

# Az anyák magatartása és stressz-reaktivitása a vazopresszin hiányos Brattleboro patkányok tükrében

Doktori értekezés

**dr. Fodor Anna**

Semmelweis Egyetem  
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Zelena Dóra, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Dobolyi Árpád, Ph.D., tudományos főmunkatárs  
Dr. Lévy György, Ph.D., tudományos tanácsadó

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Ligeti Erzsébet, az MTA tagja,  
egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Riba Pál, Ph.D., egyetemi docens  
Dr. Gacsályi István, Ph.D., kutató

Budapest  
2015

## Tartalomjegyzék

<b>Tartalomjegyzék .....</b>	<b>2</b>
<b>Rövidítések jegyzéke .....</b>	<b>5</b>
<b>1. Irodalmi háttér.....</b>	<b>8</b>
<i>1.1. Bevezetés.....</i>	8
<i>1.2. Anyai magatartás.....</i>	9
1.2.1. Az anyai magatartás formái .....	9
1.2.2. Az anyai magatartás szabályozása.....	11
1.2.3. A vazopresszin szerepe az anyai magatartásban .....	15
<i>1.3. Vazopresszin.....</i>	17
1.3.1. A vazopresszin szerkezete és szintézise .....	17
1.3.2. A vazopresszin szekréciónja és szabályozása .....	18
1.3.3. A vazopresszin receptorai.....	18
1.3.4. A vazopresszin hatásai.....	19
1.3.4. A vazopresszin eliminációja.....	22
<i>1.4. Vazopresszin hiányos patkányok.....</i>	23
<i>1.5. Pszichés zavarok az anyákban.....</i>	24
1.5.1. Depresszió .....	24
1.5.2. Szorongás .....	25
1.5.3. Agresszió .....	26
1.5.4. Impulzivitás .....	26
<i>1.6. Az anyát érő stressz hatásai .....</i>	28
1.6.1. A stressz fogalma .....	28
1.6.2. A HPA-tengely .....	29
<b>2. Célkitűzések .....</b>	<b>32</b>
<b>3. Módszerek .....</b>	<b>33</b>

3.1. <i>Állatok</i> .....	33
3.2. <i>Anyai magatartás vizsgálata</i> .....	34
3.2.1. Spontán anyai magatartás vizsgálata .....	34
3.2.2. Indukált anyai magatartás (Pup retrieval, PR) vizsgálata.....	35
3.3. <i>Anyák pszichés állapotának vizsgálata</i> .....	36
3.3.1. Depresszió- és szorongás-szerű tünetek vizsgálata .....	36
3.3.2. Anyai agresszió vizsgálata.....	39
3.3.3. Impulzív viselkedés vizsgálata .....	40
3.4. <i>Stressz-tengely működésének vizsgálata</i> .....	42
3.4.1. Szomatikus paraméterek és stressz-tengely alapszintje .....	42
3.4.2. Stresszorok hatásának vizsgálata.....	43
3.4.3. Hormonkoncentrációk mérése a vérmintákból.....	44
3.5. <i>Immunitokémiai vizsgálatok</i> .....	45
3.5.1. Minták előkészítése immunitokémiai vizsgálatokhoz .....	45
3.5.2. Immunitokémiai jelölés .....	45
3.5.3. Az immunitokémiai jelölések kvantitatív analízise.....	48
3.6. <i>Kísérleti elrendezés</i> .....	49
1. kísérletsorozat: Anyai magatartás vizsgálata.....	49
2. kísérletsorozat: Depresszió- és szorongás-szerű tünetek vizsgálata.....	49
3. kísérletsorozat: Anyai agresszió vizsgálata – rezidens-betolakodó teszt .....	50
4. kísérletsorozat: Impulzív viselkedés vizsgálata.....	50
5. kísérletsorozat: Stressz-tengely működésének vizsgálata laktáció alatt.....	51
3.7. <i>Adatok statisztikai elemzése</i> .....	51
<b>4. Eredmények</b> .....	<b>52</b>
4.1. <i>Anyai magatartás</i> .....	52
4.1.1. Spontán anyai magatartás .....	52

4.1.2. Indukált anyai magatartás (Pup retrieval test) .....	55
4.2. <i>Anyák pszichés állapota</i> .....	55
4.2.1. Depresszió- és szorongás-szerű viselkedés .....	55
4.2.2. Anyai agresszió .....	59
4.2.3. Impulzív viselkedés .....	60
4.3. <i>Stressz-tengely működésének vizsgálata</i> .....	62
4.3.1. Szomatikus paraméterek.....	62
4.3.2. Stressz-tengely alapaktivitása.....	63
4.3.3. Stresszorok hatása .....	64
4.4. <i>Immunitokémiai vizsgálatok</i> .....	67
<b>5. Megbeszélés .....</b>	<b>71</b>
<b>6. Következtetések .....</b>	<b>83</b>
<b>7. Összefoglalás .....</b>	<b>84</b>
<b>8. Summary .....</b>	<b>85</b>
<b>9. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>86</b>
<b>10. Saját publikációk jegyzéke .....</b>	<b>110</b>
<b>11. Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>112</b>

## Rövidítések jegyzéke

+/+	homozigóta domináns genotípusú Brattleboro patkány
5-HT	5-hidroxi-triptamin, szerotonin
AB	szoptató pozíció, <i>arched back posture</i>
ABC	Avidin-Biotin-Complex
ACTH	adrenokortikotrop hormon
AL	hypophysis elülső lebenye, <i>anterior pituitary lobe</i>
AS	aminosav
AVP	arginin-vazopresszin
B	anya a kölykök felett, <i>blanket posture</i>
BNST	bed nucleus of the stria terminalis
CBG	kortikoszteroid kötő fehérje, <i>corticosteroid-binding globulin</i>
CeA	centralis amygdala
CDP	klórdiazepoxid
CRH	kortikotropin elválasztást serkentő hormon, <i>corticotropin-releasing hormon</i>
DAB	diamino-benzidin
DI	diabetes insipidus
di/di	homozigóta recesszív genotípusú Brattleboro patkány
di/+	heterozigóta genotípusú Brattleboro patkány
dLS	dorsolateralis septum
dpPVN	dorsalis parvocellularis PVN
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav, <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EPM	megemelt keresztpalló teszt, <i>elevated plus maze</i>
fMRI	funkcionális mágneses rezonancia képalkotás
FST	kényszeres úszás teszt, <i>forced swim test</i>
GLM	generális-lineáris modul
GR	glükokortikoid receptor
HPA	hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely, <i>hypothalamic-pituitary-adrenal axis</i>

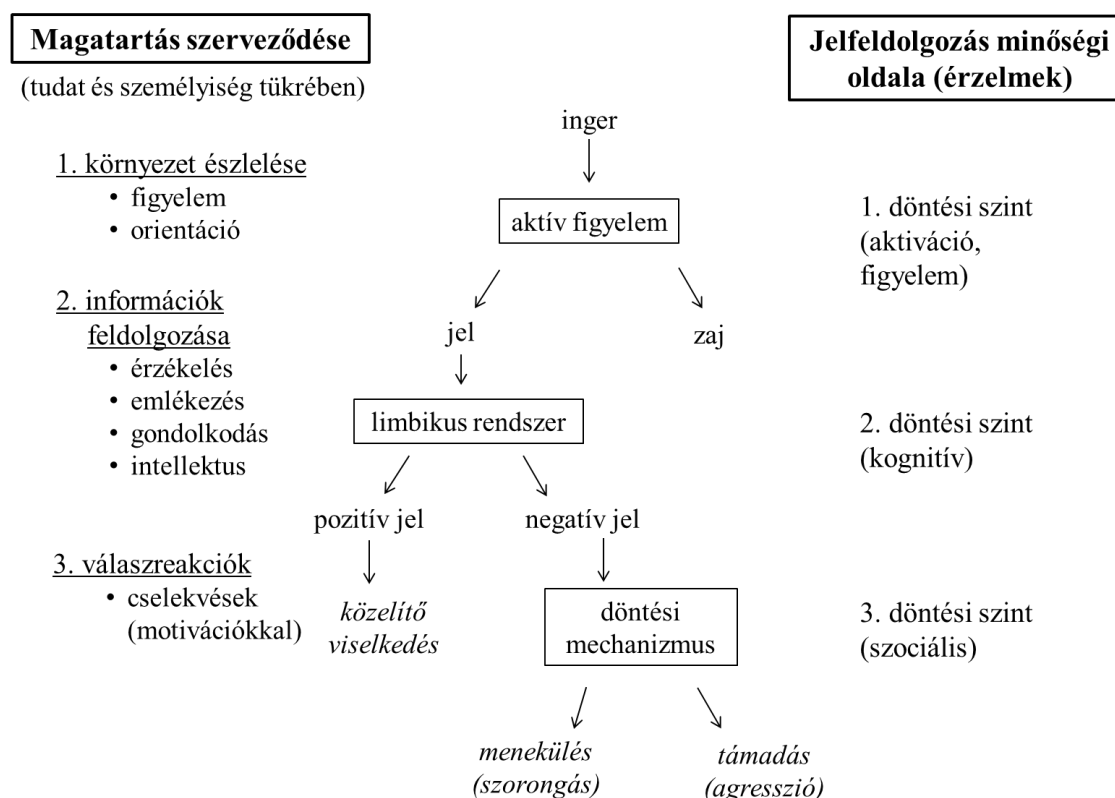
icv.	intracerebroventricularis
IMI	imipramin
ip.	intraperitonealis
iv.	intravénás
KPBS	kálium-foszfát puffer oldat, <i>potassium phosphate buffered saline</i>
KO	génkiütött, <i>knock-out</i>
LG	utódgondozás, a kölykök nyalogatása, <i>licking-grooming</i>
MeA	medialis amygdala
mPOA	medialis preoptikus area
mpPVN	medialis parvocellularis PVN
mPVN	magnocellularis PVN
MR	mineralokortikoid receptor
mRNS	hírvivő, messenger ribonukleinsav
MSH	melanocyta stimuláló hormon
NHS	normál lószérum, <i>normal horse serum</i>
P	passzív szoptatás
PAG	periaqueductalis szürkeállomány, <i>periaqueductal gray</i>
PBS	foszfát puffer oldat, <i>phosphate buffered saline</i>
POMC	pro-opiomelanokortin
PPD	postpartum depresszió
PR	aktív anyai magatartás, kölykök összeszedése, <i>pup retrieval</i>
prepro-AVP-NPII	prepro-arginine-vasopressin neurophysin II
PVN	nucleus paraventricularis
RIA	radioimmunoassay
SCN	nucleus supraquiasmaticus
SEM	a középérték közepes hibája, <i>standard error of the mean</i>
SON	nucleus supraopticus
SSC	nátrium-klorid, trinátrium-citrát puffer, <i>saline-sodium citrate buffer</i>

SSRI	szelektív szerotonin visszavétel-gátló, <i>selective serotonin reuptake inhibitor</i>
tRNS	transzfer ribonukleinsav
UTP	uridin-trifoszfát
V <sub>1a</sub> R	vazopresszin 1a típusú receptora
V <sub>1b</sub> R	vazopresszin 1b típusú receptora
V <sub>2</sub> R	vazopresszin 2 típusú receptora
vs.	versus
VTA	ventralis tegmentalis area

## 1. Irodalmi háttér

### 1.1. Bevezetés

A pszichiátria az emberi magatartás elsődleges vagy következményes zavaraiával és ezek gyógykezelésével foglalkozó ága az orvostudománynak. A magatartás az organizmus legmagasabb szinten szervezett alkalmazkodási rendszere, amely embernél döntően a társadalmi környezetbe való beilleszkedést teszi lehetővé [1], feltétele az agy zavartalan működése. Az agy működésében fellépő probléma a magatartás megváltozását vonhatja maga után, mely ha elér egy kóros szintet (adott helyzetben indokolatlan magatartás jelenik meg, illetve valamely magatartásforma túl gyakran vagy túl ritkán jelenik meg), akkor az az egyén szociális és társadalmi kapcsolataira is kihatással lehet.



1. ábra A magatartás szerveződése és a jelfeldolgozás elemei [1] (120. oldal alapján)

A magatartást az adott organizmus tulajdonságain túl (személyiség, szocializáció) az adott szituáció is nagymértékben befolyásolja, vagyis elválaszthatatlan az adott helyzettől, amiben megjelenik. A külsőleg is megfigyelhető és leírható magatartást viselkedésnek nevezzük. Azonban embernél belső aspektusa is van a magatartásnak,



mely a kívülálló számára közvetlenül nem érzékelhető. Ezek a következők: ismeretfeldolgozási folyamatok (érezékelés, gondolkodás) és az ezeket kísérő szubjektív élmények (érzelmek), valamint a cselekvéseket alapvetően meghatározó diszpozíciók (motivációk, attitűdök) (1. ábra) [1].

Az emberi szervezet működésének mélyebb megismerése céljából az orvos-biológiai kutatások során állatmodelleket alkalmazunk. Pszichofarmakológiai vizsgálatoknál viszont az állatok esetében a magatartás belső mozgatórugóit nem tudjuk meghatározni, így a magatartás külső aspektusát, a viselkedést tanulmányozva próbálunk meg következtetni a mögötte meghúzódó vezérlő elvekre, s így feltárni az emberi magatartás törvényszerűségeit. A továbbiakban a magatartás és viselkedés szavakat az állatok esetében szinonimaként használom.

Mind az állatvilágban, mind humán szempontból a korai anya-gyermek kapcsolat fontos szerepet játszik a csecsemő testi és lelki fejlődésében, és későbbi magatartásának meghatározásában is. Doktori disszertációm középpontjában ezért az anyák magatartásának tanulmányozását tűztem ki célul. Mivel az emberi kísérletek, speciálisan az anyák agyi működéseinek vizsgálata eléggé korlátozott és számos etikai problémát vet fel, ezért állatkísérletek segítségével próbáltam feltárni az anyai magatartás neurokémiai és anatómiai hátterét.

## ***1.2. Anyai magatartás***

---

### **1.2.1. Az anyai magatartás formái**

A szülői gondoskodás egy nélkülözhetetlen magatartásforma, mely szükséges ahhoz, hogy az éretlenül világra jövő utód megélje azt a kort, amikor már önmagáról képes gondoskodni [2]. Emlősöknél ez jelenthet anyai, apai vagy közös gondoskodást, de leginkább az anyai dominancia jellemző. Az állatvilágban az utódról való gondoskodás elképzelésünk szerint mintegy ösztönből fakad, melyet a vemhesség és az ellés során átalakult hormonális háttér biztosít. Az emberek körében már jogi erőre emelték, s a Családjogi törvény kimondja [3], hogy „A szülők joga és kötelezettsége, hogy a gyermeket gondozzák, a gyermek megélhetéséhez és felnevelkedéséhez szükséges feltételeket biztosítsák.” Az, hogy az anya miként viselkedik a szülést követő időszakról kezdve gyermekével, hosszú távú következményekkel jár. Például befolyásolja a gyermek későbbi szociális viselkedését: az olyan csecsemők, akik korai életük során

nem tudnak senkivel sem szorosabb kapcsolatot kialakítani, később vagy apatikusnak tűnnek, vagy a gyermek gátlástalanul igyekszik mindenkivel kötődést kialakítani [4]. A kóros viselkedési minták kialakulása mellett a szomatikus fejlődésük is elmarad, mindemellett a korai anya-gyermek kapcsolat megszakadása az immunfunkciók érésében, működésében is zavarokat okozhat [4].

Rágcsálóknál túlnyomó részt anyai utódgondozás fordul elő, mely számos tevékenységet magába foglal: fészek megépítése és a kölykök oda gyűjtése, szoptatás, a kölykök nyalogatása, tisztogatása, megvédése más egyedek fenyegetésével szemben (anyai agresszió).

Az éretlen utódokat világra hozó rágcsálóknál különösen fontos szerepet tölt be a fészek. Az anyaállat utódait igyekszik egy kupacba gyűjteni (pup retrieval, PR), és a fészek felett fekvé biztosítani a kölykök védelmezését és melegen tartását egyaránt, s ezzel az utódok táplálkozását is megkönnyíteni. A fészeképítés és a PR aktív anyai magatartásoknak tekinthetők, melyeket az anya kezdeményez [5]. Numan ez alapján *indukált és spontán anyai magatartások* között tesz különbséget, mert azok jellegükben és valószínűleg neuronális szabályozásukban is eltérnek egymástól [6].

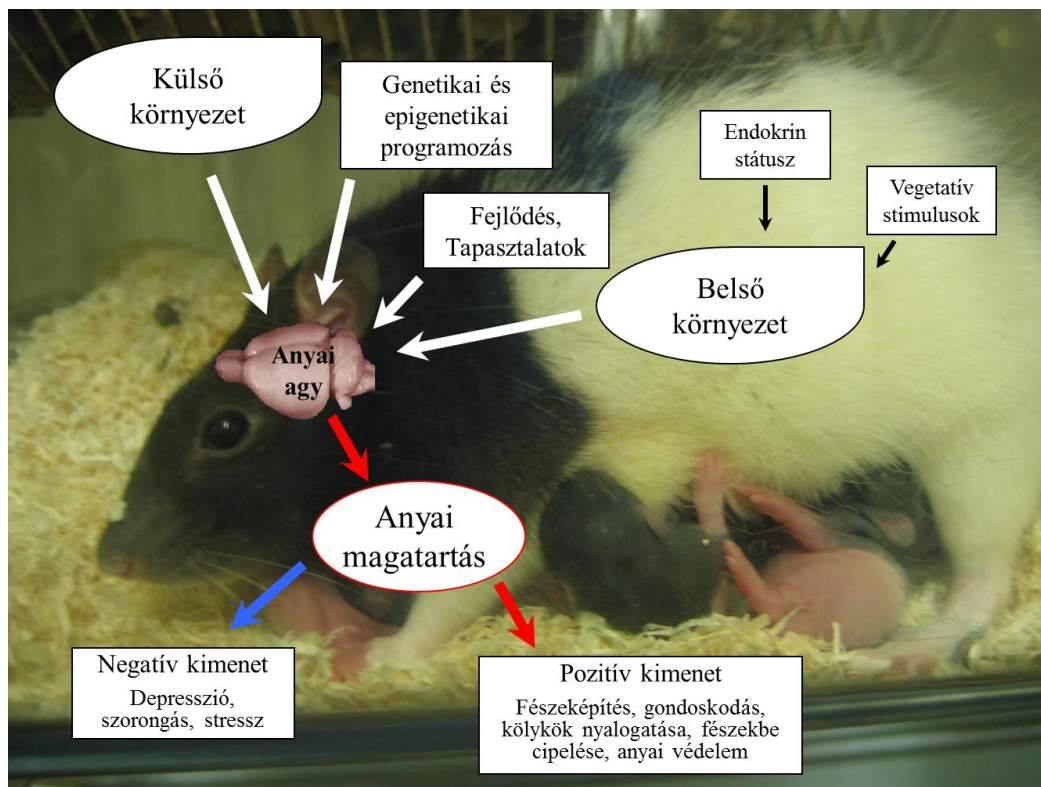
A szoptatást az anyák a kölykök felett (blanket posture, B), illetve mellett fekvé (passzív szoptatás) végzik, mellyel a mellbimbó megtalálását könnyítik meg az utódok számára [7]. Azonban az aktív szoptató pozíciót (arched back posture, AB), mely során az anyaállat kinyújtott lábbal, magas háti kyphosisos pozícióban helyezkedik el, a kispatkányok váltják ki, ahogy befúrják magukat anyjuk alá és annak hasát az orrukkal és a szopással ingerlik.

A kicsik nyalogatásának (licking-grooming, LG) a tisztító funkción kívül egyéb szerepe is van. Az anogenitális régió nyalogatása a kölykök reflexes vizeletürítését váltja ki, s az anyaállat elfogyasztva azt, pótolja a szoptatás alatt elvesztett folyadékot és sót [8, 9]. Emellett a kölykök testhőmérséklete és agyi hőmérséklete is csökken a nyalogatás hatására [10, 11]. Sőt az LG gyakoriságának függvényében epigenetikai változások is bekövetkeznek a kölykök genetikai állományában, melyeknek hosszú távú következményei vannak, s generációkon keresztül is kifejthetik hatásukat. A gyakoribb (high) LG hatására a kölykök hippocampusában a glükokortikoid receptor (GR) szintje megnő a promoterrégiójának csökkent metilációjának következtében. Ennek hatására az utódok stressz-reaktivitása lecsökken. Az, hogy az utód magas vagy alacsony LG

magatartást mutató lesz-e, az anya LG magatartása befolyásolja. Ha „high” LG anya kölykeit alacsony (low) LG anya neveli fel, „low” LG lesz, és fordítva. Vagyis ez a tulajdonság nem genetikailag kódolt [12-14]. Epigenetikai változások az anyai szeparáció hatására is bekövetkeznek: az utódok hypothalamus paraventricularis magjának (PVN) parvocellularis régiójában a vazopresszin (AVP) génjének expressziója tartósan megnő (a szabályozó régió metilációjának csökkenése miatt), így a stressz-tengely túlaktiválódik [15].

