oldatok élvezeti értéke csökkent.** Ráadásul ezek az állatok nagyfokú érzékenységet mutattak a legkisebb koncentrációjú keserű ízzel szemben, ami „finnyáság”-szerű viselkedésre enged következtetni. Eredményeink egybehangzóak a korábbi irodalmi adatokkal, melyekben a mPFC léziója után kialakult „finnyáságról” számoltak be, ugyanis a kísérleti állatok kevesebbet ittak a kininnel ízesített vízből, mint kontroll társaik [34]. Kijelenthetjük tehát, hogy a szakirodalomban megfigyelt és leírt „finnyáság” mPFC károsodása után, egy, a kellemetlen, averzív ízekkel szembeni fokozott hedonikus érzékenységnek lehet a következménye. Kísérleti eredményeink alapján feltételezzük, hogy e jelenség létrejöttéért elsősorban a vmPFC katekolaminerg rostjainak károsodása vagy hiánya lehet felelős. **Adataink alapján megállapítható, hogy a vmPFC neuronjai, illetve katecholaminerg beidegzése részt vesznek az ízletes és kellemetlen ízek hedonikus értékelésében, így alapvető szerepet játszanak a magas élvezeti értékű, illetve a kellemetlen ízű táplálékok fogyasztásának kontrolljában.**

Kondicionált íz-averzió

A vmPFC kainsavas vagy 6-OHDA-os mikroléziója megakadályozta a kondicionált íz-averzió kiépülését az 50 mM NaCl oldatra, a 10 mM szacharin oldatra és a 10 mM citromsav oldatra. Az alacsony hedonikus értékkel rendelkező 0.25 mM kinin oldatra viszont kiépíthető volt az íz-averzió. A vmPFC kainsavas vagy 6-OHDA-os mikroléziója károsította az 50 mM NaCl oldattal, illetve a 10 mM szacharin oldattal kiépített averzív íz-információk előhívásának képességét. Ugyanakkor a léziók nem befolyásolták a 10 mM citromsav vagy a 0.25 mM kinin oldatokra kiépített íz-averzió megtartását. **Összefoglalva**

tehát, a vmPFC kainsavas vagy 6-OHDA-os léziója károsította a magas élvezeti értékű izoldatokkal kiépített íz-averzió kialakulását és megtartását, viszont a kevésbé kedvelt ízek alkalmazásakor nem volt megfigyelhető hasonló jellegű kondicionált íz-averziós deficit.

Hasonló eredményekről számoltak be D1 dopamin receptor hiányos egereknél, akiknél a nagyon magas hedonikus értékű édes ízű oldatra (500 mM szukróz) nem volt kiépíthető az íz-averzió, míg a magas koncentrációjú, kevésbé kedvelt vagy averzív NaCl-ra (200 mM NaCl) hiánytalanul kiépült [41]. Szintén az alkalmazott íz hedonikus értékétől függő kondicionált íz-averziós károsodásról számoltak be a ventrális pallidumba injektált GABA_A receptor antagonistá bicucullin kezelés után, ahol a magas hedonikus értékű szacharinra (5 mM) nem, míg a kellemetlen kininre (0.3 mM) kialakult az íz-averzió [42]. Irodalmi adatok támasztják alá, hogy a mPFC érzékeny a magas hedonikus értékkel rendelkező ízekre, mivel az ilyen jellegű táplálékok elfogyasztása dopamin és noradrenalin felszabadulást vált ki a mezolimbikus-mezokortikális dopamin rendszer terminális területein, így a vmPFC-ben is [43]. Kimutatták, hogy a szubkortikális régiókban végződő katekolaminerg idegvégződések eltérően (ellentétesen) reagálnak a különböző hedonikus értékű íz-ingerekre. Farmakológiai tanulmányok sora számolt be a dopamin és noradrenalin szerepéről a különböző averzív tanulási és memóriafolyamatokban. Igazolták például a dopamin transzmissziójának jelentőségét a vmPFC-ben a kondicionált félelem kialakulásában és kifejeződésében [44], valamint a különféle típusú averzív információk hosszútávú memóriában történő tárolásában is [45]. A nACC shell areájában [12] és laterális hypothalamusban [13] is igazolták már a dopamin alapvető szerepét az íz-információk rövidtávú memóriában történő tárolásában kondicionált íz-averziós tanulási folyamatokban. A noradrenerg rendszert vizsgálva (pl. locus coeruleus, basolaterális amygdala) megállapították, hogy hasonlóan alapvető fontosságú a kondicionált íz-averziós tanulásban [14, 46, 47]. Kimutatták, hogy a noradrenerg neurotranszmisszió gátlása a vmPFC-ben károsítja a kondicionált íz-averzió asszociációs fázisát, valamint az averzív íz-információk megtartását, ezzel szemben a nem averzív jellegű tanulási folyamatokat és az íz-percepciót nem befolyásolja [48].