Az anyai védelmező magatartás elengedhetetlen a védtelen utódok túléléséhez, hiszen azok a természetben rengeteg potenciális veszélynek vannak kitéve. A legtöbb emlősnél ez aktív anyai agresszióban nyilvánul meg, amely azt jelenti, hogy az anyaállat a kölykeit potenciálisan fenyegető ellenfélre is rátámad. Ezzel viszont az anya a testi épességét veszélyezteti, mely a kölykök túlélése szempontjából szintén nagyon fontos.

### 1.2.2. Az anyai magatartás szabályozása



2. ábra Az anyai magatartás kialakulása

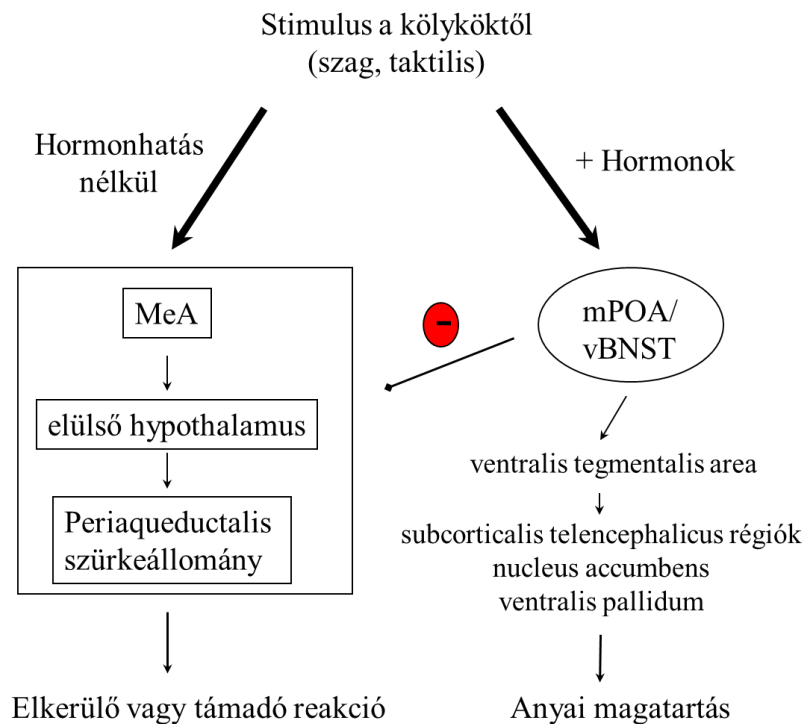
Általánosan a magatartást számos külső és belső tényező befolyásolja. Ezek közül az egyik legfontosabb az aktuális miliő, mely magába foglalja az adott szituációt és környezetet, valamint a szervezet pillanatnyi állapotát (például hormonháztartás,

anyagcsere) is. Emellett lényeges szerepet játszik az egyed előélete is: a szüleitől örökölt genetikai háttérre és az élete során epigenetikai módosulásokkal folyamatosan változó génaktivitása, valamint eddigi tapasztalatai, szocializációja is (2. ábra).

Ismerve, hogy anyai magatartásokat a szűz vagy még nem szült állatok nem mutatnak, felvetődött a kérdés, hogy mely tényező válthatja ki az utódokat világra hozó anyaállatban ezt a speciális viselkedésmintázatot. Terkel és Rosenblatt már 50 évvel ezelőtt próbálták erre a kérdésre a választ megtalálni [16, 17]: szűz nőtény patkányokba anyák vérére injektálva anyai magatartást tudtak kiváltani, így egyes vérben keringő anyagok (hormonok) szabályozó szerepe került a figyelem középpontjába. A vemhesség alatt a szervezet rengeteg változáson megy keresztül, a hormonháztartás is átalakul. Legfontosabb szabályozó szerepe az ösztrogénnek és a progeszteronnak van, majd az ellés és a szoptatás alatt az oxitocinnak és a prolaktinnak [18]. Patkányoknál anyai magatartás csak az ellés körüli időszakban jelenik meg (általában az azt követő órákban), amikor az ösztradiol-progeszteron arány megnő [19]. Az ösztradiol fontos szerepét mutatja Siegel és Rosenblatt munkája: ha a vemhesség vége fele a patkányok méhét operációval eltávolították, mintegy terminálva a vemhességet, az anyai magatartás változatlanul gyorsan kialakult. Ekkor a progeszteron szint lecsökkent, az ösztradiol pedig megnőtt ugyanúgy, ahogy a természetes úton lezajló ellés után. Ha viszont a petefészkeket is eltávolították (így az ösztradiol szint is lecsökkent), akkor hosszabb idő kellett az anyai magatartás megjelenéséhez, mely ösztradiol injekcióval rövidíthető volt [20]. A progeszteronszint csökkenésének is fontos szerepe van: a vemhesség alatti magas progeszteronszint gátolhatja meg az anyai magatartás idő előtti megjelenését [21, 22].

A megfelelő hormonális háttér mellett a postpartum időszakban a kölykök is fontos szerephez jutnak az anyai magatartás kiváltásában. Hormonális háttér nélkül, nem vemhes, petefészek- és hypophysis-írtott nőtény patkányoknál is kiváltható anyai magatartás, ha bizonyos ideig patkánykölykökkel kontaktusba kerülnek (szenzitizáció) [23]. Ha ezt hormonkezeléssel is kiegészítjük, akkor még gyorsabban jelenik meg az utódgondozó magatartás: 7 nap helyett 1-2 napon belül [24]. A kölykök általi taktilis ingereknek az anyai agresszió kialakulásában is fontos szerepe van. Az anyai agressziót számos tényező befolyásolja [25]. Például ha 4-5 órával az agresszió teszt előtt a kölyköket elválasztják az anyától, a támadások száma szignifikánsan csökken. Stern

[26] a patkányok emlőbimbóinak és környékének elérzéstelenítésekor szintén csökkenést írt le a támadások és a harapások számában. Ezzel szemben az emlőbimbók eltávolítása önmagában nem okozott ilyen változást. Erre az lehet a magyarázat, hogy az emlőbimbók eltávolításával a terület beidegzése megmaradt, így a kölykök ugyanúgy képesek voltak ingerelni az itt található idegeket, míg a terület teljes elérzéstelenítésével nem. Az anyai agresszió mértéke a laktáció idejével csökken, melyben a kölykökkel történő fizikai kontaktus mértékének és így az attól függő prolaktinszintnek is szerepe lehet [27, 28]. Giovenardi és munkatársai megfigyelték, hogy egy anyának fiatalabb kölyköket adva (akik többet szopnak), a prolaktin szintjének növekedésével párhuzamosan az agressziójának szintje is nő. Az anyai magatartás kialakulásában a fentiekén túl a szagingereknek is fontos szerepe van (lásd 3. ábra), melyek az anya agresszióját is befolyásolják (különösen a laktáció későbbi szakaszában [25]), hiszen a szaglószer eltávolítása után a támadások száma szignifikánsan csökken [29].



**3. ábra** Az anyai magatartás neuronális szabályozása [30]

Két fontos agyterületet lehet kiemelni az anyai magatartás szabályozásában: a hypothalamusban található medialis preoptikus area-t (*mPOA*) és a bed nucleus of the stria terminalis ventralis részét (*vBNST*) [6, 31]. Ha károsodás éri ezeket az agyterületeket (például lézióval vagy toxinnal előidézve), az anyai magatartás zavart

szenved. Kétoldali lézió következtében az aktív anyai magatartás (PR) gyakorlatilag megszűnik, míg a gondoskodó magatartások gyakorisága (például LG) csökken [6]. Az mPOA/vBNST dorsolateralis összeköttetései bizonyulnak az anyai magatartás szabályozásában a legfontosabbaknak [6]. Ezt bizonyítja Terkel munkája is, mely során az mPOA dorsolateralis összeköttetéseinek kétoldali átvágása az aktív anyai magatartások (fészeképítés és PR) megszűnéséhez vezetett, míg az utódgondozást nem befolyásolta [5]. A spontán és indukált anyai magatartás eltérő neuronális szabályozásának másik példája Hansen munkája, melyben laktáló patkányok ventralis tegmentalis areájába (VTA) neurotoxint, illetve dopamin antagonistát juttatva szintén azt tapasztalta, hogy a PR tesztben az anyák rosszabbul teljesítettek, míg az utódok szoptatása nem változott meg [32].

Az mPOA ösztadiol, progeszteron, prolaktin és placentális laktogén receptorokat tartalmaz, melyek expressziója megemelkedik a vemhesség és az ellés során, ezzel biztosítva az anyai magatartás megfelelő időben történő kialakulását [30]. Például erre a területre ösztadiolt injektálva felgyorsítható, illetve szűz, szentitizálódó nőtényeknél kiváltható az anyai magatartás megjelenése, míg ugyanerre a területre koleszterolt, vagy más területekre ösztadiolt adva, hasonló hatás nem váltható ki [33, 34]. Az mPOA ösztrogén receptorainak száma a vemhesség előrehaladtával változik: rágszálókban a 10-13. napok között intenzíven elkezdi emelkedni és a 16. nap körül éri el a maximális szintjét, mely az ellést követően (rágszálókban a 20-21. nap) is fennmarad. Ezek az időpontok megegyeznek az anyai szentitizációra való hajlam változásával: a nőtények csak a vemhesség második felében kezdenek érzékenyebbé válni és reagálnak gyorsabban a kölykök megjelenésére. Vagyis az anyai magatartás kiváltásában a vemhesség előrehaladtával az ösztrogénre egyre érzékenyebbé váló mPOA kulcsszerepet játszik [35, 36]. Ezt a neuron-aktivitás mértékének vizsgálatai is megerősítik: anyai magatartást mutató nőtény patkányok mPOA/vBNST neuronjaiban magas c-Fos aktivitás (a neuronális aktivitás markere) látható. Ez az aktivitásnövekedés abban az esetben is kialakul, ha az anya nem érintkezett még kölykökkel, vagyis a kialakult hormonális háttér tehető érte felelőssé [6]. Ha a vemhesség 15. napján eltávolították a patkányanyák méhét és petefészkeit, majd subcután ösztadiol injekciókkal kezelték őket, 48 órával később ugyanúgy magas neuronális aktivitást észleltek az mPOA-ban, míg a vivőanyaggal kezelt csoportnál nem [20]. Humán funkcionális mágneses rezonancia

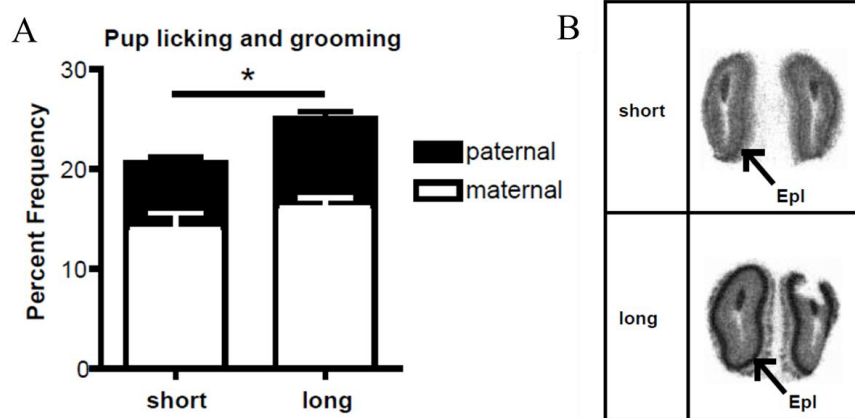
(fMRI) vizsgálatok is alátámasztják ezeket a kutatásokat, hiszen csecsemősírás hatására, illetve ha az anyáknak saját gyermekükről készült videofelvételeket mutattak, ugyanezeknek az agyterületeknek az aktivitása emelkedett meg [37, 38].

A még nem ellett (és nem érzékenyített) nőtény patkányoknál a tipikus reakció a kölykök megjelenésére az elkerülő-támadó magatartás (3. ábra). Ennek neuronális irányítását a szaglőrendszeren keresztül beindított medialis amygdala (MeA) - elülső hypothalamus - periaqueductalis szürkeállomány (PAG) kör végzi [30]. Ezt bizonyítja, hogy szűz patkányok szaglőszervének eltávolítása után a kölykökkel való szenzitizáció gyorsabban következik be, bár joggal gondolhatnánk, hogy egy fontos stimulus kizárásával inkább növekednie kellene az idejének. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a kölykök szagingere a szűz nőtényeknél (az anyai hormonális háttér hiányában) ezt a neuronális kört aktiválja, melynek eredményeképp elkerülő vagy támadó magatartás jelenik meg. Ha ez a negatív reakció nem jár végzetes következménnyel és továbbfolytatódik a szenzitizáció, pár nap (5-7 nap) elteltével a nőtényeknél gondoskodó magatartások kezdenek megjelenni [19]. Erről az elkerülő magatartásról számol be Fleming munkája is, melyben szűz nőtény patkányokat vizsgáltak: ha az állatok megszokott alvóhelyére patkánykölyköket helyeztek, a nőtények a dobozuk másik szegletébe vonultak át 3-4 napig. Ezután, ha 1-2 napig eltűrték őket a közelükben, a kispatkányok stimulusinak hatására elkezdtek anyai magatartásokat mutatni, vagyis szenzitizálódtak [39]. A hormonok hatására aktiválódó mPOA/vBNST ezt az elkerülést vagy támadást beindító neuronális kört gátolja [40], így indirekt módon is biztosítja az anyai magatartás kialakulását. Rosenblatt motivációs modellje szerint az anyai magatartás kialakulásának alapfeltétele, hogy a nőtény hajlandó legyen a kölykök felé közeledni az elkerülő magatartás helyett. Ezt biztosítja a vemhességgel járó hormonális háttér, illetve a szenzitizáció folyamata szűz nőtények esetében [19].

### **1.2.3. A vazopresszin szerepe az anyai magatartásban**

A vazopresszin (arginin-vazopresszin, AVP) kulcsszerepet tölt be a szociális viselkedés szabályozásában [41, 42], befolyásolja a szociális kötődés kialakulását, az agressziót, az utódgondozásban való részvételt és azt, hogy milyen párkapcsolati modell jellemző az egyedre.

Különböző pocokfajok esetében például az eltérő utódgondozó viselkedésformák kialakulásáért az AVP-t tették felelőssé [43]. Míg a prérípockok (*Microtus ochrogaster*) életüket egy pár mellett élik le, vagyis a monogám kapcsolat jellemző rájuk, emellett a hím egyedek is részt vesznek az utódok felnevelésében, addig a hegyipocokra (*Microtus montanus*) a poligámia jellemző, s a nőtények magára hagyása. A két faj közötti genetikai különbségek sorában szerepel az AVP  $V_{1a}$  receptor ( $V_{1a}R$ ) gén expressziójának eltérése, ami a szabályozó szerepet betöltő mikroszatellita régiók eltérő hossza miatt alakulhat ki (a szociális fajokban hosszabb, míg az antiszociális fajokban rövidebb). A prérípockok különböző földrajzi populációi között is megfigyelhetőek különbségek a  $V_{1a}R$  szabályozó szekvenciájának hosszában, s ha ezeket a populációkat hasonlítjuk össze, az egyéb genetikai eltérések szerepe csökkenthető. Hammock és munkatársai arra a következtetésre jutottak [43], hogy a hosszabb ismétlődéssel rendelkező hímek sokkal szociálisabbak és szignifikánsan több időt töltenek mind párjukkal, mind az utódok nyalogatásával (LG), mint rövid ismétlődéssel rendelkező rokonaik (4. ábra A rész). A  $V_{1a}R$  expressziója a rágcsálók viselkedése, és mint láttuk, az anyai magatartás szempontjából is különösen fontos szaglógumóban különbözik a legjobban: a hosszabb szekvencia intenzívebb expresszióval jár (4. ábra B rész).



**4. ábra A** prérípockok apai (paternal) és anyai (maternal) utódgondozó magatartásának (Pup licking and grooming; LG) gyakorisága (Percent Frequency) (A) és a  $V_{1a}R$  expressziója a szaglógumóban (B) (Epl: external plexiform layer [43]) A hosszabb (long)  $V_{1a}R$  szabályozó szekvenciája gyakoribb LG-ot és intenzívebb  $V_{1a}R$  expressziót okoz a szaglógumóban.

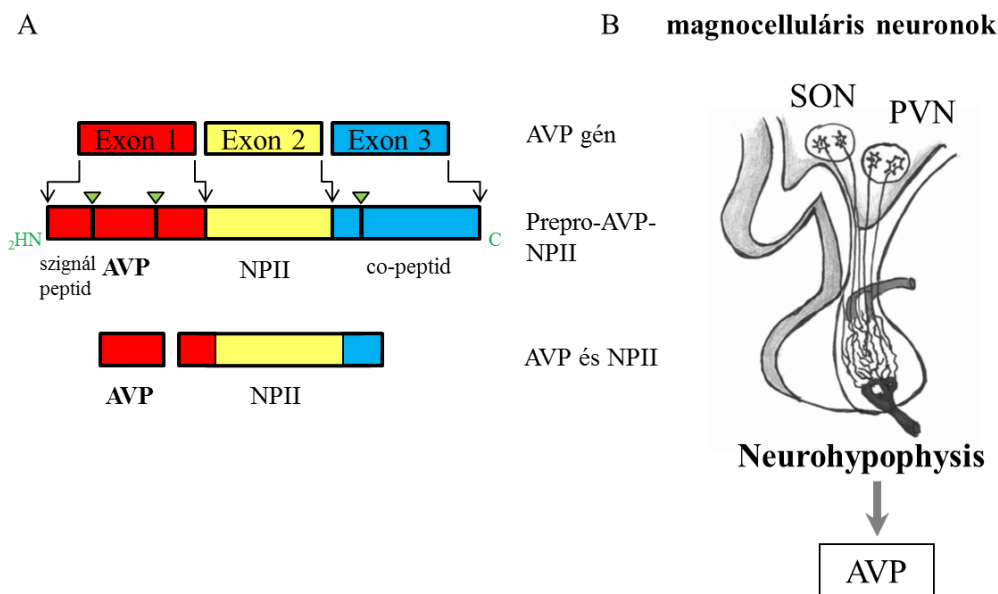
Ezen eredmények nyomán fordult figyelmünk az AVP felé és PhD munkám során elsősorban ennek a molekulának az anyai magatartásban betöltött szerepét próbáltam feltárni.



### 1.3. Vazopresszin

#### 1.3.1. A vazopresszin szerkezete és szintézise

A neurohypophysealis AVP hormont Oliver és Schäfer fedezte fel 1895-ben közölt tanulmányában, melyben kimutatták, hogy a hypophysis kivonata megváltoztatja a vérnyomást [44]. Antidiuretikus hatására csak később, 1913-ban derült fény [45]. Du Vigneaud-ot 1955-ben jutalmazták kémiai Nobel-díjjal az AVP izolálásáért és szintéziséért. Az AVP egy 9 aminosavból (AS) álló neuropeptid, mely legnagyobb mennyiségben a hypothalamus magnocellularis sejtjeiben, a supraopticus (SON) és paraventricularis (PVN) magokban termelődik [46]. Kisebb mennyiségben ezen magok parvocellularis neuronjaiban, valamint a nucleus suprachiasmaticus-ban (SCN), a BNST-ben és a MeA-ban is szintetizálódik [47]. Szintézise a neuron perikarionjában történik prepro-arginin-vazopresszin-neurophysin II (prepro-AVP-NPII) prohormon formában (168 AS) [48]. Ez tartalmazza az AVP-t, a neurophysin II-t és egy úgynevezett co-peptid molekulát (5. ábra A rész). Ebből prohormon (145 AS) vágódik ki és neuroszekréciós granulumokban tárolódva axonális transzporttal vándorol az idegsejt végződésébe a hypophysis hátsó lebenyébe (neurohypophysis) (5. ábra B rész) [49]. Az AVP innen szabadul fel különböző ingerekre és jut a vérkeringésbe.



5. ábra AVP gén expressziója (A), termelése, tárolása és axonális transzportja (B)

### 1.3.2. A vazopresszin szekréciója és szabályozása

Az AVP szekréciójának fő szabályozója a plazma ozmolalitása. Ezt a hypothalamus ozmoreceptorai érzékelik. Az ozmolalitás minimális (2-3%-os) emelkedése már megfelelő mennyiségű AVP-ürítést okoz. Emellett az AVP-szekréció a bal pitvarban, a pulmonalis vénákban, a sinus caroticusban és az aortaívben található, nyomásra érzékeny baroreceptorokon keresztül is stimulálódik. Ezen receptorok ingere a hypovolaemia és a hypotensio. Az ingerület a n. vagus (X.) és a n. glossopharyngeus (IX.) közvetítésével az agytörzsön, a tractus solitariuson és a ventrolateralis medullán keresztül jut el a SON és PVN régiókba. Az AVP-szekrécióját sok endogén anyag (például acetilkolin, dopamin, hisztamin, angiotensin II, neuropeptidok, P-anyag) és gyógyszer (például triciklusos antidepresszánsok, lítium) is serkenti, ugyanakkor a hipoglikémia, fájdalom, stressz, hypoxia, hányinger, hányás, fizikai megterhelés is ilyen hatással bírnak [49, 50].

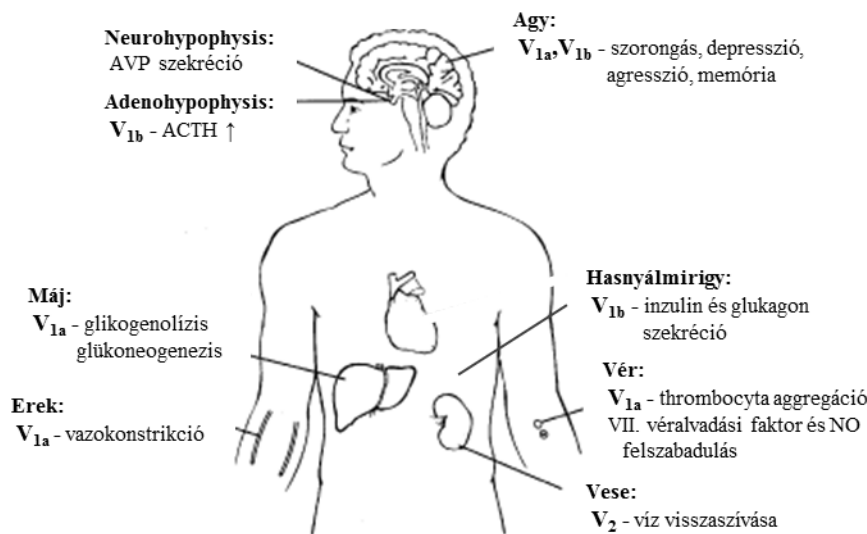
### 1.3.3. A vazopresszin receptorai

Az AVP a szervezet számos sejtjén elhelyezkedő receptorain képes a hatását kifejteni (6. ábra). Mai tudásunk szerint két csoportra tudjuk a receptorait osztani:  $V_1$  és  $V_2$  receptorok. A  $V_1$  receptor tovább osztható két altípusra:  $V_{1a}$  és  $V_{1b}$ .

A  $V_{1a}$ -típusú receptort simaizomsejtekben, májsejtekben, zsírsejtekben, trombocytákban, a vese medulláris interstitialis sejtjeiben, vesekéreg-gyűjtőcsatorna epithelialis sejtjeiben és a hólyagban mutatták ki.  $V_{1b}$  receptor legnagyobb mennyiségben az adenohypophysisben található, de egyéb, perifériás szövetekben is kimutatható: a mellékvese velőállományában, a hasnyálmirigy sejtjein és a vastagbélben is [51]. A  $V_2$  típusú receptorok elsősorban a vese-gyűjtőcsatornák basolateralis membránjában helyezkednek el [49].

Egyre több kutatás szolgál bizonyítékkal arra, hogy a  $V_{1a}$  és  $V_2$  típusú receptorok is megtalálhatóak a központi idegrendszerben, valamint hogy  $V_{1b}$  receptorok az adenohypophysisen kívül is előfordulnak. Például  $V_{1a}$  receptorok találhatóak a bulbus olfactorius (szaglógumó) szemcsesejt-rétegében, a hippocampus gyrus dentatusában, a cerebellumban, néhány fehérállományi struktúrában, egyes agyi magvakban, mint például a lateralis septum, a PVN és a SCN [52].  $V_{1b}$  receptorokat találhatunk a gerincvelőben, főleg a dorsolateralis motoneuronokban, illetve az ötös-hatos lumbalis

csigolya magasságban az összes motoneuronban [53]. Ez a receptor számos agyi régióban is elhelyezkedik, megtalálható például a bulbus olfactorius, cortex piriformis, PVN, SCN, SON, hippocampus, amygdala, lateral septum területein [54-56]. Kato és munkatársai a  $V_2R$  mRNS-ét is detektálták patkányagyban 14 napos életkorig a hippocampusban, a kisagy granduláris rétegében pedig életkortól függetlenül [57], illetve ugyanezen agyterületen egy másik munkacsoport kor-függő eloszlásáról számolt be [58].



6. ábra AVP receptorok előfordulása és hatásai  
www.clinsci.org/cs/105/0001/cs1050001f01.gif alapján

### 1.3.4. A vazopresszin hatásai

#### 1.3.4.1. Perifériás hatások

Az AVP antidiuretikus hatása az egyik legrégebben ismert tulajdonsága. Ezt a vese gyűjtőcsatornáiban, aquaporin csatornák kihelyezésével és az azon keresztüli víz-visszaszívás fokozásával éri el. Emellett igen erős érösszehúzó (vazokonstriktív) hatást vált ki a harántcsíktolt izmokban, bőrben, a hasnyálmirigyben, a pajzsmirigyben, és ugyancsak jelentősen csökkenti a véráramlást a szív coronariákban és a pulmonalis artériában. Ez az érszűkítő hatás elősegíti a vérnyomás fenntartását hypovolaemia esetén. Coronariabetegségben szenvedőknél kis dózisú AVP adásakor is súlyos angina léphet fel. Stimuláló hatása van a bélcsatorna és a méh simaizomsejtjeire is.

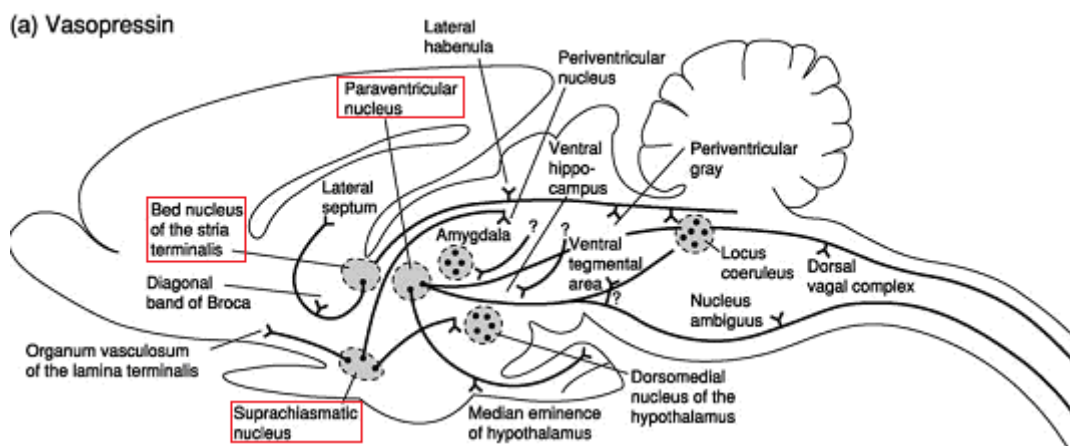
A májban elhelyezkedő  $V_{1a}$  receptorokon keresztül fokozza a glikogenolízist és glükoneogenezist, mely a vércukorszint emelkedéséhez vezet. A hasnyálmirigyben

elhelyezkedő  $V_{1b}$  receptorokon keresztül az AVP az inzulin és glukagon szekréciót is képes fokozni, így a cukor-háztartásra közvetten is hat [59, 60].

További hatása, hogy a thrombocyták aggregációját növeli, serkenti a VII. faktor és a NO felszabadulást a vascularis endotheliumból. Az első két hatás a vérzés megállításának irányában hat, a NO-felszabadulás viszont vasodilatatiót válthat ki, amely magyarázza azt, hogy az AVP presszorhatása intakt állaton kisebb mértékű és sokkal nagyobb koncentrációban következik be, mint az antidiuretikus hatás [49].

#### 1.3.4.2. Centralis hatások - centralis vazopresszinerger rendszer

Az AVP a központi idegrendszerben is fontos szabályozó molekula. Általánosan neuromodulátor szerepet tölt be.



7. ábra Főbb vazopresszinerger pályák patkány agyban

Feldman et al., 1997 (Fig.11.11, p. 466)

A PVN a hypothalamus elülső részében, a 3. agykamrával szomszédosan, kétoldalt található. Nyolc jól körülhatárolt régióra lehet osztani, melyből három magnocellularis (anterior, medialis, posterior rész), öt pedig parvocellularis (ventralis, lateralis, medialis, dorsalis, periventricularis rész) sejtcsoportokat tartalmaz [61]. A magnocellularis neuronok a hátsó hypophysisbe vetítenek (a SON neuronjaival együtt), a parvocellularis neuronok pedig hypothalamicus és extrahypothalamicus agyi régiókba (például agytörzsi és gerincvelői autonóm idegrendszeri központokba főleg a dorsalis parvocellularis részből- 7. ábra). Így a PVN integráló szerepet tölt be a neuroendokrin és az autonóm funkciók között [62].

A medialis parvocellularis részből indul ki az az idegrost köteg, melyből származó AVP a portális erekken keresztül az adenohypophysishez kerül, s ott az adrenokortikotrop hormon (ACTH, a stressz-tengely hypophysealis komponense; lásd 1.6. fejezet)

termelését serkenti  $V_{1b}$  receptorokon keresztül, hasonlóan a CRH-hoz (corticotropin-releasing hormone, kortikotropin elválasztást serkentő hormon) [63]. Azaz az AVP a stressz-tengely fontos szabályozójának tekinthető, mely szabályozás elsődlegesen az ACTH-ra irányul és a perinatális korban kifejezett [64].

A SCN neuronjai felelősek a cirkadián ritmus kialakításáért, számos funkció napszaki ingadozását befolyásolják. Efferens rostjai végződnek többek között a mPOA-ban, a PVN periventricularis területén, a thalamus periventricularis és a hypothalamus dorsomedialis nucleusában (lásd 7. ábra) [65, 66]. Az első hormon, amit az SCN-ben nagy mennyiségben azonosítottak az AVP volt [67]. Az AVP segít fenntartani más hormonok szekréciónak cirkadián ritmusát is. Az SCN működése, ezen belül is az AVP, összefüggésbe hozható az időszakonként jelentkező depresszió kialakulásával is [68].

A BNST középső és medialis részének, valamint a MeA anterior és posteriodorsalis részének AVP expressziója szexuál-szteroid függő, gonadectomia után teljesen megszűnik [69]. Emellett szexuális dimorfizmus is megfigyelhető, ugyanis hím egyedekben több AVP immun-reaktív sejt mutatható ki ezeken a területeken, mint nőstényekben [70]. A BNST területéről a Broca-féle diagonális kötegbe, a lateralis septumba, a lateralis habenulába, a periventricularis szürkeállományba és a locus coeruleusba vetítenek a neuronok [71]. A MeA vazopresszinerg efferensei a lateralis septumban és a ventralis hippocampusban érnek véget [72]. Ezek a területek az érzelmek kialakulása szempontjából fontos limbikus rendszer részeit képezik.

Bielsky és munkacsoportja összefüggést találtak az AVP és a szorongás-szerű tünetek megjelenése között genetikailag módosított egereken. Olyan hím egereknél, amelyek nem rendelkeznek működő  $V_{1a}$  receptorral (knockout, KO), egyértelműen csökkent szorongás-szerű viselkedést találtak [73]. Viszont a  $V_{1b}R$  KO egerek bazális szorongás szintje nem mutatott különbséget a kontroll állatokéhoz képest [74].

Gold és munkatársai már 1978-ban felvetették az AVP szerepét hangulatzavarokban [75], melyet azóta számos vizsgálat megerősített. Major depresszióban szenvedő betegek agyában magasabb AVP szintet mutattak ki [76]. Melankóliás tünetekkel járó major depresszióban szenvedő betegeknél szignifikánsan magasabb AVP mRNS-t detektáltak mind a SON-ban, mind a PVN-ben [77]. Patkányokban a  $V_{1b}R$  antagonistá SSR149415 jelzésű vegyület antidepresszáns hatású [56, 78].

Mind állatkísérletben, mind humán vizsgálatokban kimutatták, hogy az AVP kiváltja és fokozza az agresszív viselkedést.  $V_{1a}R$  vagy  $V_{1b}R$  antagonistá adásával dózisfüggő módon redukálni tudták szíriai aranyhörcsögnél a fokozott agressziót [79, 80]. Ezzel összhangban  $V_{1b}R$  KO egereknél szignifikánsan alacsonyabb agressziót mutató viselkedést találtak [74]. Embereknél pozitív korreláció mutatkozott a cerebrospinalis folyadék AVP koncentrációja és a személy agresszivitásra való hajlama között [81].

Az 1960-as években de Wied-nek sikerült kimutatnia, hogy az AVP moduláló hatással van a tanulásra és a memóriára is. Eredményei szerint azok a patkányok, akiknek eltávolította a neurohypophysisét, gyengébben teljesítettek egy memória tesztben, mint a kontroll állatok [82], intracerebroventricularis (icv.) AVP beadás után pedig jobban [83]. A lateralis septumba mikroinjektált AVP a normál és az AVP-hiányos patkányokban egyaránt javította a szociális memóriát, míg  $V_{1a}R$  antagonistá csökkentette azt [84]. Egészséges embereken végzett kísérletek is megerősítik az AVP memóriát fokozó hatását [85].

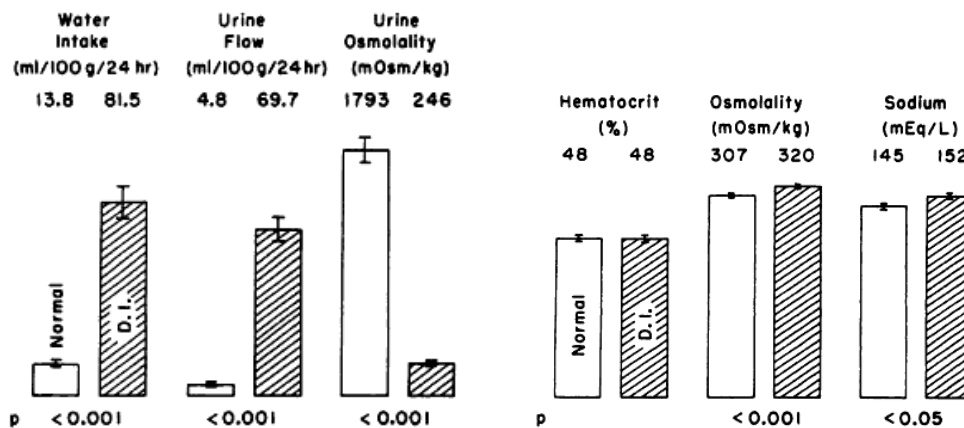
A pockok példáján már láthattuk, hogy az AVP-nek a szülői viselkedés szabályozásában is szerepe van. Wang és munkatársai szerint a monogám prérípockok nőstény és hím egyedeiben egyaránt megnövekszik az AVP mRNS hypothalamicus szintje a postpartum időszakban. Ezzel ellentétben a poligám hegyipockoknál egyik nemből sem változik az AVP szintje [86]. Rétipockokban (*Microtus pennsylvanicus*) a megemelt AVP szinttel szülői viselkedést tudtak indukálni, valamint AVP antagonistával csökkenteni tudták azt [87]. Patkányokban a vemhesség végén, az ellés és a laktáció alatt az AVP szint megemelkedik a SON-ban, a PVN-ben, a septumban és a hippocampusban [88-90]. Hasonló változásokat írtak le nyulakban is [91].

#### **1.3.4. A vazopresszin eliminációja**

A keringésben lévő AVP peptideket a máj- és vesepeptidázok bontják. Az AVP félélettideje 17-35 perc [49]. Terhesség során a placenta trophoblast sejtjei egy vazopresszináz nevezetű aminopeptidázt termelnek, amely hasítja az AVP-t. Normál esetben a harmadik trimeszterben megnövekedett vazopresszináz-aktivitással az AVP-szintézis lépést tud tartani, nem borul fel az egyensúly. Előfordulhat ugyanakkor olyan eset, amikor a szintézis nem elegendő és egy átmeneti terhességi diabetes insipidus (DI) alakul ki [92].

### 1.4. Vazopresszin hiányos patkányok

Dr. Henry Schroeder Brattleboro városában Long-Evans patkányokat tenyésztett különböző kísérletekhez. 1961-ben különös dolgot vettek észre a laborban dolgozók: az egyik almot gyakrabban kellett tisztítani és gyakrabban kellett az állatok itatóját feltölteni. Schroeder és segítője, Vinton megállapították, hogy 6 kölyök az alomból a többiekhez képest extrém sokat iszik (polydipsia) és vizek (polyuria) (8. ábra), vagyis a diabetes insipidus (DI) tüneteit mutatják. Tovább vizsgálva őket kimutatták, hogy ezekre az állatokra jellemző a vizelet alacsonyabb, a szérumban magasabb ozmolalitása, valamint a szérumban emelkedett nátrium szintje (8. ábra). A perifériás DI kizárására Valtin AVP injekciót adva megszüntette ezeknek az állatoknak a DI tüneteit. Ellenben AVP felszabadulást kiváltó ingerek (vízmegevonás, nikotin vagy hipertóniás sóoldat adás vagy akár fertőzés) hatására nem változtak meg a tüneteik, vagyis az AVP szekrécióját nem tudták fokozni [93].



8. ábra Normál és DI-os patkány napi vízbevitel (water intake), vizelése (urine flow), vizeletének ozmolalitása (urine osmolality), hematokrit értéke, szérumban ozmolalitása és nátrium koncentrációja (sodium) [93]

Később, genetikai vizsgálatokkal sikerült fényt deríteni a tünetek okára: a normál és a DI-ban szenvedő patkányok AVP-t kódoló génje között egy bázispár eltérést találtak. Ez a különbség egy guanin-bázis deléció, mely a neurophysin II-t kódoló régióban helyezkedik el (lásd 5. ábra A rész). Ennek a deléciónak a következménye az, hogy a Brattleboro patkányokban nem található működőképes AVP. Ha az AVP mRNS szinteket összehasonlítjuk vad típusú és DI-os patkányokban, nem találunk eltérést, mely mutatja, hogy a mutáción átesett gén még helyesen íródik át és vágódik ki. Vagyis ez a deléció a transzlációban vagy a poszt-transzlációs módosításokban okoz zavart,

mely következtében a hibás termék felhalmozódik az endoplazmatikus retikulumban [94]. Ez a genetikai defektus autoszomalis recesszív öröklődésű, vagyis csak a homozigóta recesszív genotípusú állat lesz DI-os (AVP-, di/di).

A spontán módon AVP-hiányossá vált patkányokat az elmúlt 50 évben kiterjedten alkalmazták az AVP élettani folyamatokban betöltött szerepének tanulmányozására. Jó alanyoknak tűnnek az AVP laktáló nőstények magatartására gyakorolt hatásának vizsgálatához is. Kontrollként az AVP-hiányos állatokból visszatenyésztett homozigóta, normális geno- és fenotípusú (+/+, AVP+), működő AVP-vel rendelkező patkányokat szokták használni. Az AVP- állatok az eredeti Long-Evans törzstől már nagymértékben különbözhetnek, mely törzssel való összehasonlítás így nemcsak az AVP-hiányt, mint különbséget tükrözné. Egyes vizsgálatokban kontrollként heterozigóta állatokat (di/+ genotípus) alkalmaznak (amelyek rendelkeznek működőképes AVP-vel, azonban annak szintje alacsonyabb), mint például az utódvizsgálatok esetében, hiszen ilyen jellegű vizsgálatokban csak így biztosítható, hogy egy anya által felnevelt eltérő genotípusú kölyköket hasonlítsunk össze. Csoportunk Brattleboro patkányokon végzett korábbi vizsgálatai szerint az eltérő genotípusú anyák utódjainak eltérő a stressz-reaktivitása: az AVP-hiányos anyák mindkét genotípusú kicsinyeinél a nyugalmi ACTH szint mintegy 20%-kal alacsonyabb, mint a di/+ anyák utódainál [95, 96]. Stressz hatására (24 órás anyai elválasztás) viszont az ACTH szint emelkedése kifejezettebb. Felnőttkorban az AVP-hiányos anyák utódai alacsonyabb ACTH-szint emelkedéssel válaszolnak a stresszre, mint a di/+ anyák kölykei. Ez a reaktivitás csökkenés az AVP-hiányos anyák AVP-hiányos utódainál még kifejezettebb. Ezeknek az eltéréseknek a hátterében genotípus függő, eltérő anyai magatartás is állhat, melyet PhD munkám során vizsgáltam.