Feltételezésünk szerint a vmPFC lokális neuronjai és katekolaminerg beidegzése hasonló szerepet játszanak a kondicionált íz-averzió tanulási és retenciós folyamataiban, mivel károsodásuk hasonló jellegű funkciókiesést eredményezett. Eredményeinket összegezve megállapíthatjuk továbbá, hogy ezen idegi elemek intakt jelenléte szükséges a kondicionált íz-averzió asszociációs fázisában, valamint az averzív íz-információk

memóriából történő előhívási mechanizmusában, elsősorban magas és közepes élvezeti értékű ízek esetében.

Hedonikus eltolódás

A vmPFC neuronjainak vagy katekolaminerg innervációjának roncsolása nem befolyásolta a Társítás előtt fogyasztott 10 mM szacharin oldat hedonikus értékelését. **Ezzel szemben Társítás után megváltozott a lézió átesett állatok hedonikus értékelése, ugyanis több ingerstív választ adtak az ízoldatra, mint kontroll társaik. A hedonikus skála szerint a kontroll állatok egyértelműen kellemetlennek ítélték a 10 mM szacharin oldatot, ezzel szemben a KA és 6-OHDA csoportok kellemesnek találták azt. Eredményeink igazolták feltételezésünket, miszerint a vmPFC léziója nem csak a kondicionált íz-averziót (íz-elkerülést), illetve az ízek hedonikus megítélését, hanem magát a hedonikus eltolódást („hedonic shift”) vagyis a kondicionált íz-undor kifejeződését is befolyásolja.**

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A) A vmPFC neuronjainak iontoforetikus kainsavas mikroléziója:

- 1) átmeneti testsúlycsökkenést eredményezett
- 2) a lézió utáni kezdeti hypophagiát átmeneti hyperphagia követett
- 3) az ad libitum vízfelvételt nem változtatta meg
- 4) nem befolyásolta a fiziológiás terhelésekre adott adaptív mechanizmusokat
- 5) nem változtatta meg az általános aktivitást és a fajspecifikus sztereotíp mozgásformák előfordulását
- 6) nincs hatással édes ízek preferenciájára
- 7) megemelte a közepes koncentrációjú glükóz és a magas koncentrációjú szacharin, illetve NaCl oldatok hedonikus értékét. A nagyon kellemetlen, magas koncentrációjú íz-ingerekre a lézió fokozta az averzív reakciók gyakoriságát, ami hyperreaktivásra utalhat
- 8) megakadályozta a közepes és magas hedonikus értékű íz-ingerekre kiépített íz-averziós tanulás asszociációs fázisát

9) károsította a már korábban kiépített averzív íz-információk memóriából történő előhívásának mechanizmusát, amennyiben kondicionált ingerként magas hedonikus értékű íz-ingert alkalmaztunk

10) kondicionált íz-averziós tanulásban károsodik az ízoldat hedonikus eltolódásának képessége („hedonic shift”)

B) A vmPFC-ben végződő katekolaminerg végződések iontoforetikus 6-OHDA-os mikroléziója:

1) nem eredményezett testsúlyváltozást

2) nem okozott változást a táplálékfelvételben

3) nem vezetett ad libitum vízfelvételi zavarokhoz

4) nem befolyásolta fiziológiás terhelések utáni kompenzációs homeosztatikus mechanizmusokat