## ***1.5. Pszichés zavarok az anyákban***

---

### **1.5.1. Depresszió**

A pszichiátriai megbetegedések közül nőknél a szorongás és a depresszió fordul elő leggyakrabban. Az unipoláris depresszió előfordulásának csúcsa 25 és 44 év között van, mely időszak egybeesik a nők reprodukív időszakával [97]. A szülést követően (postpartum időszak) az anyáknál lehangoltság, érzelmi kiürülés gyakran előfordulhat ("postpartum blues"). Ez érzelmi labilitással, sírásban való kitörésekkel, szorongással,



állandó fáradtságérzéssel, alvászavarokkal, dühvel, irritabilitással járhat. Ha ez nem csak átmenetileg, pár napig jelentkezik, akár pszichotikus tünetekkel tarkított depresszió is kibontakozhat (postpartum depresszió, PPD) [1]. A PPD prevalenciája egy átfogó meta-analízis szerint 21,9 % körüli a szülést követő első évben [98, 99]. Akiknek a kórelőzményében előfordultak már ezek a betegségek, a terhesség során nagy valószínűséggel kiújulnak vagy rosszabbodnak [100]. Bipoláris depresszió esetében, ha a lítium terápiát felfüggesztik a betegek, a postpartum időszakban 2,9-szer gyakrabban esnek vissza, mint a nem terhes nők [101]. A PPD-ban szenvedő anyák ingerlékenyebbek és ellenségesebbek, kevesebb szeretettel és melegséggel fordulnak gyermekeikhez, később kevesebbet olvasnak nekik és játszanak velük [102]. Megeshet, hogy az anya gyermeke elleni gondolatokat is táplál, ellöki magától gyermekét, amely nyilvánvalóan a szoros anya-gyermek kapcsolat kialakulásának útjában áll. Kényszerimpulzusok is előfordulhatnak (például az anya attól fél, hogy újszülöttjében kárt tesz) [1]. Összességében a depressziós anyák kevesebbet foglalkoznak csecsemőjükkel, kultúrától és szocioökonómiai státusztól függetlenül: kevesebbszer néznek rájuk vagy szólnak hozzájuk, kevesebbet mosolyognak rájuk és a fizikai kontaktus is kevesebb közöttük [103]. Agyi képalkotó eljárással (fMRI) összehasonlítva depressziós és nem depressziós anyák agyi aktiválódását a saját csecsemőjük sírására azt tapasztalták, hogy a PPD-ben szenvedő anyák különböző agyterületei kevésbé aktiválódtak, mint a depressziót nem mutatóké [104], vagyis kevésbé érzékenyek gyermekük jelzéseire, csökkent anyai motivációval rendelkeznek. Ha az anya a szülés után depresszióba esik, az a gyermek fejlődésére és életére is kihat, hosszú távú negatív következményeket okozva.

### **1.5.2. Szorongás**

A szorongás, mint tünet, a legtöbb pszichiátriai betegségnél előfordul, depresszióban, főleg PPD-ban különösen gyakori. Terhesség alatt a szorongás prevalenciája 25% körülire tehető, szülést követően pedig 11,1% [105]. A szorongás egy általános, össz-szervezeti reakció, mely veszélyesnek minősített helyzetben lép fel. Kórosnak akkor minősül, ha a menekülési reakció túlméretezett, indokolatlan, látszólag jelentéktelen események hatására is bekövetkezik, illetve ha a mindennapi életvitelt negatívan befolyásolja [1].

### 1.5.3. Agresszió

Az agresszív viselkedés és a szorongás között szoros kapcsolat van. A döntési mechanizmustól függ (lásd: 1. ábra), hogy az egyén a környezet negatív ingerére (valós vagy vélt veszély) meneküléssel vagy támadással reagál. Mint láttuk, a PPD tünetei között szerepelhet a düh és irritabilitás, ugyanakkor mivel a pszichiátriai betegségek nagy részében gyengült vagy hiányos az ellenséges érzések kontrollja, az agresszív megnyilvánulások is gyakoribbak lehetnek. Amíg ez ritkán fordul elő és indokolt, az anyák esetében például az utódok védelmezését szolgálja, addig normálisnak tekinthető. Kórosnak akkor minősítjük és beszélünk agresszivitásról, amikor az egyén túl gyakran, indokolatlanul reagál agresszíven [1]. Vagyis az adott helyzetnek megfelelő mértékű és minőségű agresszív viselkedés normális, míg az adott helyzetnek nem megfelelő, a társadalmi szabályokat megszegő agresszióforma már abnormális, kóros [106].

### 1.5.4. Impulzivitás

Taylor bipoláris depresszióban szenvedő betegeknél összefüggést mutatott ki szorongási szintjük és impulzivitásuk között [107]. Depressziós betegek körében gyakori az öngyilkossági kísérlet, melynek előfordulási rizikója a beteg impulzivitási szintjének ismeretében megjósolható [108]. Az impulzivitás egy összetett személyiségvonás, melyre nehéz konkrét definíciót adni. Számos pszichiátriai zavarnál megjelenik: impulzus-kontroll zavarok, figyelemhiányos hiperaktivitás zavar, mentális retardáció, személyiségzavarok (borderline, antiszociális), bipoláris depresszió és az agresszív viselkedést is befolyásolja [109]. Dickman elkülönít diszfunkcionális és funkcionális impulzivitást [110]: a diszfunkcionális impulzivitás során az egyén a pillanat hevében, meggondolás nélkül cselekszik, nem fontolja meg cselekvésének következményeit. Azonban egy váratlan helyzetben (amely egy csecsemő mellett sokszor előfordul), ha a személy rögtön lép, ez könnyen előnyvé is válhat, ilyenkor beszélhetünk funkcionális impulzivitásról. Az impulzivitást a kockázatvállalástól Eysenck szerint a rizikóviselkedés tudatosságának hiánya különíti el. A kockázatvállaló tudatában van a negatív következmények lehetőségének, míg az impulzív egyén fel sem fogja cselekedetének kockázatát [111]. Az impulzív viselkedés hátterében állhat az alacsony éberségi szint (kortikális arousal), alacsony figyelem, a végrehajtásban szerepet játszó gátló funkciók csökkent működése [112]. Whiteside és munkatársai

faktoranalízissel összevetették a humán impulzivitást mérő kérdőívek eredményeit [113], melyek alapján a következő személyiségvonásokat hozták összefüggésbe az impulzivitással: meggondolatlanság (lack of premeditation), türelmetlenség (urgency), kitartás hiánya (lack of perseverance), élménykeresés (sensation seeking). Patton (Barratt munkája alapján) két szubtípusát különítette el az impulzivitásnak: *motoros* (gondolkodás nélkül cselekszik, a motoros válasz gátlásának hiánya) és *nem tervező vagy döntési* (nem gondol bele a következményekbe, egy motivációs komponens hajtotta cselekvés gátlásának hiánya); nem különböztetett meg kognitív altípust, mert a kognitív komponens általánosnak találta az impulzivitás hátterében [114]. Bipoláris depresszió mániás epizódjában a motoros impulzivitás jellemző, míg major depresszióban inkább a döntési típus, de mint személyiségvonás, a tünetmentes fázisban is jellemző lehet a betegekre [115]. Állatkísérletek során az impulzív magatartás vizsgálatára az úgy nevezett „késleltetett jutalom paradigmát” alkalmazhatjuk. Ennek lényege, hogy felmérjük, hogy az állat az azonnali kisebb jutalmat jobban preferálja-e egy késleltetett nagyobb jutalommal szemben. Vagyis képes-e várni egy nagyobb jutalom reményében. Ha nem és gyakrabban választja a kisebb jutalmat, melyet rögtön megkap, akkor tekintjük az egyedet impulzívnek. A nagy jutalom értéke (érdemes-e rá várni) fiziológias szintű impulzivitás mellett attól függ, hogy mennyivel több a kisebb jutalomnál és mennyi a késleltetés ideje (a késleltetés növekedésével hiperbola szerint csökken) [116]. A szorongásoldó benzodiazepinek (GABA<sub>A</sub> receptor pozitív modulálója – GABA kötést fokozza; például klórdiazepoxid, diazepam) az impulzivitást fokozni képesek, míg az antidepresszánsok (valószínűleg a szerotonin- (5-HT) rendszer befolyásolásával; például imipramin) csökkenteni [117-119]. Irodalmi adatok szerint az 5-HT fontos szerepet játszik az impulzív viselkedés kialakulásában. Leginkább a központi idegrendszer csökkent 5-HT szintjét hozzák összefüggésbe vele, míg az 5-HT szintjének farmakológiai növelésével csökkenteni lehet az impulzivitás mértékét [120].

Hím egyedekben már sikerült kimutatnunk, hogy az AVP-hiányos egyedek kevésbé hajlamosak a szorongás- és depresszió-szerű tünetekre [121], melyet a perifériás AVP pótlás nem befolyásol [122]. Ez alapján felvetődik a kérdés, hogy nőstény egyedekben a PPD kivédésében is szerepe lehet az AVP-hiálynak, így ennek a kérdésnek a vizsgálata is a célunk volt. A magatartási profil feltérképezésére a PPD-hez köthető fentebb említett további zavarokat (szorongás, agresszió, impulzivitás) is tanulmányoztuk.

## ***1.6. Az anyát érő stressz hatásai***

---

Az anyai pszichés zavarok mellett egy másik akadály, amely a harmonikus anya-gyermek kapcsolatot megzavarhatja, az anyát érő stressz és az azzal való megbirkózás képessége, mely így közvetve az utódra is hatással bír. Ez a hatás terhesség alatt nyilvánvalóbbnak tűnik, hiszen egy egységet alkot az anya és a méhében fejlődő gyermek. A terhesség az anya szervezetét rendkívüli módon leterheli, radikális változásokat okozva. Ilyenkor a stressz-tengely működésében is változások következnek be: krónikus aktiváció, csökkent stressz-reaktivitással, mely a laktáció ideje alatt is tovább folytatódik [123]. Amikor a szüléssel a szoros anya-gyermek kapcsolat felbomlik, csak a fizikai kötelek szűnnek meg közöttük. Ekkor az újdonsült anyának rengeteg új szituációval kell megküzdenie, amiket nem mindegy, hogy miként képes kezelni. Az anyát érő stressz (főleg a szociális stressz) a PPD kialakulásában is szerepet játszik [124].

### **1.6.1. A stressz fogalma**

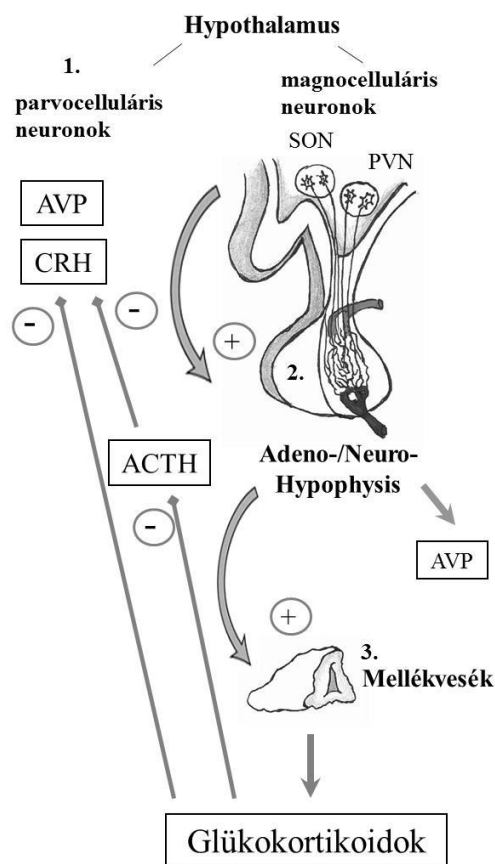
A stressz fogalmát elsőként Selye János írta le az 1930-as években: „a szervezet nem specifikus válasza bármilyen igénybevételre” [125, 126]. Megfogalmazta a három fázisban lezajló stressz-reakciót, az általános adaptációs szindrómát: (1) *alarmreakció* szimpatikus aktivitásfokozódással, amely a veszélyeztető helyzetekkel való megbirkózást, a támadó vagy menekülő magatartást teszi lehetővé (2) az *ellenállás fázisa*, amely az alkalmazkodás szempontjából alapvető (3) a *kimerülés fázisa*, amely a szervezet tartalékainak felélésével és az állat pusztulásával jár. Kétféle stresszt különböztetett meg: egy jótékony, úgynevezett *eustresszt*, amely a testi és lelki fejlődésünket biztosítja a kihívásokkal való megküzdés által. Ezzel szemben a *distressz* kártékony, a krónikus stressz állapota, amikor a szervezet nem képes megküzdeni a kihívással, nem képes a homeosztázisát fenntartani, így mélyreható élettani változások következnek be, a legkülönbözőbb stressz-betegségek kialakulásával. Leírta a stressz hatására kialakuló, úgynevezett *stressz-triádot*: a gyomorfekélyképződés, a thymus atrófia és a mellékvese hipertrófia együttes kialakulásának jelenségét. Megalapozta a legkülönbözőbb környezeti hatások által kiváltott stressz-betegségek élettani mechanizmusainak és a hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg (angolból: HPA: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal) tengely alapvető szerepének vizsgálatát.

Day egy összefoglaló közleményében a következőképp módosította a stressz fogalmát: a szervezet komplex válasza minden, a szervezet homeosztatikus mechanizmusait ténylegesen vagy potenciálisan fenyegető kihívásra [127]. A stresszorokat, melyek a stressz-választ kiváltják, többféle szempont szerint is csoportosíthatjuk. Egyik felosztás megkülönböztet fizikai/szisztémás/interoceptív/reaktív (például vérzés, fertőzés, fájdalom, hideg vagy meleg behatás) és pszichikai/érzelmi/exteroceptív/pszichoszociális (például rágszálókkal végzett kísérletek során az immobilizáció, kondicionált félelem, új környezet) stresszorokat. Időbeli fennállásának alapján megkülönböztethetünk akut, szubakut és krónikus típusokat. Bármilyen stresszorról is legyen szó, különböző neuronális útvonalakon (például agytörzsi viszceroszenzoros központok vagy a limbikus rendszeren) keresztül végül a HPA-tengely aktivitásának fokozódása következik be, mely beindítja az egész szervezet stressz-válaszát, lehetővé téve az egyed számára a túlélést. Ez magában foglalja a vegetatív, az endokrin, és a magatartási válaszkomponenseket is, melyek finom összehangolását a HPA-tengely végzi.

### 1.6.2. A HPA-tengely

A HPA-tengely (9. ábra) első elemét a hypothalamus PVN-jének CRH-t és AVP-t termelő parvocellularis sejtjei alkotják. Innen az eminentia medianán keresztül a tengely második állomásához, az adenohypophysishez kerülve, a CRH hatására megnő a pro-opiomelanokortin (POMC) szintézise, melyből a konvertáz enzimek ACTH hormont hasítanak le [63]. Az AVP a POMC átírására nincsen hatással, ugyanakkor a CRH ACTH elválasztást fokozó hatását jelentősen potenciózni képes és az ACTH raktárak gyors ürülését CRH-től független módon is kiváltja [128].

Az ACTH a szisztémás keringésbe ürülve a mellékvesekéreghez jutva több ponton is



9. ábra Stressz-tengely  
+: serkentés; -: gátlás

fokozza annak hormontermelését és szekrécióját: fokozza a sejtek koleszterin felvételét és a szteroid hormonok szintézisének limitáló lépését, a koleszterin-pregnenolon átalakulását is. A mellékvesekéreg 3 részre osztható, melyek közül középső rétegében, a zona fasciculata-ban szintetizálódnak a HPA-tengely véghormonjai, a glükokortikoidok (emberben főként kortizol, patkányban kortikoszteron) [129]. Ezek a molekulák szteroid szerkezetűek, melyek a sejtek membránján szabadon képesek átdiffundálni, majd az intracellularis receptoraikhoz kötődni. Két típusú receptort különíthetük el: az I-es típusú vagy mineralokortikoid receptor (MR), melyhez a kortikoszteroidok nagy affinitással képesek kötődni, míg a II-es típusú vagy glükokortikoid receptorhoz (GR) kisebb az affinitásuk, így ezeknek a receptoroknak magasabb plazma glükokortikoid-koncentráció esetén van fontos szerepük, amikor az MR-ok már telítődtek. Nyugalmi kortikoszteron értéknél az MR-ok 70-80%-a telített, míg a GR-ok csak akkor kezdenek telítődni, amikor a kortikoszteron napi ritmusa eléri a csúcspontját (aktív fázis elején, vagyis emberben reggel, ébredés után, rágszálóknál este), illetve a stressz-választ követően. Másik fontos különbség a receptorok lokalizációjában rejlik: például az agyban az MR leginkább a limbikus területeken, a prefrontális cortexben, az amygdalában és a hippocampusban fordul elő, addig GR általánosabban van jelen, legnagyobb számban a PVN-ben és a hippocampusban [130]. A hormon-receptor komplex a sejtmagba jutva különböző gének transzkripcióját szabályozza (genomiális hatás). Ugyanakkor a stressz-hormonoknak nem-genomiális hatásai is vannak, amelyek gyorsan jelennek meg, a fehérjeszintézistől és az MR/GR receptoroktól függetlenül [131, 132]. GR receptorokon keresztül a glükokortikoidok saját termelődésüket negatív visszacsatolással (feedback) szabályozzák, közvetlenül a PVN és a hypophysis hormontermelésének gátlásával [129] (9. ábra). Emellett közvetve, például a hippocampusban található MR és GR receptorokon keresztül is gátlás alatt van a tengely működése [133].

A plazmában kortikoszteroid kötő fehérje (corticosteroid-binding globulin, CBG) és albumin köti a glükokortikoidokat, de a hatásáért csak a szabad, kötőfehérjéhez nem kötött molekulák felelősek (az össz kortizol szint mintegy 10%-a). Terhesség alatt a CBG szintje több mint kétszeresére emelkedik embereknél és az utolsó 6 hétben kezd el csökkenni, míg patkányoknál csak minimális emelkedés figyelhető meg [134]. Egy másik különbség, hogy a terhesség alatt a humán placenta CRH-t termel, míg a rágszálóké nem [135]. Így emberben a terhesség során a perifériás CRH termelés miatt a

centralis termelés gátlás alatt áll, melynek a szülés után vissza kell állnia a normális szintre. A PPD-ben szenvedő anyáknál csökkent kortizol szint mérhető [136, 137], mely háttérben állhat az CRH termelés normalizálódásának elmaradása vagy az ACTH-termelő sejtek CRH-érzékenységének csökkenése [138].

Irodalmi adatok szerint a női szervezet a terhességet és a szoptatást mint egy krónikus stressz állapotot éli meg; patkányokban a postpartum időszakban az alapszintű HPA-aktivitás ugyanúgy fokozott, mint krónikus stressz során [123, 139, 140]. Ugyanakkor különböző stresszorok (pszichológiai (például hanghatás, elektromos sokkolás, kényszeres úzás (forced swim test, FST)), mind fizikai stressz hatására (például intraperitonealis (ip.) só vagy lipopoliszacharid injekció, éter belégzése) hatására bekövetkező tengely-aktiválódás kisebb mértékű, mint a szűz nőstényeknél [140]. Kevés hasonló jellegű humán adat áll rendelkezésre ezzel kapcsolatban: Altemus alacsonyabb ACTH- és kortizol-szintet mért 20 perces fizikai terhelés követően szoptató anyáknál [141], valamint pszichogén stresszor hatására azoknál az anyáknál, akik tápszerrel etették csecsemőjüket magasabb kardiovaszkuláris reakció volt tapasztalható, mint akik szoptattak [142].

Hím Brattleboro patkányoknál kimutattuk, hogy az AVP-hiányos genotípusnak csökkent a stressz-reaktivitása [143], így laktáló nőstényeknél is felmerült az AVP stressz-reakciót befolyásoló szerepe.

## 2. Célkitűzések

A bevezetésben említett irodalmi adatok arra utalnak, hogy az AVP kulcsszerepet tölt be a szociális viselkedés szabályozásában, többek között az utódgondozó magatartás kialakulásában is. Valamint hatással lehet az egyed pszichés állapotára, és a szervezet stresszorokra adott válaszára is.

Munkánk során az AVP laktáció alatti szabályozó szerepének alapos felderítése volt a cél, ennek érdekében összehasonlítottuk AVP-vel rendelkező és AVP-hiányos laktáló Brattleboro patkányok viselkedését, valamint stressz-reaktivitását. Egyes vizsgálataink célja a következő kérdések megválaszolása volt:

1. Befolyásolja-e az AVP hiánya az utódgondozó magatartás (spontán és indukált anyai magatartás) kialakulását?
2. A postpartum időszakban a pszichés zavarok megjelenése függ-e az AVP-től?  
AVP-től függően van-e különbség az anyaállatok:
  - szorongási szintjében
  - depresszió-szerű magatartásában
  - agresszivitásának mértékében
  - és impulzivitásában?
3. A laktáció időszaka alatt AVP hiányában megváltozik-e
  - a. a stressz-tengely alapaktivitása? (követve a szomatikus paraméterek (testtömeg, mellékvese tömeg) és a stressz-tengely alapaktivitásának változását szűz nőstényekhez képest)
  - b. a stresszorok hatására bekövetkező stressz-tengely aktiválódás?
4. Hogyan változik AVP-hiány hatására az AVP-t termelő, a stressz-folyamatok és az anyai magatartás szabályozásában részt vevő agyterületek alapaktivitása, valamint stressz-reaktivitása?



### 3. Módszerek

#### 3.1. Állatok

Kísérleteinket nőstény Brattleboro patkányokon (10. ábra) végeztük, amelyek a Harlan Laboratories-ból (Indianapolis, USA) származó állatokból kialakított, az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetben fenntartott tenyészetből származtak. A tenyészetet úgy tartottuk fent, hogy a vad típusú, homozigóta domináns (+/+) egyedek +/+ genotípusú szülőktől, a homozigóta recesszív (di/di), illetve kísérletben használt heterozigóta (di/+) genotípusú állatok di/di genotípusú hímtől és di/+ genotípusú anyától, míg a di/+ genotípusú tenyészállatok +/+ és di/di szülőktől származtak, hogy a két leszármazási vonal genetikai értelemben ne sodródjon el egymástól (1. táblázat).

Kísérleteinkhez a nőstényeket +/+ vagy di/di hím patkányokkal pároztattunk össze, hogy az utódok között ne legyenek olyanok, amelyek DI-osak, hiszen az befolyásolhatja az anyák magatartását (lásd 1. táblázat kerettel kiemelt részei). Az 1-4. kísérletsorozatban homozigóta állatokat pároztattunk be, hogy egységesen heterozigóta utódok szülessenek. Az 5. kísérletsorozatban, ahol heterozigóta anyákat is vizsgáltunk, a pároztatás +/+ genotípusú hímekkel történt, hogy ne szülessenek di/di genotípusú kölykök. Az átlagosan 21 napig tartó vemhesség után a megszületett utódok számát 6-ra redukáltuk minden alomnál (3 hím és 3 nőstény), hogy elkerüljük az eltérő utódszámból és az utódok neméből eredő különbségeket [144-147].

**1. táblázat A patkányok pároztatása** Az első oszlopban az anyák, az első sorban az apák, a táblázat belsejében pedig az utódok lehetséges genotípusa látható.

		Apa genotípusa		
		+/+	di/+	di/di
Anya genotípusa	+/+	+/+	+/+ di/+	di/+
	di/+	+/+ di/+	+/+ di/+ di/di	di/+ di/di
	di/di	di/+	di/+ di/di	di/di



© Dr. Aliczki Manó

**10. ábra Brattleboro patkány**

Standard hőmérsékletet és páratartalmat biztosítottunk az állattartó és a kísérleti szobákban ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , illetve  $60 \pm 10\%$  páratartalom) egyaránt. Az állatokat 12 órás fénysötét ciklusban tartottuk, a kísérleteknek megfelelően vagy normál ciklusban (7 órától

19 óráig világosban, míg 19 órától 7 óráig sötétben voltak), vagy fordított periódusban (9 órától 21 óráig sötétben).

A kísérletek az Európai Unió előírásai szerint (2010/63/EU) és az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet Állatjóléti Bizottságának jóváhagyásával zajlottak.

## ***3.2. Anyai magatartás vizsgálata***

---

### **3.2.1. Spontán anyai magatartás vizsgálata**

A patkányok anyai magatartását Myers által leírt eljárás alapján figyeltük meg [148]. A vizsgálatok csak megfigyelésből álltak, az állatokat a megszokott és nyugodt környezetükben tartottuk, csak az alomtisztítással zavartuk meg őket, mely minden nap este 10 órakor, a napi utolsó megfigyelést követően, a következő megfigyelés előtt minimum 10 órával történt. A születést követő 7 napban, naponta háromszor (időpontok: 8:30, 14:30, 20:30) 60 percen keresztül figyeltük meg az almokat. Azért választottunk két időpontot a világos fázisban és egy időpontot a sötét, aktív fázisban, mert irodalmi adatok szerint a patkányanyák kicsinyeikkel a világos fázisban többet foglalkoznak [149]. Minden megfigyelési periódusban minden anya magatartását hússzor regisztráltuk. Ez azt jelentette, hogy a megfigyelési periódusban az anyaállatot 3 percenként megfigyelve feljegyeztük, hogy a megadott viselkedési minták közül éppen melyiket mutatta. Így összesen (20 megfigyelés/periódus x 3 periódus/nap x 7 nap →) 420 megfigyelést végeztünk anyaállatonként.

A következő magatartásformákat regisztráltuk a megfigyelések során (11. ábra):

1. *Utódgondozás (Licking- grooming, LG)*

Az anya a kölykeket nyalogatja, tisztogatja.

2. *Szoptató pozíció (Arched back posture, AB)*

Az anyaállat magas háti kyphosisos pozícióban az utódaikat szoptatja.

3. *Anya a fészek/kölykök felett fekszik (Blanket posture, B)*

Az anyaállat a kicsik felett helyezkedik el, lába nincs kinyújtva, nem nyomja ki magát kyphosisba.

4. *Passzív szoptatás*

Az anya passzívan az oldalán vagy a hátán fekszik, hagyva, hogy kicsinyei nyugodtan szophassanak.

### 5. *Anya a fészken kívül (Mother-off)*

Az anyaállat távol helyezkedik el kölykeitől, nem velük foglalkozik. Ezen belül külön feljegyzésre került, ha az anyaállat ivott vagy evett.



11. ábra Megfigyelt spontán anyai viselkedésformák

### 3.2.2. Indukált anyai magatartás (Pup retrieval, PR) vizsgálata

Miután a spontán anyai magatartás megfigyelései befejeződtek, az aktív magatartást vizsgáló PR tesztnek vetettük alá az anyaállatokat az ellést követő nyolcadik napon [148, 150]. A teszt során a kölyköket 5 percre elvettük az anyáktól, majd azokat szétszórva visszahelyeztük anyjukhoz és megfigyeltük az anyaállat viselkedését.

Regisztrált adatok (stopperórával mértük egyes események látenciáját):

1. az első kölyök megfogásáig eltelt idő
2. az első kölyök fészekbeviteléig eltelt idő
3. az utolsó kölyök fészekbeviteléig eltelt idő

Az anyaállat PR viselkedésének funkciója az elkóborolt kölykök visszavitele a fészekbe, illetve új fészek építése esetén azok új fészekbe való eljuttatása. A kispatkányok egy csoportba gyűjtése fontos a termoreguláció szempontjából is, hogy az anyaállat a fészket mintegy betakarva, hatékonyabban védje kicsinyeit a hidegtől [151].

### ***3.3. Anyák pszichés állapotának vizsgálata***

---

#### **3.3.1. Depresszió- és szorongás-szerű tünetek vizsgálata**

##### *3.3.1.1. Megemelt keresztpalló teszt (Elevated Plus Maze, EPM)*

Ezt a tesztet az állatok szorongásának mérésére kiterjedten alkalmazzák. Bár a szorongás önálló körkép is lehet, a depresszió tünet-együttesének részeként is előfordul. Egy kereszt alakú, fémből készült megemelt szerkezetet használunk a teszthez, melynek 2 karja nyitott, a másik 2 pedig zárt (12. ábra). A keresztpalló karjai 15 cm szélesek és 50 cm hosszúak. A zárt kart 50 cm magasságú fal veszi körül. A centrum 15 cm x 15 cm nagyságú. A teszt elvi alapja, hogy ugyan a patkányok ismeretlen környezetbe kerülve azt igyekeznek bejárni, felfedezni, viszont kerülik a nyitott tereket, így az apparátus nyílt karjaiban kevesebb időt töltenek. Ha szorongásoldó szert (anxiolyticumot) adunk az állatoknak, ez a tendencia megváltozik: a nyitott karban több idő töltenek; ezzel szemben anxiogén gyógyszer hatására kevesebbet [152].



**12. ábra Emelt keresztpalló**  
[http://www.coulbourn.com/product\\_p/h10-35-epm.htm](http://www.coulbourn.com/product_p/h10-35-epm.htm)

A vizsgálatot a 10-15. napon végeztünk el az állatokkal (egyszerre a közel egy időpontban szült anyákkal). Minden állat után a pallót vízzel lemostuk, hogy az állatokat ne befolyásolják az előttük tesztelt állatok illatanyagai. A patkányokat a centrumba helyeztük orrukkal egy zárt kar felé, kamerával rögzítettük tevékenységüket, majd számítógépen a H77 program segítségével elemeztük ki azt. A H77 egy eseményrekorder szoftver, melyet a patkányok magatartásáról készült videofelvételek elemzésére használunk. A programot párhuzamosan futtatjuk a videofelvétellel, s a vizsgálat kezdetekor a program stopperórájának elindításával tudjuk az elemzést elindítani. Az előre beállított billentyűparancsok segítségével tudjuk a programmal közölni azt, hogy épp mit csinál a patkány. Miután a beállított megfigyelési idő letelik, a program összesíti az ez idő alatt lenyomott billentyűkódokat, s az általunk kívánt származtatott adatokat: a megadott tevékenységek előfordulási frekvenciáját, az idő szerinti százalékos megoszlásokat, a tevékenység látenciaidejét.

Az EPM a centrumba helyezés pillanatában indult, és összesen 5 perc hosszúságú mozgástevékenységet elemeztünk ki. Megfigyeltük, hogy az állat mennyi időt töltött a

centrumban, a zárt és a nyílt karokban, illetve hányszor lépett be ezekbe a térrészekbe (belépésnek az számít, ha minimum 3 lábbal átlépte az adott kompartmentek közötti határvonalat). Feltételezésünk szerint a DI-os patkányok a fokozott ivási kényszer miatt nagyobb aktivitást mutathatnak, ezért meghatároztunk egy mozgékonyaságtól független paramétert is:

$$\text{Mozgékonyaságtól független nyílt kari aktivitás} = \frac{\text{nyílt kari belépések száma}}{\text{nyílt} + \text{zárt kari belépések száma}} * 100$$

A szorongás mértékének megbecslésére a nyílt karban eltöltött időszázalékot és a nyílt kari aktivitást alkalmaztuk. Minél több időt töltött az állat a nyílt karokban, annál kevésbé tekintettük szorongónak. A zárt kari belépések számát, mint a mozgékonyaság mutatószámát használtuk.

### 3.3.1.2. Anhedónia teszt

Depressziós egyénekre gyakran anhedónia (örömképtelenség) jellemző. Állatok hedóniára való képességének mérésére a cukor-preferencia tesztet lehet alkalmazni, melyet a krónikus enyhe stressz, mint depresszió modell vizsgálatára dolgoztak ki [153, 154]. Az irodalomban található legtöbb leírás során a teszt folyadékmegvonással kezdődik. Mivel a DI-os egyedeknek ez nagy megpróbáltatás lett volna, igyekeztünk olyan leírást keresni, ahol a patkányokat nem kell 1 napos szomjazásnak kitenni. Az állatok ketrecéhez kétféle folyadékkal feltöltött itatót csatlakoztattunk az ellés utáni 12-17. napon (13. ábra).



**13. ábra Anhedónia teszt** A patkány kétféle folyadékból választhat.

- a) *Cukor-preferencia*: Az egyik itatóba 2,5%-os cukor oldatot, a másikba pedig 2,5%-os cukor + 8%-os alkohol oldatot tettünk (az alkoholos oldatba azért kevertünk cukrot, hogy az alkohol íze ne legyen a patkányoknak averzív) [155]. A 24 óra alatt elfogyasztott folyadékok mennyiségét regisztráltuk (az edények kezdeti és végtömegének különbségéből). Hogy az eltérő folyadéki igényből származó különbségek ne befolyásolják az eredményeket, az úgynevezett preferencia százalékokat hasonlítottuk össze.

$$\text{Preferencia\%} = \frac{2,5\% \text{ cukor}}{2,5\% \text{ cukor} + 8\% \text{ alkoholos cukor}} * 100$$

- b) *Szacharin-preferencia*: A választható két folyadék eltérő energiataartalmának és az alkohol esetleges befolyásoló hatásainak elkerülése miatt külön állatcsoporton a 0,1% szacharin oldat vízzel szembeni preferenciáját is összehasonlítottuk a két genotípusban. Ez egy mesterséges édesítőszer, mely mintegy 500-szor édesebb a cukornál, ugyanakkor nem szolgáltat energiát.

$$\text{Preferencia\%} = \frac{0,1\% \text{ szacharin}}{0,1\% \text{ szacharin} + \text{víz}} * 100$$

### 3.3.1.3. Kényszeres úszás teszt (*Forced Swim Test, FST*)

Ezt a tesztet 1977-ben Porsolt írta le, aki az antidepresszáns hatású gyógyszerek teszteléséhez kívánta alkalmazni. Megfigyelése szerint, ha a rágcsálót (patkányt, egeret) egy vízzel feltöltött henger formájú üveg edénybe helyezzük (14. ábra), ahonnan nincs menekülés, az állat bizonyos ideig küzd, majd mintegy feladva, lebegni kezd. Ha antidepresszánt adunk nekik, a lebegés ideje csökken [156]. Vagyis a lebegés ideje korrelál a depresszió-szerű tünetek jelenlétével.



**14. ábra** Kényszeres úszás teszt

A tesztet a 15-20. napon egy 40 cm magas és 14 cm átmérőjű üveg hengert használva végeztük el, melyeket 35 cm magasságig töltöttünk fel  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  csapvízzel. Egymás mellé 2 darab hengert állítottunk, s így kettesével rögzítettük a patkányok tevékenységét kamerával. Az állatok körülbelül 15 percet töltöttek el a hengerben, majd kivéve őket a vízből törölközővel megszáritottuk őket, így kerültek vissza ketrecükbe.

A felvételeket a H77 nevű program segítségével elemeztük ki, összesítve, hogy mennyi időt tölt az állat (1) küzdéssel (a patkány erőteljes mozdulatokkal próbál kijutni a vízből, mellső lábaival áttöri a víz felszínét), (2) úszással (finom koordináló mozdulatok a négy végtaggal a víz felszíne alatt), (3) lebegéssel (feladja a küzdést, mintegy felfújva testét tartja fenn magát és csak az orrát dugja ki a vízből), (4) búvárkodással (az állat a víz alá bukik).



### 3.3.2. Anyai agresszió vizsgálata

Agresszió vizsgálatát az állatok aktív (sötét) periódusának elején végeztük el enyhe vörös megvilágítás mellett, hiszen irodalmi adatok alapján a patkányok agresszivitása ekkor magasabb [157]. A rezidens-betolakodó teszt során az anyaállat dobozába az ellés utáni 5-6. és 18-19. napokon [28, 158] egy hím Wistar patkányt tettünk be (250-300 g) 10 percre és kamerával rögzítettük tevékenységüket. A 10 perc elteltével a betolakodó állatot kivettük, majd további 20 percig folytattuk a videó felvételét, hogy megfigyeljük az anya magatartását a teszt után (fészek felett tartózkodás, kölykök nyalogatása, szorongás-szerű paraméterek - ásás, temetés). A felvételek később kerültek kielemezésre. Az agresszió teszt során a harapások számát és minőségét figyeltük meg a video lassított visszajátszásával, s feljegyeztük azok előfordulásának számát és látenciaidejét. A minőségi különbségtételre azért volt szükség, mert tapasztalataink szerint a mennyiségi jellegeknél (vagyis hogy az agresszió mértéke meghaladja-e az adott helyzetben normálisnak tekinthető szintet) sokkal megbízhatóbban jellemzik az agresszió kóros elváltozásait [159]. A teszt során abnormálisnak tekintjük, ha az állat a fajspecifikus szabályokat figyelmen kívül hagyja (sérülékeny testrészekre harap, nem jelzi előre a támadásokat, a támadást folytatja, miután az ellenfél megadta magát), illetve ha ellentmondásos viselkedési változások jelennek meg (például fokozott a védekező és az agresszív magatartás is) [160].

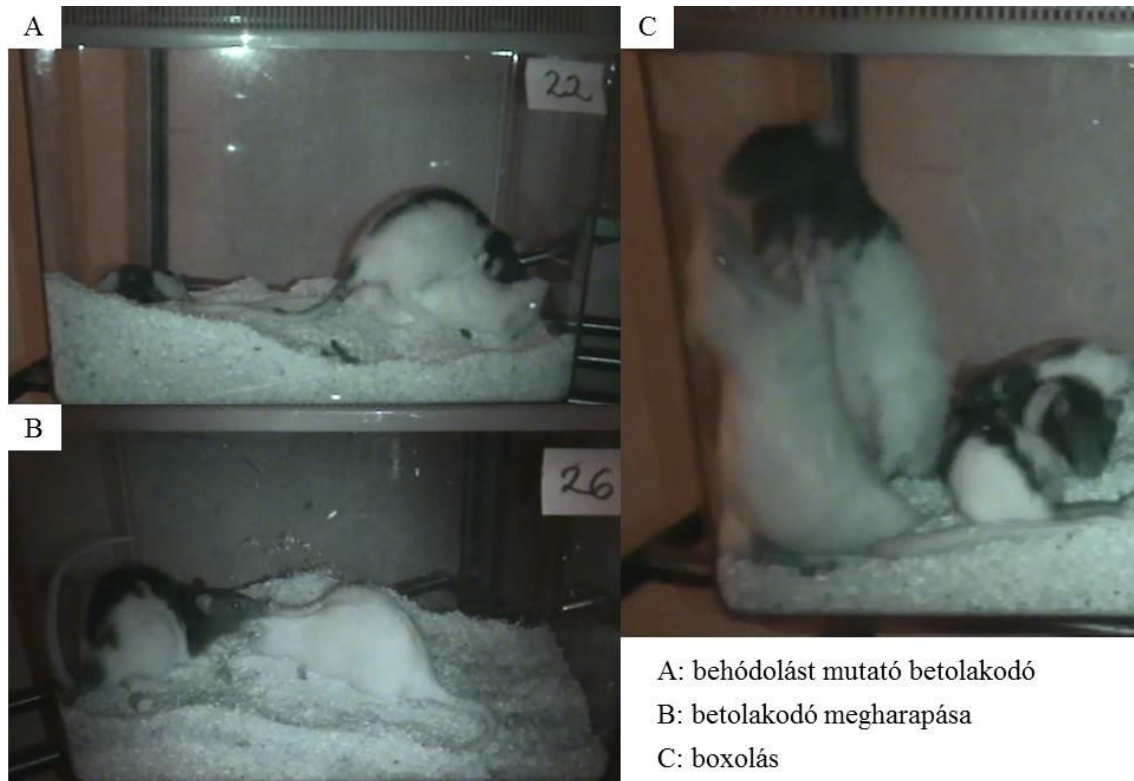
Megfigyeltük, hogy a harapás célpontja mennyiben felel meg a fajra jellemző normális támadásmintázatnak. *Veszélyes harapásoknak* tekintettük a sérülékeny testrészekre irányuló harapásokat (fej, torok, has), míg a dorzális testrészeken (hát, oldal) történt harapásokat *nem veszélyes harapásoknak* tekintettük (15. ábra).



15. ábra Támadások célpontjai: sérülékeny és nem-sérülékeny területek

Aszerint, hogy a rezidens állat mennyiben jelzi előre harapásait, vagyis a harapást közvetlenül megelőző 5 másodpercben megfigyelhető-e fenyegető magatartás (például agresszív kurkászás, oldalfenyegetések (borzolt szőrrel, ívelt háttal közeledés), két lábra felegyenesedés után boxolás, üldözés), *jelzett és nem jelzett harapásokat* különítettünk el (16. ábra). Különbséget tettünk még *enyhe és durva harapások* között

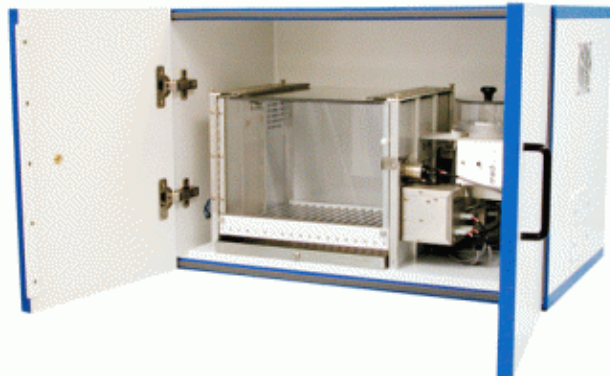
az alapján, hogy társul-e rúgással és a betolakodó mutat-e annak következtében erős összerezzenési, fájdalmi reakciót, illetve behódolást.



16. ábra Rezidens-betolakodó teszt

### 3.3.3. Impulzív viselkedés vizsgálata

Az impulzivitás vizsgálatokat úgynevezett Skinner-boxokban végeztük el (17. ábra), melyek számítógép által vezérelt, automatizált operáns kondicionálást lehetővé tevő ketrecek (Med Associates, St. Albans, VT, USA) hangszigetelt fa dobozokban elhelyezve. Az operáns kondicionálás során az állatnak azt kell



17. ábra Skinner-box hangszigetelt fa dobozban  
<http://www.med-associates.com/product/behavioral-chamber-package-with-retractable-levers-for-rat/>

megtanulnia, hogy egy adott viselkedéssel képes a környezetét befolyásolni, jelen esetben táplálékot képes magának adagolni. Ezt a ketrecekben található infravörös érzékelővel ellátott úgynevezett „orrbökő lyuk” (nose-poke hole) segítségével tudják



megtenni, melynek megbökésével a két lyuk között található táplálék- (pellet) adagolóban egyenként átlagosan 45 mg tömegű magas cukortartalmú pellet (Dustless Precision Pellets, Bio-Serv, USA) jelenik meg. Az orrbökő lyukban található érzékelő jeleinek feldolgozását és a táplálékpelletek adagolását a MED-PC IV (Med Associates, St. Albans, VT, USA) szoftver végezte. A tesztek során az állatok 30 percet tartózkodtak a ketrecben (egy állat mindig ugyanabban), majd tömegmérés után a saját dobozukba kerültek vissza. A ketreceket minden állat között 70%-os alkohollal átítatott törülközővel, majd szárazra törölve tisztítottuk ki. A protokoll szerint attól függően, hogy melyik oldali lyukba dugták az orrukát 1 vagy 5 db táplálékpellethez jutottak az állatok. A nagy jutalomhoz rendelt oldal random módon lett meghatározva, de egy állat esetében a kísérlet egésze alatt adott maradt. A jutalom megjelenésével egy időben a kamravilágítás 25 másodpercre felkapcsolódott, mintegy figyelemfelhívásként elősegítve a tanulást [161]. Ez idő alatt (holtidő, time-out) új jutalmat az állat nem tudott szerezni, de a rendszer az ez idő alatt adott válaszokat is regisztrálta. Az adatokat a MED-PC IV szoftver segítségével gyűjtöttük össze, majd a Microsoft Excel 2013-as verziójába egy saját fejlesztésű adatkezelő szoftverrel olvastattuk be (Pék Máté, Budapest).