5) nem változtatta meg az általános aktivitást és a fajspecifikus sztereotíp mozgásformák előfordulását

6) fokozta mindkét intenzív édes ízű, de eltérő energiatartalmú oldat (glükóz, szacharin) preferenciáját, nem befolyásolta viszont a kevésbé intenzív édes ízű és alacsonyabb koncentrációjú glükóz oldat preferenciáját

7) megemelte a magas koncentrációjú glükóz, szacharin, illetve NaCl oldatok hedonikus értékét, a kellemetlen íz-ingerekre pedig csökkentette a lézió az ingesztív válaszok gyakoriságát. A legkisebb koncentrációjú kininre adott csökkent ingesztivitás „finnyasság”-szerű magatartási formára utal.

8) megakadályozta a közepes és magas hedonikus értékű íz-ingerekre kiépített íz-averziós tanulást

9) károsította a már korábban kiépített averzív íz-információk memóriából történő előhívásának mechanizmusát, amennyiben kondicionált ingerként magas hedonikus értékű íz-ingert alkalmaztunk

10) megváltoztatja a kellemes ízű oldat hedonikus eltolódását („hedonic shift”) kondicionált íz-averzió során

Összegzésképpen megállapíthatjuk, hogy a vmPFC intrinsic neuronjai, valamint katekolaminerg inputjai elengedhetetlenek a magas élvezeti értékkel rendelkező táplálékok fogyasztásának, illetve a kellemetlen ízű ételek elkerülésének szabályozásában, így az agyterület diszfunkciója túlevéshez és obezitáshoz vezethet.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Heidbreder, C.A. and H.J. Groenewegen, *The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. Neurosci Biobehav Rev*, 2003. **27**(6): p. 555-79.
2. Vertes, R.P., *Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. Synapse*, 2004. **51**(1): p. 32-58.
3. Gabbott, P.L., et al., *Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. J Comp Neurol*, 2005. **492**(2): p. 145-77.
4. Lindvall, O., et al., *Mesencephalic dopamine neurons projecting to neocortex. Brain Res*, 1974. **81**(2): p. 325-31.
5. Thierry, A.M., et al., *Dopaminergic terminals in the rat cortex. Science*, 1973. **182**(4111): p. 499-501.
6. Lindvall, O., A. Bjorklund, and I. Divac, *Organization of catecholamine neurons projecting to the frontal cortex in the rat. Brain Res*, 1978. **142**(1): p. 1-24.
7. Jezzini, A., et al., *Processing of hedonic and chemosensory features of taste in medial prefrontal and insular networks. J Neurosci*, 2013. **33**(48): p. 18966-78.
8. Petyko, Z., et al., *Neuronal activity in rat medial prefrontal cortex during sucrose solution intake. Neuroreport*, 2009. **20**(14): p. 1235-9.
9. Cenci, M.A., et al., *Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial frontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen: a microdialysis study in the rat. Brain Res*, 1992. **581**(2): p. 217-28.
10. Hernandez, L. and B.G. Hoebel, *Feeding can enhance dopamine turnover in the prefrontal cortex. Brain Res Bull*, 1990. **25**(6): p. 975-9.
11. Land, B.B., et al., *Medial prefrontal D1 dopamine neurons control food intake. Nat Neurosci*, 2014. **17**(2): p. 248-53.
12. Fenu, S., V. Bassareo, and G. Di Chiara, *A role for dopamine D1 receptors of the nucleus accumbens shell in conditioned taste aversion learning. J Neurosci*, 2001. **21**(17): p. 6897-904.
13. Caulliez, R., M.J. Meile, and S. Nicolaidis, *A lateral hypothalamic D1 dopaminergic mechanism in conditioned taste aversion. Brain Res*, 1996. **729**(2): p. 234-45.
14. Borsini, F. and E.T. Rolls, *Role of noradrenaline and serotonin in the basolateral region of the amygdala in food preferences and learned taste aversions in the rat. Physiol Behav*, 1984. **33**(1): p. 37-43.
15. Holsen, L.M., et al., *Importance of reward and prefrontal circuitry in hunger and satiety: Prader-Willi syndrome vs simple obesity. Int J Obes (Lond)*, 2012. **36**(5): p. 638-47.
16. Penas-Lledo, E.M., et al., *Anterior cingulate activity in bulimia nervosa: a fMRI case study. Eat Weight Disord*, 2007. **12**(4): p. e78-82.
17. Volkow, N.D., et al., *Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. Neuroimage*, 2008. **42**(4): p. 1537-43.
18. Öngür, D., A.T. Ferry, and J.L. Price, *Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. Journal of Comparative Neurology*, 2003. **460**(3): p. 425-449.
19. Britt, M.D. and R.A. Wise, *Kainic acid spares fibers of the dorsal noradrenergic bundle. Brain Res Bull*, 1981. **7**(4): p. 437-40.
20. Oades, R.D., et al., *Locomotor activity in relation to dopamine and noradrenaline in the nucleus accumbens, septal and frontal areas: a 6-hydroxydopamine study. Neuropsychobiology*, 1986. **16**(1): p. 37-42.
21. Sandor, P., et al., *Microelectrophoretic application of kainic acid into the globus pallidus: disturbances in feeding behavior. Brain Res Bull*, 1992. **28**(5): p. 751-6.