A kísérlet 3 fázisból állt:

1. *tréning fázis*: az 5 napig tartó kondicionálás alatt az állat az orrbedugás után azonnal megkapta a jutalmat. Ezzel az állatok kognitív képességei is felmérhetőek, hiszen láthattuk, hogy a napok előrehaladásával mennyire voltak képesek megtanulni, hogy melyik oldali jeladó használatával jutnak több táplálékhoz. A tréning fázist akkor tekintettük sikeresnek, ha a végére minden állat 90% feletti preferenciával a nagy jutalmat eredményező oldalt választotta [162].
2. *teszt fázis*: a következő 8 napban az orrbedugás és a nagy jutalom megjelenése között eltelt időt napról-napra növeltük (10, 20, 30, 45, 60, 80, 100 és 120 sec). Késleltetés nélkül a patkányok a több jutalmat eredményező lyukat preferálják. A késleltetés növekedésével azonban ez a preferencia elkezd csökkenni. Fokozott impulzivitású állatok az átlagosnál hamarabb, rövid késleltetésnél is már a kisebb jutalommal járó lyukat preferálják [163-

165], illetve a késleltetés és a holtidő alatt is fokozottan próbálnak újabb jutalomhoz jutni.

3. *farmakológiai kezelések*: A teszt fázis utáni 3 napban az állatok random módon 3 féle kezelést kaptak (minden egyes állat mindhárom típusú kezelésen átessen a 3 nap során, csak eltérő sorrendben): klórdiazepoxid (CDP), imipramin (IMI) és kontrollként vivőanyag (fiziológiás sóoldat). A CDP-t 15 perccel, az IMI-t 60 perccel, a kontroll anyagot pedig 15 vagy 60 perccel a teszt előtt injektáltuk 1 ml/kg térfogatban 10 mg/kg-os dózisokban ip. A dózisokat és az injektálás protokollját korábbi irodalmi adatok szerint határoztuk meg [166, 167].

A vizsgálatok során a következőket értékeltük:

- *nagy jutalmat eredményező lyuk preferenciája*, mely a döntési impulzivitás szintjével fordított arányban áll

$$\text{Preferencia\%} = \frac{\text{nagy jutalmat eredményező válaszok száma}}{\text{összes jutalmat eredményező válaszszáma}} * 100$$

- *inadekvát válaszok száma*: a késleltetés és a holtidő alatt leadott összes válasz száma, mely a motoros impulzivitás szintjét mutatja

### ***3.4. Stressz-tengely működésének vizsgálata***

---

#### **3.4.1. Szomatikus paraméterek és stressz-tengely alapszintje**

Az ellés utáni 20-22. napon az anyákat és a szűz kontroll nőstényeket súlymérés után dekapitáltuk. Az állatok törzsvérét (kb 7-10 ml) jégen hűtött, K<sub>2</sub>-EDTA (150 µl 20w/v % EDTA) tartalmú csövekbe gyűjtöttük. A tetemekből kioperáltuk a mellékveséket és feljegyeztük tömegüket. A koponyacsontból a lehető leggyorsabban eltávolítottuk az agyukat a CRH, illetve a hypophysisüket a POMC mRNS szintjének in situ hibridizációs technikával történő meghatározásához, majd azokat szárazjégen lefagyasztottuk és a feldolgozásig -70°C-on tartottuk. Kriosztát (Leica CM-3050-S Cryostat) segítségével 16 µm-es metszeteket készítettünk [168], az agyak koronális metszetei közül minden hatodikat, a hypophysisek legnagyobb keresztmetszetű részéből pedig 4 párhuzamos sorozatban, lemezenként 6 db metszetet vettünk fel szilánózott tárgylemezekre. A hibridizációig a lemezeket -70°C-on tároltuk.

A lemezeket 4%-os paraformaldehid oldattal posztfixáltuk 60 percig, majd 2x5 percig steril K-foszfát pufferben (KPBS) mostuk. Mosás után egy éjszakán át vákuum-exiccatorban szárítottuk. Szárítás után proteínáz-K-val emésztettük (1 µg/ml 50 mM Tris-ben, pH=8, és 5 mM EDTA), acetiláltuk (0,25% ecet-anhidrid 0,1 M trietanolaminban pH=8), majd felszálló alkoholsorban dehidráltuk a szöveteket (50%-70%-96%-abszolút alkohol). Száradás után a <sup>35</sup>S-UTP-vel jelölt ribopróba (hibridizációs oldat: 107-109 dpm/ml; 50% formamid, 0,3 M-os NaCl, 10 nM TRIS, 2 mM EDTA, 1x Denhardt oldat, 10% dextranszulfát, 0,5 mg/ml élesztő tRNS, pH=8) 100 µl-ét a szövetekre pipettáztuk, majd a lemezeket lefedtük. A lemezekhez a fedőlemezt DEPEX segítségével rögzítettük, hogy a kiszáradásukat elkerüljük (nedves kamra létrehozása). A hibridizáció 58°C-on 12-16 órán keresztül zajlott. A hibridizáció után a metszeteket 4x SSC-ben (nátrium-klorid, trinátrium-citrát puffer; saline-sodium citrate buffer) áztattuk mindaddig, amíg a fedőlemezek maguktól leváltak a tárgylemezről (1x SSC: 0,15 M NaCl és 15 mM trinátrium-citrát; pH=7). A nem hibridizálódott egyszálú ribonukleinsavakat ribonukleáz A-val emésztettük (20 µg/ml; TRIS-EDTA pufferben 0,5 M NaCl). Fokozatosan csökkenő sókoncentrációjú mosások után (2x-1x-0,5x SSC) 65°C-on 0,1x SSC-ben 30 perces inkubáció következett.

A CRH és a POMC mRNS mennyiségének meghatározása <sup>35</sup>S-UTP-jelölt riboprób használatával történt. Ez a próba a gén exonszekvenciájával komplementer (a CRH prób Dr D. Richter, University of Hamburg, Germany; a plazmid a POMC templattal Dr J. Eberwine, University of Pennsylvania ajándéka volt). A hibridizációs eljárás után az exponálás imaging plate segítségével történt 72 órán keresztül a CRH és 16 órán keresztül a POMC esetében (Fujifilm, BAS-IP, MS 2340). A plate-ek leolvasása fluorescens kép analízissal történt (FLA 3000, Fujifilm, a leolvasás felbontása 50 µm). A kapott radiogramokat az internetről szabadon letölthető ImageJ szoftverrel értékeltük ki. A vizsgált régió területét körberajzoltuk, majd az átlagos szürkességet a háttér értékével (egy szomszédos hypothalamikus terület átlagos szürkessége) korrigáltuk [169].

### **3.4.2. Stresszorok hatásának vizsgálata**

A postpartum időszakban (7-11. nap) különböző stresszoroknak tettük ki az anyákat:

- a) *Intravénás tojásfehérje beadás* [170]: 2 nappal a kísérlet előtt iv. kanült (medical-grade silicone tubing; ID 0,64 mm; OD 1,2 mm Dow Corning; MI; USA) ültettünk be az állatok juguláris vénájába ip. adott altatószer hatása alatt (ketamine (50 mg/kg, SelBruHa Állatgyógyászati Kft., Budapest), xylazine (20 mg/kg, Spofa, Prága, Csehország), promethazinium chloratum (0,2 ml/kg, EGIS, Budapest) fiziológias sóoldatban). A behelyezés után a kanült az állatok bőre alatt átvezettük a dorzális nyaki régióhoz, majd heparinos, gentamicines fiziológias sóoldattal feltöltöttük és a kísérlet kezdetéig lezártuk. A kísérlet napján a kanült heparinos fiziológias sóoldattal átmostuk, majd egy kanülhosszabbító csövet húztunk rá, hogy ezen keresztül, az állatok lefogása nélkül tudjunk vérmintát (0,4 ml/minta) nyerni, melyet fiziológias sóoldat beadásával kompenzáltunk. Friss, átszűrt, fiziológias sóoldattal hígított tojásfehérjét (500 ml/l) injektáltunk lassan az iv. kanülon keresztül az állatok keringésébe, testtömeg-kilogrammonként 1 ml-t, mellyel a HPA-tengelyük működését kívántunk stimulálni. Vértételt végeztünk közvetlenül a beadás előtt (0 min), majd azt követően 15, 30, 60, 90 és 120 perccel. A kísérlet lezajlása után az állatokat a kanülon keresztül pentobarbitál injekcióval termináltuk.
- b) *Inzulin injekció* [171]: 18 órás táplálékmegevonás után ip. Actrapid (gyors hatású insulin, 3NE/2 ml/kg; Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dánia) injekcióval hipoglikémiás állapotot hoztunk létre az állatok felénél, míg a kontrollkezelt csoport fiziológias sóoldat injekciót kapott. 1 órával az injekció után az állatokat dekapitáltuk, vérüket gyűjtöttük, melyből a vércukorszintet is meghatároztuk (D-Cont Personal, 77 Elektronika Kft, Budapest).

### 3.4.3. Hormonkoncentrációk mérése a vérmintákból

A hormonszintek mérése során a „radioimmuno assay (RIA)” módszerét használtuk. Az ACTH koncentrációt 50 µl szérumból közvetlenül határoztuk meg. A méréshez szükséges specifikus antitestet (no. 8514) (nyúlban termeltetett h-ACTH<sub>1-39</sub> ellen) intézetünkben fejlesztettük ki [172]. Az ellenanyag magas specificitással rendelkezik az ACTH-ra. α-MSH-val való kereszt-reaktivitása 0,2%, ugyanakkor nem ad szignifikáns keresztreakciót a γ-MSH, ACTH<sub>11-24</sub>, ACTH<sub>25-39</sub>; ACTH<sub>1-14</sub>; ACTH<sub>1-19</sub> peptidekkel. Az

egy kísérletből származó plazmamintákat mindig egy assay-ben mértük. Az assay-n belüli szórás 4,7% volt. A *kortikoszteron* szintek mérése során 10 µl plazmából határoztuk meg a hormonszinteket szintén RIA módszerrel. A specifikus ellenanyagot nyúlban termeltettük kortikoszteron-3-karboximetiloxim-bovin szérum albumin ellen [96]. I<sup>125</sup>-jelölt karboximetiloxim-tirozin-metil észtert használtunk nyomjelzőként (tracer). A plazma CBG reaktivitását alacsony pH alkalmazásával zártuk ki. A kortikoszteron mérés szenzitivitása 1 pmol, a mérésen belüli szórás 12,3 % volt.

### ***3.5. Immuncitokémiai vizsgálatok***

---

#### **3.5.1. Minták előkészítése immuncitokémiai vizsgálatokhoz**

Két órával az FST után (lásd 3.3.1.3.) az állatokat ketamin-xylazin-pipolphen koktéllal (50-10-5 mg/kg 2 ml/kg térfogatban ip.) elaltattuk, majd perfundáltuk azokat. A nem-stresszelt kontroll állatokkal nem történtek magatartás vizsgálatok, hanem az ellést követő 15-20. napon (randomizáltan a magatartás vizsgálaton átesett, stresszelt állatokkal) perfundáltuk őket. Az intrakardiális perfúzió célja az agy fixálása volt. Első lépésként két percig az ereket fiziológias sóoldattal mostuk át, majd 300 ml fixáló folyadékot (0°C-os 4%-os paraformaldehid oldat) keringtettük. Ezután az így fixálódott agyakat eltávolítottuk és a perfúziós oldatban posztfixáltuk 4°C-on egy éjszakán át.

#### **3.5.2. Immuncitokémiai jelölés**

Másnap foszfát puffer oldattal (PBS: 1 liter desztillált vízben 1,56 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 30,8 g NaHPO<sub>4</sub>×12 H<sub>2</sub>O, 5 g NaCl és 0,2 g MgCl) a perfundáló folyadékot kiöblítettük az agyakból, majd 20%-os cukros PBS oldatba merítettük őket. 2 nap után kivettük az agyakat a folyadékból, felitattuk papírral a felületüket, majd a metszésig lefagyasztva -80°C-on tároltuk őket. A fixált agyakat fagyasztó szánkamikrotóm használatával metszettük le coronalis síkban 30 µm vastag szeletekre. A metszeteket fagyálló folyadékban -20°C-on tároltuk a szövettani feldolgozásig.

Az aktiválódott sejtek kimutatását c-Fos immuncitokémiával végeztük. A c-Fos korai átíródású transzkripciós faktor, melyet széles körben használnak a neuronális aktivitás becslésére [173]. Első lépésként a metszeteket PBS-ben 3×10 percig mostuk, majd az endogén peroxidázok blokkolására 0,2%-os Triton-X-100 és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-oldatba helyeztük őket. A metszeteket 3×5 percig PBS-ben mostuk, ezután a nem specifikus fehérjék

blokkolására 20 perces 2%-os normál lószérum (Normal Horse Serum, NHS) inkubálást alkalmaztunk. Ezt 3×10 perces PBS mosás követte. A metszeteket ezután 1 éjszakán át, primer antitestben, poliklonális nyúl anti c-Fos oldatban (Santa Cruz Biotechnology, USA, sc-52; 1:5000 hígításban, 4°C-on) inkubáltuk, amit 3×10 perces PBS-mosás követett. A primer antitest kötődés kimutatásához a metszeteket nyúl elleni szekunder antitestet tartalmazó oldatban (1:500) inkubáltuk szobahőmérsékleten 1 órán keresztül, majd 3×10 percig PBS-ben mostuk. Ezt követően a metszeteket Avidin-Biotin-Complexben (ABC, Vestastain; 1:1000 TRIS) inkubáltuk szobahőmérsékleten 1 órán keresztül, amit 3×10 perces PBS és 1×10 perces TRIS mosás követett. Az antigén vizualizálására, a szöveteket 10 percig diamino-benzidin (DAB, Sigma-Aldrich Kft., Budapest) oldatban inkubáltuk, amit 4×5 perces TRIS mosás követett. A metszeteket szilános lemezekre húztuk fel, 24 órán át szárítottuk, majd DePeX oldat segítségével fedtük le őket.

Miután a metszetek elkészültek, fénymikroszkóppal (Olympus BX51) végigpásztáztuk őket, s megkerestük az elemzésre szánt régiókat a Paxinos és Watson patkányagy atlaszának megfelelően [174] (18. ábra). Mivel az állataink AVP-hiányosak, megvizsgáltuk a hypothalamus *PVN*-jét és a *medialis amygdalát (MeA)*, a depresszió- és szorongás-szerű magatartás szabályozásában szerepet játszó *centralis amygdalát (CeA)* [175] és az anyai magatartás szabályozásában fontos szerepet játszó *mPOA*-t és *BNST*-t [6]. A *PVN* különböző régióit külön próbáltuk meg elemezni az eltérő funkcióik miatt: neurohypophysisbe vetítő *magnocellularis régió*, az autonóm idegrendszeri központokba vetülő *dorsalis parvocellularis PVN (dpPVN)* és az adenohypophysishez futó *medialis parvocellularis régió (mpPVN)*.

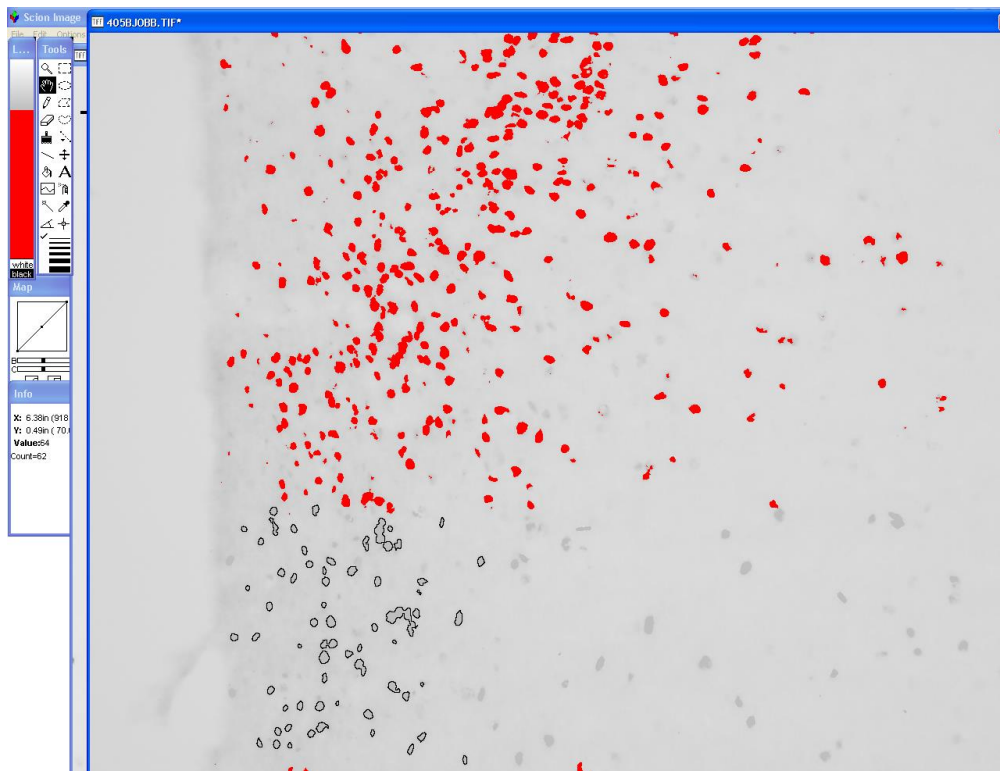


### 3.5.3. Az immuncitokémiai jelölések kvantitatív analízise

A kiválasztott agyterületeket a fénymikroszkóphoz tartozó Olympus DP Controller programmal 10 vagy 20x-os nagyítással digitalizáltuk. Ezt követően az internetről ingyenesen letölthető Scion Image szoftver segítségével a c-Fos pozitív sejtszám meghatározására automatizált módon került sor (2. táblázat). Ennek során egy egységes háttérküszöb-érték (threshold) használata mellett a pozitív elemek minimális méretét 20 pixelben határoztuk meg. Ilyen beállítások mellett a háttér és a specifikus jelölődések általi hiba minimálisnak mutatkozott. Minden vizsgált terület esetében 4 reprezentatív síkban számoltunk bilaterálisan, a területre jellemző standard keretben (18. ábra és 19. ábra).

2. táblázat DP Controller és a Scion Image választott beállításai

	BNST	mPOA	PVN alrégiók	CeA	MeA
<b>Képméret</b>			1360x1024		
<b>Exp. idő</b>	1/1100 sec		1/700 sec	1/1100 sec	
<b>Objektív</b>	10x		20x	10x	
<b>Küszöb</b>			65		
<b>Keret</b>	273,86x273,86 $\mu\text{m}$	200x200 $\mu\text{m}$	1018,52x1018,52 $\mu\text{m}$	925,93x925,93 $\mu\text{m}$	
	négyzet	négyzet	kör	kör	
<b>Terület</b>	75000 $\mu\text{m}^2$	40000 $\mu\text{m}^2$	814345,65 $\mu\text{m}^2$	673016,9 $\mu\text{m}^2$	



19. ábra Scion Image A kijelölt keretben (ahol az ábrán körülrajzolt pontok láthatóak) számolja meg a program a beállított küszöbnek megfelelően általa pirosnak ítélt 20 pixelnél nagyobb pontokat.

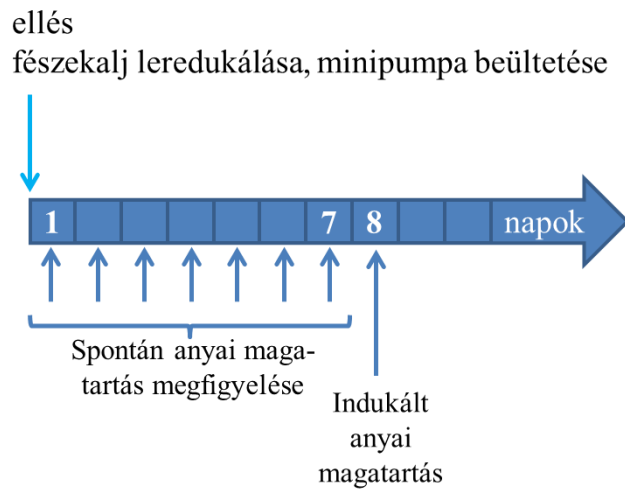


### 3.6. Kísérleti elrendezés

#### 1. kísérlet sorozat: Anyai magatartás vizsgálata

Mivel felmerült annak a lehetősége, hogy az AVP-hiány okozta ivási kényszer, a polydipsia és a polyuria befolyásolhatja az AVP- anyák kölykeikkel és egyéb tevékenységgel (anya a fészken kívül) eltöltött idejének arányát, valamint hogy az utódok anogenitális régiójának nyalogatása az AVP- anya só-víz háztartására megterhelő a kispatkányok magas ozmolalítású vizeletének elfogyasztása miatt (hiszen nem voltak AVP-hiányos utódok, akiknek alacsony ozmolalítású a vizeletük; lásd 1. táblázat), így az AVP perifériás pótlásával végeztük el ezeket a kísérleteket.