22. Lenard, L., et al., Lateral hypothalamic feeding mechanisms: iontophoretic effects of kainic acid, ibotenic acid and 6-hydroxydopamine. *Brain Res Bull*, 1988. **20**(6): p. 847-56.
23. Paxinos, G. and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2 ed 1986, New York: Academic Press.
24. 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.
25. Flynn, F.W., et al., Central gustatory lesions: I. Preference and taste reactivity tests. *Behav Neurosci*, 1991. **105**(6): p. 933-43.
26. Hernadi, I., et al., Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull*, 2000. **53**(6): p. 751-8.
27. Hernadi, I., et al., Disturbances of neophobia and taste-aversion learning after bilateral kainate microlesions in the rat pallidum. *Behav Neurosci*, 1997. **111**(1): p. 137-46.
28. Pfaffmann, C., The pleasures of sensation. *Psychol Rev*, 1960. **67**: p. 253-68.
29. Galosi, R., et al., The role of catecholamine innervation in the medial prefrontal cortex on the regulation of body weight and food intake. *Behav Brain Res*, 2015. **286**: p. 318-27.
30. Oades, R.D. and G.M. Halliday, Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res*, 1987. **434**(2): p. 117-65.
31. Emson, P.C. and G.F. Koob, The origin and distribution of dopamine-containing afferents to the rat frontal cortex. *Brain Res*, 1978. **142**(2): p. 249-67.
32. 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.
33. Galosi, R., et al., Effect of catecholaminergic lesions of medial prefrontal cortex on regulation of body weight and glucose preference. *Neurobiology (Bp)*, 1997. **5**(4): p. 469-72.
34. Kolb, B. and A.J. Nonneman, Prefrontal cortex and the regulation of food intake in the rat. *J Comp Physiol Psychol*, 1975. **88**(2): p. 806-15.
35. Brandes, J.S. and A.K. Johnson, Recovery of feeding in rats following frontal neocortical ablations. *Physiol Behav*, 1978. **20**(6): p. 763-9.
36. Wolf, M.E., et al., Effects of lesions of prefrontal cortex, amygdala, or fornix on behavioral sensitization to amphetamine: comparison with N-methyl-D-aspartate antagonists. *Neuroscience*, 1995. **69**(2): p. 417-39.
37. Dias, R. and J.P. Aggleton, Effects of selective excitotoxic prefrontal lesions on acquisition of nonmatching- and matching-to-place in the T-maze in the rat: differential involvement of the prelimbic-infralimbic and anterior cingulate cortices in providing behavioural flexibility. *Eur J Neurosci*, 2000. **12**(12): p. 4457-66.
38. Burns, L.H., et al., Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens on the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. *Behav Neurosci*, 1996. **110**(1): p. 60-73.
39. Carter, C.J. and C.J. Pycck, Behavioural and biochemical effects of dopamine and noradrenaline depletion within the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res*, 1980. **192**(1): p. 163-76.
40. Bjijou, Y., et al., D-amphetamine-induced behavioral sensitization: effect of lesioning dopaminergic terminals in the medial prefrontal cortex, the amygdala and the entorhinal cortex. *Neuroscience*, 2002. **109**(3): p. 499-516.
41. Cannon, C.M., C.A. Scannell, and R.D. Palmiter, Mice lacking dopamine D1 receptors express normal lithium chloride-induced conditioned taste aversion for salt but not sucrose. *Eur J Neurosci*, 2005. **21**(9): p. 2600-4.
42. Inui, T., T. Shimura, and T. Yamamoto, The role of the ventral pallidum GABAergic system in conditioned taste aversion: effects of microinjections of a GABAA receptor antagonist on taste palatability of a conditioned stimulus. *Brain Res*, 2007. **1164**: p. 117-24.

43. Bassareo, V. and G. Di Chiara, *Modulation of feeding-induced activation of mesolimbic dopamine transmission by appetitive stimuli and its relation to motivational state.* *Eur J Neurosci*, 1999. **11**(12): p. 4389-97.
44. Morrow, B.A., et al., *The role of mesoprefrontal dopamine neurons in the acquisition and expression of conditioned fear in the rat.* *Neuroscience*, 1999. **92**(2): p. 553-64.
45. Gonzalez, M.C., et al., *Medial prefrontal cortex dopamine controls the persistent storage of aversive memories.* *Front Behav Neurosci*, 2014. **8**: p. 408.
46. Dunn, L.T. and B.J. Everitt, *The effects of lesions to noradrenergic projections from the locus coeruleus and lateral tegmental cell groups on conditioned taste aversion in the rat.* *Behav Neurosci*, 1987. **101**(3): p. 409-22.
47. Miranda, M.I., et al., *Blockade of noradrenergic receptors in the basolateral amygdala impairs taste memory.* *Eur J Neurosci*, 2003. **18**(9): p. 2605-10.
48. Reyes-Lopez, J., et al., *Differential effects of beta-adrenergic receptor blockade in the medial prefrontal cortex during aversive and incidental taste memory formation.* *Neuroscience*, 2010. **169**(1): p. 195-202.

8. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

A) A disszertáció témájához kapcsolódó cikkek

Berta, Beáta ; Péczely, László ; Kertes, Erika ; Petykó, Zoltán ; Ollmann, Tamás ; László, Kristóf ; Kállai, Veronika ; Kovács, Anita ; Zagorác, Olga ; Gálosi, Rita ; Zoltán Karádi ; László Lénárd: Iontophoretic microlesions with kainate or 6-hydroxidopamine in ventromedial prefrontal cortex result in deficit in conditioned taste avoidance to palatable tastants. *BRAIN RESEARCH BULLETIN* 143 pp. 106-115. , 10 p. (2018)

Q2, [IF: 3.103]

Berta, Beáta ; Kertes, Erika ; Péczely, László ; Ollmann, Tamás ; László, Kristóf ; Gálosi, Rita ; Kállai, Veronika ; Petykó, Zoltán ; Zagorác, Olga ; Kovács, Anita ; Zoltán Karádi ; László Lénárd: Ventromedial prefrontal cortex is involved in preference and hedonic evaluation of tastes. *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH* 367 pp. 149-157. , 9 p. (2019)

Q1, [IF: 2.77]

Hernádi, I ; Karádi, Z ; Vigh, J ; Petykó, Z ; Egyed, R ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat, *BRAIN RESEARCH BULLETIN* 53 : 6 pp. 751-758. , 8 p. (2000)

Q2, [IF: 1.175]

B) Egyéb impakt faktoros publikációk

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Effects of substance P microinjections into the globus pallidus and central nucleus of amygdala on passive avoidance learning in rats. *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH* 198 : 2 pp. 397-403. , 7 p. (2009)

Q1, [IF:3.22]

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Positive reinforcing effects of substance P in the rat central nucleus of amygdala. *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH* 205 : 1 pp. 307-310., 4 p. (2009)

Q1, [IF:3.22]