10 AVP- anya a bőre alá az ellés utáni nap gyors éter bódításban dezmpresszint (DDAVP, 10 ng/h, V<sub>2</sub> receptor agonista, Ferring Ltd.) kibocsájtó ozmotikus minipumpát ültettünk (Alzet osmotic minipump, 2002, 0,5 µl/h, 14 days). 10 di/di (AVP-) és 10 +/+ (AVP+) patkány pedig áloperáción esett át. Ezt követően a spontán és az indukált anyai magatartásukat vizsgáltuk meg (20. ábra).

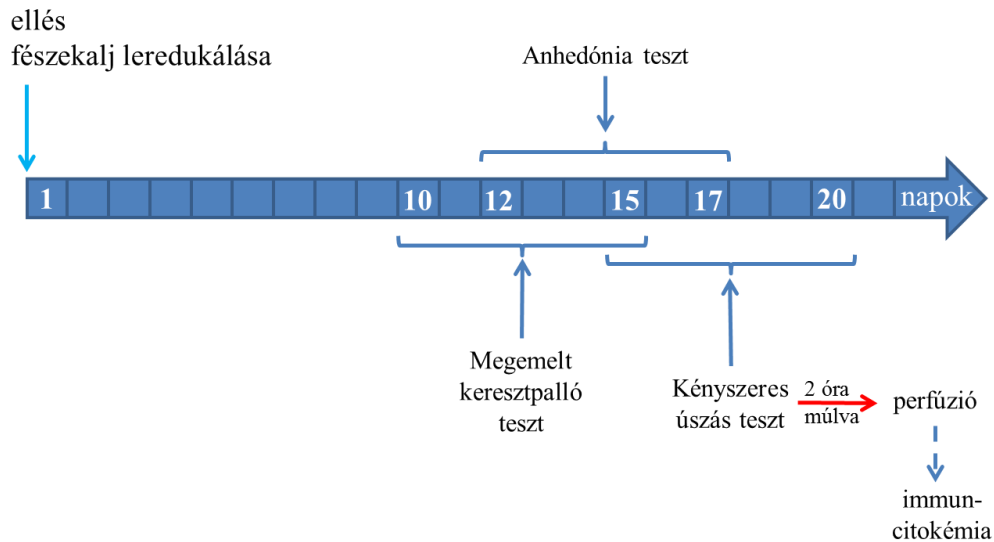


20. ábra Anyai magatartás vizsgálatának idővonalja

#### 2. kísérlet sorozat: Depresszió- és szorongás-szerű tünetek vizsgálata

12-12 állatot pároztattunk össze, a di/di patkányok közül kilencen, a +/+ genotípusúak közül pedig heten lettek vemhesek. A viselkedésteszteket a 10-20. napok között végeztük el (lásd 21. ábra, minden állat egyszer, egyszerre esett át mindegyik teszten, így mivel pár napos eltéréssel ellettek az állatok, ezért van intervallum megadva a tesztek elvégzésének napjára), majd perfúziót követően az állatok agyát lefagyasztottuk a szövettani feldolgozásig.

Az immuncitokémiai vizsgálatához a neuronok alapszintű aktivitásának mérésére plusz kontroll állatokat használtunk (5 +/+ és 4 di/di). Ezekkel az állatokkal nem végeztünk semmilyen tesztet, nem tettük ki stressz keltő helyzeteknek, csak az ellés után 20 nappal perfundáltuk azokat.



21. ábra A szorongás- és depresszió-szerű tünetek vizsgálatának idővonala

### 3. kísérletsorozat: Anyai agresszió vizsgálata – rezidens-betolakodó teszt

4 sorozatban, összesen 13 +/+ és 10 di/di anyát vizsgáltunk. Ennél a kísérletsorozatnál az állatokat az ellés utáni napon egy nagyobb plexi dobozba helyeztük át (Ferplast Geo Maxi 42x26x30 cm), majd saját magunk almoztuk őket kétnaponta. Az agresszió vizsgálatát az állatok aktív (sötét) periódusának elején végeztük el az 5-6. és 18-19. napokon, így fordított ciklusban tartottuk őket már az utódok világrahozatala előtt minimum 2 hétig.

### 4. kísérletsorozat: Impulzív viselkedés vizsgálata

Mindkét genotípusból (+/+ és di/di) 10-10 családot vontunk be a kísérletbe. Az anyák a kísérlet teljes hossza alatt korlátozás nélkül hozzájutottak az ivóvízhez, azonban a táplálékukat, miután világra hozták kölykeiket, napi 6 darab pelletre (átlagosan 20 g) korlátoztuk, melyet minden nap a teszt befejeztével kaptak meg. Így a teszt előtti éhségüket motivációs tényezőként használtuk fel a kísérlet során. A tesztet az ellést követően 2-5 nappal kezdtük meg és az állatok világos fázisának első óráiban hajtottuk végre. A tréning fázis 5 napig, a teszt fázis 8 napig, a farmakológiai kezelések pedig 3 napig tartottak. A testtömegüket és a vízfogyasztásukat minden nap mértük, és a napi

táplálékadagjukat úgy módosítottuk, hogy ne essenek a kiindulási tömegük 80%-a alá. Emellett a fészek össztömegének gyarapodását is figyelemmel kísértük, hogy a táplálék korlátozása az utódok fejlődését ne hogy hátráltassa.

### **5. kísérletsorozat: Stressz-tengely működésének vizsgálata laktáció alatt**

Korábbi vizsgálatainkban azt tapasztaltuk, hogy az anya genotípusa, azaz hogy van-e működőképes AVP-je befolyásolja az utódok stresszorokra adott válaszát mind perinatális, mind felnőtt korban [95, 96]. Ezért 1 alomból származó (di/di és di/+ (AVP+) genotípusú) nőtény állatokat pároztattunk be és hasonlítottunk össze velük egykorú szűz kontroll állatokkal. 6 hetes korukban vízfogyasztásuk alapján különítettük el a genotípusokat, majd kettesével tartottuk azokat az ellést megelőző pár napig, amikor egyesével raktuk azokat. A szűz állatokat egyesével tartottuk. Az alapszintek vizsgálatára 10-10 állatot az ellést követő 20-22. napon dekapitáltunk, míg a stressz-reaktivitás vizsgálatához a sorozatvérvétel esetén (intravénás (iv.) tojásfehérje beadás) 15-15, és a metabolikus stressz (inzulin injekció) esetén 8-8 állatot használtunk.

### ***3.7. Adatok statisztikai elemzése***

---

A különböző vizsgálatok során kapott adatokat a STATISTICA 11.0 Software Package (Tulsa, OK, USA) program segítségével egyszempontos és többszempontos, ismételt mérések (repeated measures) varianciánálízissel (ANOVA), valamint generális-lineáris modullal (GLM; spontán anyai magatartás, faktor: genotípus, „repeated”: napszak és nap; adatok ábrázolása a jobb érthetőség miatt szétbontva történt) elemeztük. A csoportok összehasonlítására a Fisher post hoc tesztet használtuk és ennek eredményeit tüntettük fel az ábrákon. Az adatokat átlag±standard hiba (standard error of the mean; SEM)-ben fejeztük ki. Szignifikáns hatásnak a  $p < 0,05$  értékeket tekintettük.

## 4. Eredmények

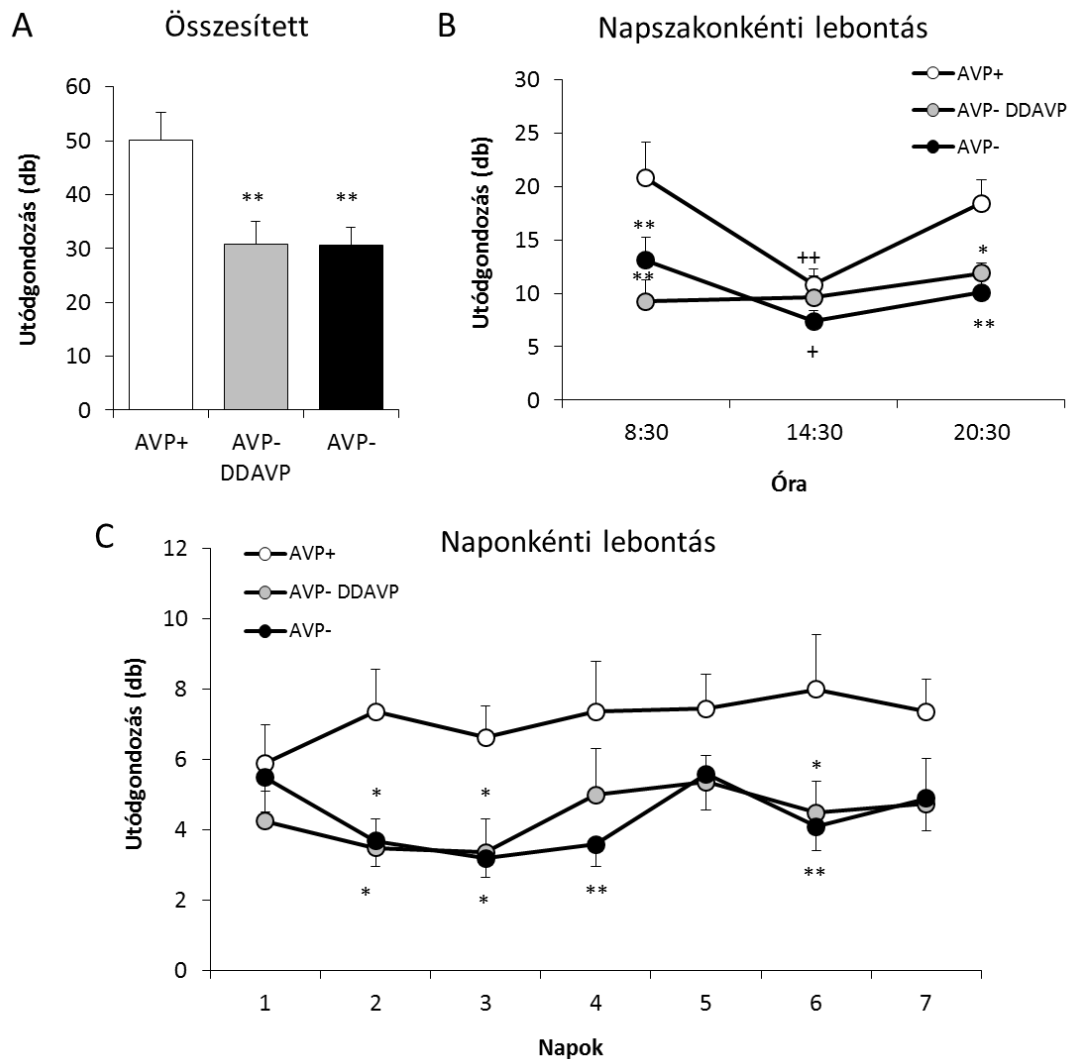
### 4.1. Anyai magatartás

---

#### 4.1.1. Spontán anyai magatartás

##### 1. Utódgondozás (*Licking-grooming, LG*)

Az utódgondozó magatartásban szignifikáns különbséget találtunk az AVP+ és AVP- genotípusú patkányok között, mely DDAVP pótlás után ugyanúgy megmaradt (GLM: csoport hatás:  $F_{(2,26)}=6,62$ ;  $p<0,01$ ; napszak hatás:  $F_{(2,52)}=7,18$ ;  $p<0,01$ ; 22. ábra). Az AVP- anyák szignifikánsan kevesebb időt töltöttek a kölykeik nyalogatásával, tisztogatásával, mint az AVP+ anyák (22. ábra A rész). Ha a napszakonkénti lebontást megnézzük (22. ábra B rész), azt láthatjuk, hogy a legnagyobb különbség a reggeli órákban mutatkozott, mely a nap közepére eltűnt, estére pedig megint kifejezettebbé vált. A naponkénti lebontás azt mutatja (22. ábra C rész), hogy amíg az AVP+ anyák LG száma a napok előrehaladtával nem mutatott nagy változást, addig az AVP- hiányosak ingadozást mutattak, bár ezeknél a csoportoknál sem figyelhető meg szignifikáns nap hatás. Azaz egyik genotípusnál sem látható az irodalomban leírt tendencia, miszerint az ellést követő első héten az idő teltével a LG-gal töltött idő mennyisége csökken [149]. Szignifikáns eltérés a csoportok között több napon is látható (lásd 22. ábra C rész).



**22. ábra** Az utódgondozó (Licking-grooming) magatartás összesített, genotípus szerinti (A), napszakonkénti (B) és naponkénti bontása (C) \* $p < 0,05$  és \*\* $p < 0,01$  vs. AVP+; + $p < 0,05$  és ++ $p < 0,01$  vs. 8.30-as időpont

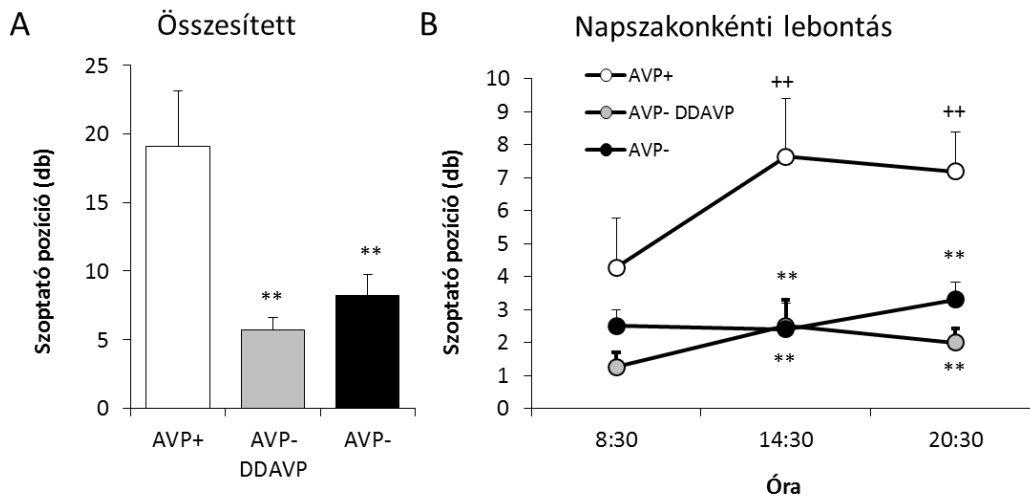
2-5. Szoptató pozíció (Arched back, AB), Anya a kölykök felett (Blanket, B), Passzív szoptatás (P), Anya a fészken kívül

A szoptató magatartásokat (szoptató pozíció, kölykök felett tartózkodás, passzív szoptatás) összegezve (3. táblázat 1. sor) nem találtunk eltérést a csoportok között. A szoptató pozícióban (AB) viszont mind az AVP-, mind a DDAVP-vel kezelt AVP-csoport szignifikánsan kevesebbet tartózkodott az AVP+ genotípushoz képest, mely különbség a 14:30 és a 20:30 időpontokban volt a legkifejezettebb (GLM: csoport hatás:  $F_{(2,26)}=6,37$ ;  $p < 0,01$ ; időhatás:  $F_{(2,52)}=5,04$ ;  $p < 0,01$ ; 23. ábra). Az anyák átlagosan mintegy az esetek felében a fészek felett helyezkedtek el (3. táblázat 2. sor), a DDAVP csoport viszont szignifikánsan kevesebbet tartózkodott ebben a pozícióban (GLM:

csoport hatás:  $F_{(2,26)}=16,4$ ;  $p<0,01$ ). Passzív pozícióban az AVP- anyák és a DDAVP kezelt csoport is szignifikánsan többet szoptatták kölykeiket, mint az AVP+ genotípusúak (GLM: csoport hatás:  $F_{(2,26)}=37,4$ ;  $p<0,01$ ; 3. táblázat 3. sor).

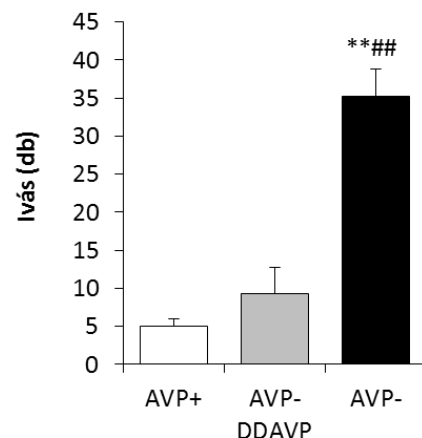
**3. táblázat A spontán anyai magatartás megfigyelésekor a szoptatás, a kölykök felett, a passzív szoptatás és fészken kívül tartózkodás gyakorisága. \*\* $p<0,01$  vs. AVP+, # $p<0,05$  vs. AVP- DDAVP**

(db/420 megfigyelés)	AVP+	AVP- DDAVP	AVP-
<b>Összes szoptatás (AB+B+P)</b>	305,5±13,8	264,1±21,3	291,3±11,2
<b>Anya a kölykök felett (B)</b>	267,5±9,5	174,5±15,6**	245,0±10,3
<b>Passzív szoptatás (P)</b>	18,9±3,8	83,9±7,2**	38,1±5,2**#
<b>Fészken kívül</b>	106,2±14,7	147,8±20,5	124,6±10,4



**23. ábra A szoptató (Arched back) pozíció összesített, genotípus szerinti (A) és napszakonkénti (B) lebontása. \*\* $p<0,01$  vs. AVP+; ++ $p<0,01$  vs. 8.30-as időpont**

A fészken kívül tartózkodás (3. táblázat 4. sor) nem mutatkozott különbözőnek a csoportok között. Ha részletesebben megvizsgáltuk, hogy mivel foglalkoztak ezen idő alatt az állatok, akkor azt találtuk, hogy az evés előfordulási gyakorisága sem különbözött, azonban a DI fenotípus több ivással töltött időben nyilvánult meg az AVP- anyáknál (GLM: csoport hatás:  $F_{(2,26)}=35,32$ ;  $p<0,01$ ; 24. ábra). A DDAVP só-víz háztartást normalizáló hatása miatt a kezelt állatok szignifikánsan kevesebb ittak az AVP- csoporthoz képest.



**24. ábra Az ivás összesített, genotípus szerinti lebontása. \*\* $p<0,01$  vs. AVP+; ### $p<0,01$  vs. AVP- DDAVP**

#### 4.1.2. Indukált anyai magatartás (Pup retrieval test)

Az indukált anyai magatartás vizsgálata során nem találtunk szignifikáns különbséget a genotípusok között (4. táblázat).

4. táblázat Az indukált anyai magatartás megfigyelt paraméterei

Látencia (sec)	AVP+	AVP- DDAVP	AVP-
Első kölyök megragadása	44,2±14,3	37,8±13,4	41,3±17,2
Első kölyök fészekbe cipelése	61,0±13,4	88,0±25,8	44,3±12,9
Utolsó kölyök fészekbe cipelése	206,2±47,5	371,6±110,5	233,4±104,3

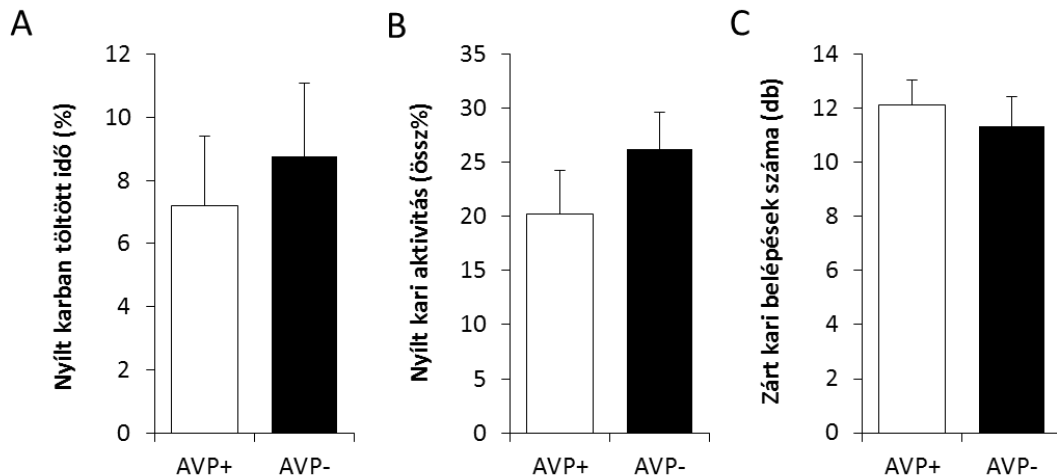
#### 4.2. Anyák pszichés állapota

##### 4.2.1. Depresszió- és szorongás-szerű viselkedés

###### 4.2.1.1. Megemelt keresztpalló teszt (EPM)

Egyik vizsgált szorongás paraméterben (25. ábra) (nyílt karban töltött idő; A rész, mozgékonyaságtól függetlenül kifejezett nyílt kari aktivitásban (nyílt kari belépések száma/ (nyílt+zárt kari belépések száma); B rész)) sem láttunk szignifikáns különbséget a genotípusok között a 10-15 napos laktáló anyaállatok vizsgálata esetén.