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Positive reinforcing effects of substance P in the rat globus pallidus revealed by conditioned place preference. *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH* 215 : 1 pp. 152-155. , 4 p. (2010)

Q1, [IF:3.393]

Galosi, R ; Petyko, Z ; Kallai, V ; Toth, A ; Ollmann, T ; Peczely, L ; Kovacs, A ; **Berta, B** ; Lenard, L: Destruction of noradrenergic terminals increases dopamine concentration and reduces dopamine metabolism in the medial prefrontal cortex. *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH* 344 pp. 57-64. , 8 p. (2018)

Q1, [IF: 2.770]

V. Kállai, L. Lénárd, L. Péczely, R. Gálósi, D. Dusa, A. Tóth, K. László, E. Kertes, A. Kovács, O. Zagoracz, **B. Berta**, Z. Karádi, and T. Ollmann, "Cognitive performance of the MAM-E17 schizophrenia model rats in different age-periods," *BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH*, vol. 379, Paper: 112345 , 8 p. (2020)

Q1, [IF: 2.77]

O. Zagoracz, T. Ollmann, L. Péczely, K. László, A. Kovács, **B. Berta**, V. Kállai, E. Kertes, and L. Lénárd, "QRFP administration into the medial hypothalamic nuclei improves memory in rats," *BRAIN RESEARCH*, vol. 1727, Paper: 146563 , 9 p. (2020)

Q1, [IF: 2,929]

C) Egyéb publikációk és citálható absztraktok

Hernádi, I ; Karádi, Z ; Lénárd, L ; **Berta, B** ; Kovács, P: Gustatory information processing in the rodent prefrontal cortex: behavioral and electrophysiological investigations. *APPETITE* 31 : 2 pp. 246-247. , 2 p. (1998)

Várady, K ; Lénárd, L ; **Berta, B** ; Hartmann, G: Behavioral consequences of dopaminergic lesions in the rat ventral pallidum. *NEUROBIOLOGY - BUDAPEST* 7 : 3 pp. 401-402. , 2 p. (1999)

Berta, B ; Lénárd, L ; Várady, K ; Hernádi, I: The role of infralimbic cortex in taste related learning. *NEUROBIOLOGY - BUDAPEST* 7 : 3 pp. 285-286. , 2 p. (1999)

Oláh-Várady, K ; Kertes, E ; **Berta, B** ; Lénárd, L: The role of dopaminergic elements of ventral pallidum in learning and memory. *IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE* 56 : 2. klsz. p. 64 (2003)

Berta, B ; Oláh-Várady, K ; Lénárd, L: Taste-information processing disturbances after microlesions of the prefrontal cortex. *IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE* 56 : Suppl. 2 pp. 12-13. , 2 p. (2003)

Várady, OK ; Péczely, L ; László, K ; Kertes, E ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Application of D1 receptor antagonist prevents learning enhancement induced by D1 receptor agonist into the ventral pallidum. ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 94 : 4 pp. 382-382. , 1 p. (2007)

Berta, B ; Várady, OK ; Lénárd, L: Lesions of the medial prefrontal cortex modulate preferences of sweet tastes. ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 94 : 4 p. 332 (2007)

Berta, B ; Várady, OK ; Lénárd, L: Taste reactivity after acquisition of conditioned taste aversion in medial prefrontal cortex lesioned rats. IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE 60 : Suppl. 1 p. 10 (2007)

K. László, T. Ollmann, E. Kertes, L. Péczely, R. Gálosi, A. Kovács, O. Zagorác, Z. Petykó, A. Tóth, **B. Berta**, F. Géczi, V. Kállai, D. Dusa, Z. Karádi, and L. Lénárd, "Neuropeptidek limbikus idegrendszeri hatásai: megerősítés és memória konszolidáció," in Vaszkuláris diszfunkció és policisztás petefészek szindróma: D-vitamin hiány és tesztoszteron hatása a nagyerek acetilkolin-függő relaxációjára és a nitratív stresszre fiatal nőstény patkányokban, 2019, p. 50.

D) Prezentációk és konferencia absztraktok

Várady, K ; Lénárd, L ; **Berta, B** ; Hartmann, G: A ventrális pallidum katecholaminergiás léziójának hatásai patkányon. A Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése : Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók. (1999) p. 152

Berta, B ; Lénárd, L ; Várady, K ; Hernádi, I: Conditioned taste aversion deficit after neurochemical lesions of the infralimbic cortex. Annual Congress of International Behavioral Neuroscience Society Vol.: 8. (1999) p. 62 Paper: P2-36

Berta, B ; Lénárd, L ; Várady, K ; Hernádi, I: The role of infralimbic cortex in taste related learning processes. 5th Alps-Adria Conference (1999) p. 9

Berta, B ; Lénárd, L ; Várady, K ; Hernádi, I: Kondicionált íz-averziós deficit az infralimbikus kéreg szelektív neurokémiai mikroléziói után. A Magyar Élettani Társaság LXIV. Vándorgyűlése : Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók (1999) p. 15 Paper: P.25

Lénárd, L ; Karádi, Z ; Hernádi, I ; Petykó, Z ; **Berta, B** ; Egyed, R ; Várady, K: Feeding-associated gustatory information processing and taste aversion learning in the limbic system: Electrophysiological and behavioral investigations. A Hungarian-Israeli Interacademy Workshop.: Chemosensory information processing: peripheral, central and psychophysiological aspects. (2000) pp. 17-18. , 2 p.

Lénárd, L ; Várady, K ; **Berta, B** ; Hartmann, G: Sensory neglect caused by dopaminergic lesions in the rat ventral pallidum. Abstracts of the International Behavioral Neuroscience Society, Vol.:9 (2000) p. 34

Várady, K ; Kertes, E ; **Berta, B** ; Lénárd, L: A ventrális pallidum D1 és D2 receptorainak szerepe a tanulásban és memóriában. A Magyar Élettani Társaság LXVII. vándorgyűlése : előadások és poszterek összefoglalói. Pécs, Magyarország : Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), (2003) p. 180

Berta, B ; Oláh-Várady, K ; Lénárd, L: Íz-percepció zavarok prefrontális kéreg neurokémiai mikrolézióit követően. A Magyar Élettani Társaság LXVII. vándorgyűlése : előadások és poszterek összefoglalói. Pécs, Magyarország : Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), (2003) p. 41

Várady, K ; Kertes, E ; László, K ; Péczely, L ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Ventral pallidal learning mechanisms: The role of D1 receptors Paper: P: 185. IBRO Workshop 2006 (2006)

Várady, K ; Péczely, L ; László, K ; Kertes, E ; **Berta, B** ; Lénárd, L: A ventrális pallidumba injektált D1 receptor antagonist megszünteti a D1 receptor agonista tanulást fokozó hatását. pp. 219-219. Paper: P53. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. vándorgyűlése : Pécs, 2007. június 6-8. : program, előadás és poszter, összefoglalók. Pécs, Magyarország : Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), (2007)

Berta, B ; Várady, K ; Lénárd, L: A mediális prefrontális kéreg léziója módosítja az édes íz preferenciáját. p. 150 Paper: P52. A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. vándorgyűlése : Pécs, 2007. június 6-8. : program, előadás és poszter, összefoglalók, Pécs, Magyarország : Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), (2007)

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Positive reinforcing and anxiolytic effects of substance P injected into the rat globus pallidus.: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (HNS) Paper: P143. Frontiers in Systems Neuroscience : 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society: Conference Abstract (2009)

Berta, B ; Kertes, E ; Lénárd, L: Alterations of taste reactivity after neurotoxic lesions in the prefrontal cortex.: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (HNS) Paper: P132 In: Frontiers in Systems Neuroscience : 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society: Conference Abstract (2009)

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Effects of substance P injected into the rat globus pallidus or central nucleus of amygdala on passive avoidance learning.: Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010. p. P6-16; IBRO International Workshop 2010 (2010)

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: The role of substance P in memory formation studied by passive avoidance paradigm. In: 7th FENS Forum of European Neuroscience Programme and Abstracts Amsterdam, Hollandia (2010) Paper: 146.24

Kertes, E ; László, K ; **Berta, B** ; Lénárd, L: The effects of substance P on learning in morris water maze test in the rat amygdala and globus pallidus. In: FENS Regional Meeting 2017 Pécs, Magyarország : Federation of European Neuroscience Societies, (2017) Paper: P1-031

Péczely, L ; Ollmann, T ; Kállai, V ; Dusa, D ; László, K ; **Berta, B** ; Kovács, A ; Kertes, E ; Gálosi, R ; Zagoracz, O ; Lénárd, L : A ventrális pallidumba injektált szulpirid hatása a tanulási folyamatokra Morris-féle úsztatási tesztben egészséges és MAM-E17 skizofrénia modell állatokon. Magyar, Élettani Társaság (szerk.) Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: P2.11

Ollmann, T ; Péczely, L ; Kállai, V ; Dusa, D ; László, K ; **Berta, B** ; Kovács, A ; Kertes, E ; Gálosi, R ; Zagoracz, O ; Lénárd, L : Role of ventral pallidal dopamine-neurotensin interactions in the regulation of reward and anxiety. Magyar, Élettani Társaság (szerk.)

Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018)
Paper: PP1.52

Kertes, E ; László, K ; Péczely, L ; Ollmann, T ; Kállai, V ; **Berta, B** ; Lénárd, L: Az amygdala centrális magjába és a globus pallidusba injektált substance P hatása a helytanulásra Morris water maze tesztben. Magyar, Élettani Társaság (szerk.) Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: P1.48

Kállai, V ; Ollmann, T ; Péczely, L ; Gálosi, R ; Tóth, A ; Kovács, A ; Dusa, D ; **Berta, B** ; Kertes, E ; László, K; Lenard, L.: A MAM-E17 skizofrénia patkánymodell: kognitív képességek vizsgálata 3 különböző életkorban. Magyar, Élettani Társaság (szerk.) Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok (2018) Paper: P2.12

Berta, B ; Kertes, E ; Péczely, L ; Ollmann, T ; Kállai, V ; Lénárd, L: A ventromediális prefrontális kéreg szerepe az íz-preferenciában. Magyar, Élettani Társaság (szerk.) Magyar Élettani Társaság 2018. évi Vándorgyűlése : előadás és poszter absztraktok. (2018) Paper: P2.16

László, K ; Ollmann, T ; Zagoracz, O ; Péczely, L ; Kertes, E ; Kovács, A ; Kállai, V ; László, B ; **Berta, B** ; Karádi, Z et al.: Inhibition of dopamine D2 receptors can alter the positive reinforcing and anxiolytic effects of oxytocin. In: 16th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (2019) p. 175

László, K ; Ollmann, T ; Kertes, E ; Péczely, L ; Gálosi, R ; Kovács, A ; Zagoracz, O ; Petykó, Z ; Tóth, A ; **Berta, B**; Lenard, L : Neuropeptidek limbikus idegrendszeri hatásai: megerősítés és memória konszolidáció. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Anatómus Társaság, Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság, Magyar Élettani Társaság közös Vándorgyűlése Budapest, Magyarország : Printing-office, (2019) p. 50

László, K ; Ollmann, T ; Zagoracz, O ; Péczely, L ; Kertes, E ; Kovács, A ; Kállai, V ; László, **B** ; **Berta, B** ; Karádi, Z; Lenard, L: Inhibition of dopamine D2 receptors can alter the positive reinforcing and anxiolytic effects of oxytocin. In: 16th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (2019) p. 175

László, K ; Gécsi, F ; Ollmann, T ; Kovács, A ; Péczely, L ; László, B ; Kállai, V ; Kertes, E ; **Berta, B** ; Karádi, Z et al.: Intraamygdaloid oxytocin reduces anxiety in valproate-induced autism model. In: IBRO Workshop (2020) Paper: 45

Dusa, DA ; Kállai, V ; Ollmann, T ; László, K ; Kertes, E ; **Marosné, BB** ; Gálosi, R ; Zagoracz, O ; Lénárd, L ; Péczely, LZ: The effects of sulpirid on spatial learning in healthy and MAM E-17 schizophrenia model rats. In: IBRO Workshop (2020) Paper: 46