A zárt kari belépések számában (25. ábra C rész), mely a mozgékonyság jó paramétere, sem láttunk különbséget.

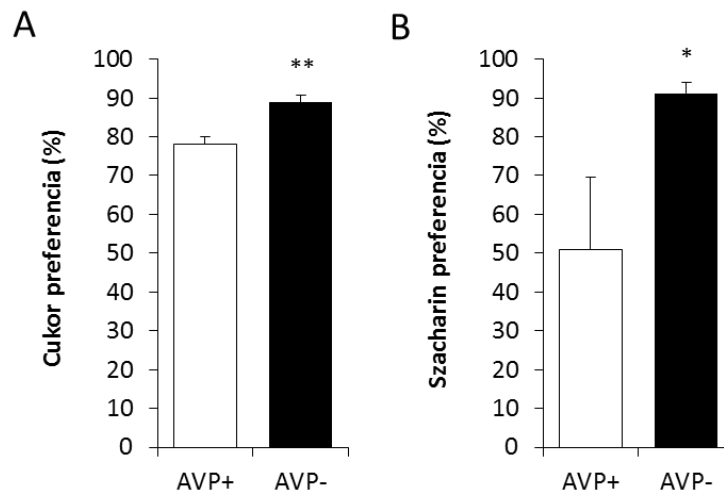


25. ábra Megemelt keresztpalló teszt (EPM) eredményei A vizsgált idő nyílt karban eltöltött %-a (A), a mozgékonyaságtól függetlenül kifejezett nyílt kari aktivitás (B) és a zárt kari belépések száma (C).

#### 4.2.1.2. Anhedónia teszt

Az AVP-hiányos egyedek szignifikánsan többet fogyasztottak a 2,5%-os cukor oldatból, az AVP+ genotípusú patkányokhoz képest (genotípus hatás:  $F_{(1,14)}=15,076$ ;  $p<0,01$ ; 26. ábra A rész), vagyis jobban preferálták a cukros, édes oldatot.

A szacharin-preferenciát szintén szignifikánsan magasabbnak találtuk az AVP-csoport esetében (genotípus hatás:  $F_{(1,6)}=8,21$ ;  $p<0,05$ ; 26. ábra B rész), azaz ezek az állatok kevésbé mutattak anhedóniát, mint az AVP-vel rendelkező egyedek.



26. ábra A különböző genotípusú patkányok cukor (A) és szacharin (B) preferenciája  
\* $p<0,05$  és \*\* $p<0,01$  vs. AVP+

#### 4.2.1.3. Kényszeres úszás teszt (FST)

A kényszeres úszás tesztben a depresszió-szerű fő magatartásforma, mely az összes hatásmechanizmusú antidepresszáns kezelésre reagál, a lebegés (immobilitás). Kísérletünk során az AVP- állatok ugyan kevesebbet lebegtek, mint az AVP+ egyedek, de ez a különbség nem érte el a 0,05-ös szignifikancia szintet (27. ábra A rész). Ha 5 perces periódusokra lebontva vizsgáltuk a 15 perces teszt során tapasztaltakat (27. ábra B rész), eltérő tendenciát figyelhettünk meg a két genotípus között: míg az AVP+ állatok a második 5 percben többet lebegtek, mint az elsőben, addig az AVP- állatok kevesebbet, de ezek a változások sem voltak szignifikánsak.

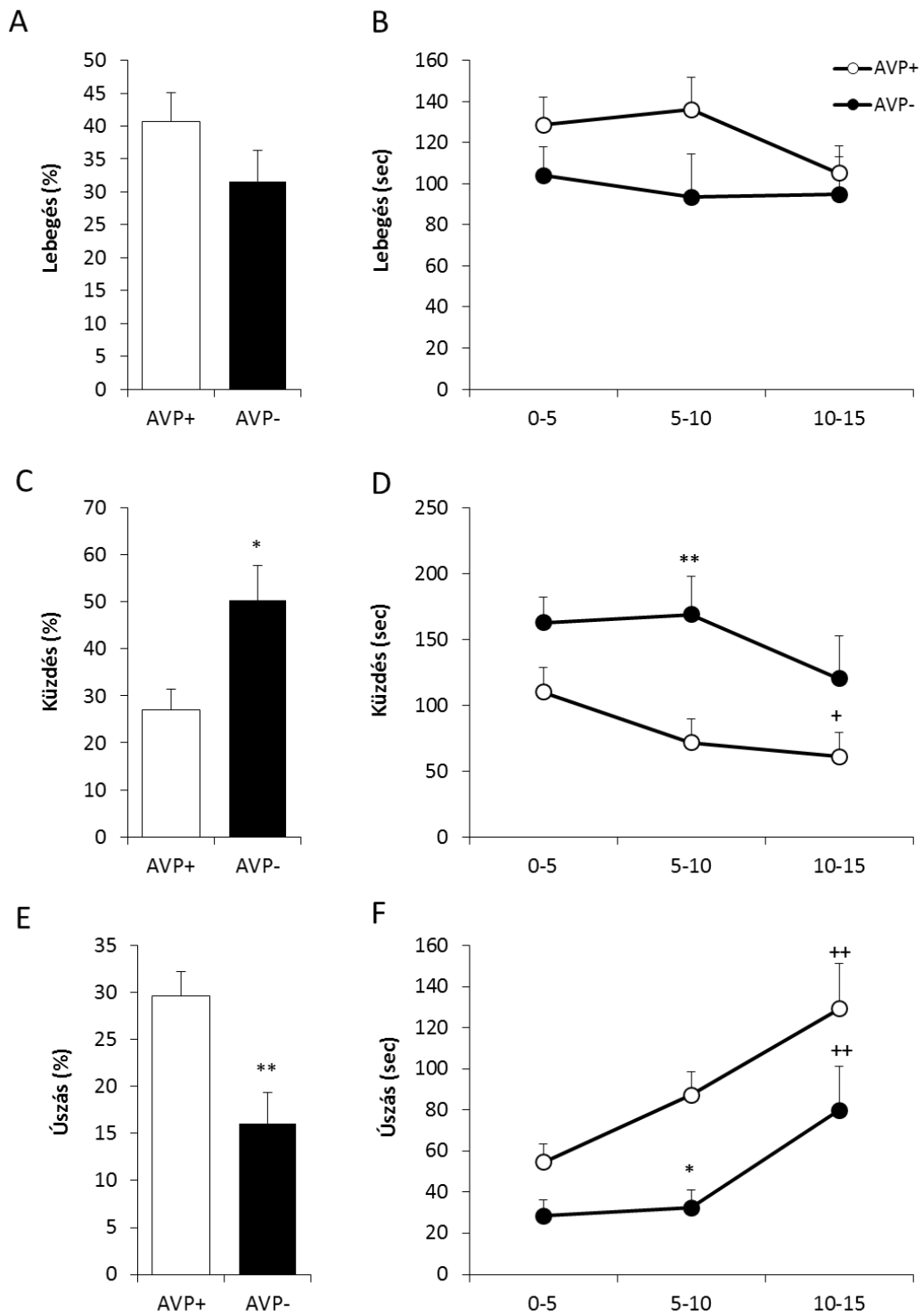
A fentiekkel ellentétben a leginkább a noradrenalin visszavétel-gátló antidepresszáns kezelésre jól reagáló küzdéssel töltött idő (27. ábra C rész) szignifikáns eltérést mutatott a genotípusok közt (genotípus hatás:  $F_{(1,14)}=6,24$ ;  $p<0,05$ ), azaz a hím Brattleboro állatokban tapasztaltakkal összhangban az AVP-hiányos anyák is szignifikánsan többet küzdöttek az AVP-vel rendelkező egyedekhez képest. A küzdés gyakorisága az AVP+



csoportban egyenletesen csökkent az idő előrehaladtával (27. ábra D rész), míg az AVP-hiányos anyák mind az első 5, mind a második 5 perc során nagyon sokat küzdöttek és csak az utolsó 5 percre hagytak alább ezzel a tevékenységgel (időhatás:  $F_{(2,26)}=4,67$ ;  $p<0,05$ ). A genotípus hatás a középső 5 percben volt a legkifejezettebb ( $p<0,01$ ).

A szelektív szerotonin visszavétel-gátló (SSRI) antidepresszáns kezelésre legjobban reagáló magatartási változó az úszással töltött idő mennyisége (27. ábra E és F rész). Itt is szignifikáns genotípus hatást tapasztaltunk (genotípus hatás:  $F_{(1,14)}=9,28$ ;  $p<0,01$ ), mivel az AVP- anyák kevesebb ideig úsztak, mint az AVP+ anyák. Ennek a magatartásformának az előfordulása az idő előrehaladtával nőtt (időhatás:  $F_{(2,26)}=12,32$ ;  $p<0,01$ ). Bár az első 5 percben, amikor mindegyik állat viszonylag keveset úszik, nem figyelhetünk meg különbséget a genotípusok közt, de a teszt második 5 perce során az AVP- állatok szignifikánsan kevesebb időt töltenek úszással és a küzdést ők csak az utolsó 5 perc során cserélik fel a sokkal passzívabb úszásra.

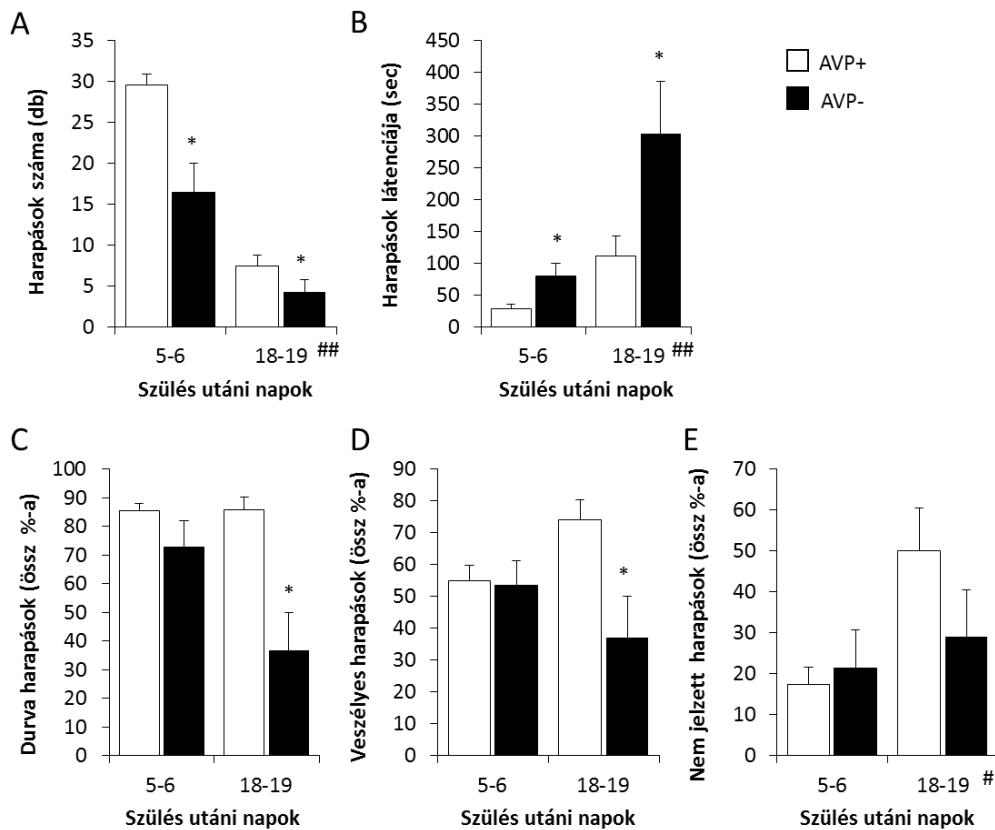
A negyedik megfigyelt viselkedés, a bűvárkodás 0,5 %-nál is kevesebbszer fordult elő és nem tapasztaltunk különbséget a genotípusok közt, így ez a magatartásforma nem került ábrázolásra.



27. ábra A 15 perces kényszeres úszás teszt során a lebegés (A), küzdés (C) és úszás (E) időszázaléka és 5 perces intervallumokra bontott, az adott mozgással eltöltött idő (B, D, F) \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  vs. AVP+ genotípus; +  $p < 0,05$ , ++  $p < 0,01$  vs. első 5 perc

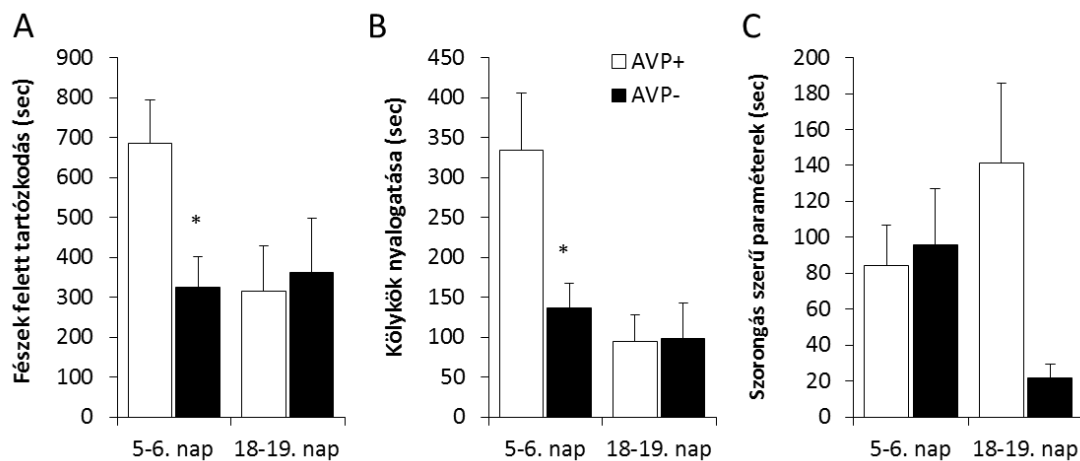
#### 4.2.2. Anyai agresszió

A harapások száma (28. ábra A rész) a laktáció elején (5-6. nap) extrém magas volt, azonban a 18-19. napra lecsökkent (időhatás:  $F_{(1,21)}=40,11$ ;  $p<0,01$ ). AVP hiányában az anyák szignifikánsan kevesebbet haraptak mindkét időpontban, mint a másik csoport tagjai (genotípus hatás:  $F_{(1,21)}=6,08$ ;  $p<0,05$ ), interakció nem mutatkozott a két hatás között. A harapások látenciájáról (28. ábra B rész) ugyanez mondható el (időhatás:  $F_{(1,21)}=18,62$ ;  $p<0,01$ ; genotípus hatás:  $F_{(1,21)}=7,04$ ;  $p<0,05$ ). Interakciót találtunk a genotípus és az idő hatása között a durva harapások számának (genotípus x idő interakció:  $F_{(1,21)}=7,15$ ;  $p<0,05$ ; 28. ábra C rész) és a sérülékeny területekre történő harapások számának (genotípus x idő interakció:  $F_{(1,21)}=6,85$ ;  $p<0,05$ ; 28. ábra D rész) megvizsgálásakor. Mindkét paraméternél az AVP-hiányos anyák csak a későbbi időpontban mutattak csökkenést az AVP-vel rendelkezőkhöz képest. A nem jelzett harapásokra csak az idő volt szignifikáns hatással (időhatás:  $F_{(1,21)}=7,21$ ;  $p<0,05$ ; 28. ábra E rész).



28. ábra Anyai agresszió vizsgálata során a harapások száma (A) és látenciája (B), valamint a durva (C), a veszélyes (D) és a nem jelzett (E) harapások %-os megoszlása \* $p<0,05$  vs. AVP+; # $p<0,05$  vs. 5-6 nap

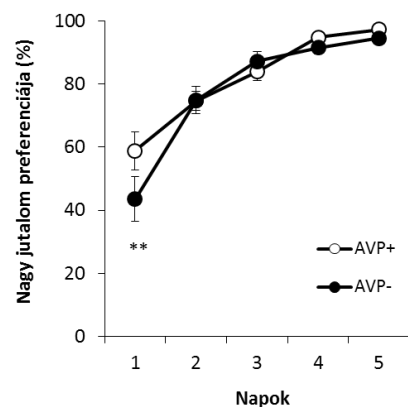
A spontán anyai magatartást a 10 perces agresszió teszt után is megvizsgálva azt tapasztaltuk (29. ábra), hogy az 5-6. és 18-19. napok között szignifikánsan csökkent az utódgondozó magatartás (fészek felett tartózkodás = AB+B+P: időhatás:  $F_{(1,13)}=2,75$ ;  $p>0,05$ ; Kölykök nyalogatása, LG: időhatás:  $F_{(1,18)}=6,57$ ;  $p<0,05$ ). Előző eredményeinkkel összhangban AVP hiányában az anyák az 5-6. napon szignifikánsan kevesebb időt töltöttek el a fészek felett (genotípus hatás:  $F_{(1,20)}=6,84$ ;  $p<0,05$ ; 29. ábra A rész) és a kölyköket kevesebbet nyalogatták (genotípus hatás:  $F_{(1,20)}=4,77$ ;  $p<0,05$ ; 29. ábra B rész). Ez a különbség azonban a későbbi időpontra már eltűnt (genotípus x idő interakció: fészek felett:  $F_{(1,13)}=3,25$ ;  $p>0,05$ ; LG:  $F_{(1,18)}=3,06$ ;  $p>0,05$ ). A szorongás-szerű paraméterek előfordulása a szoptatás későbbi időpontjára az AVP+ anyáknál nőtt (időhatás:  $F_{(1,21)}=0,15$ ;  $p>0,05$ ). Ekkor az AVP-hiányos állatok kevesebb időt töltöttek ezzel a magatartással (genotípus hatása:  $F_{(1,21)}=0,89$ ;  $p>0,05$ , genotípus x idő interakció:  $F_{(1,21)}=3,7$ ;  $p=0,06$ ; 29. ábra C rész).



29. ábra Anyai magatartás az agresszió teszt utáni 20 percben \* $p<0,05$  vs. AVP+

#### 4.2.3. Impulzív viselkedés

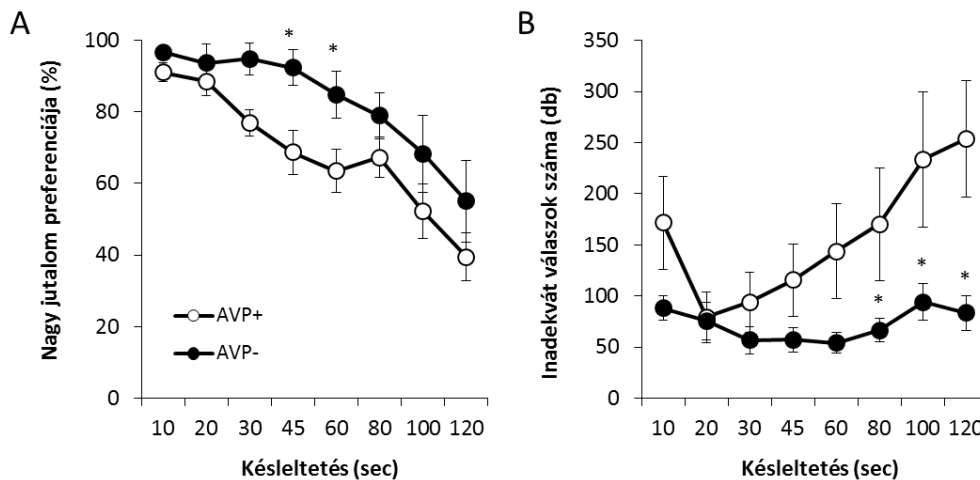
A laktáló anyaállatok nagy jutalom preferenciája szignifikánsan nőtt a *tréning fázis* napjai során (napok hatása:  $F_{(4,72)}=34,99$ ;  $p<0,01$ ; 30. ábra) mindkét genotípusban hasonló módon. Egy marginális kapcsolat mutatkozott a tréning fázis napjai és a genotípus között (interakció:  $F_{(4,72)}=2,47$ ;  $p=0,05$ ), ugyanis az AVP-hiányos egyedek



30. ábra A tréning fázis során a nagy jutalom preferenciája \*\* $p<0,01$  vs. AVP+

alacsonyabb nagy jutalom preferenciát mutattak a tréning fázis első napján a kontroll állatokhoz viszonyítva. Ez a különbség azonban nem maradt fenn a következő napokon. Összegezve, a laktáló patkányok tanulási képességeit nem befolyásolta az AVP.

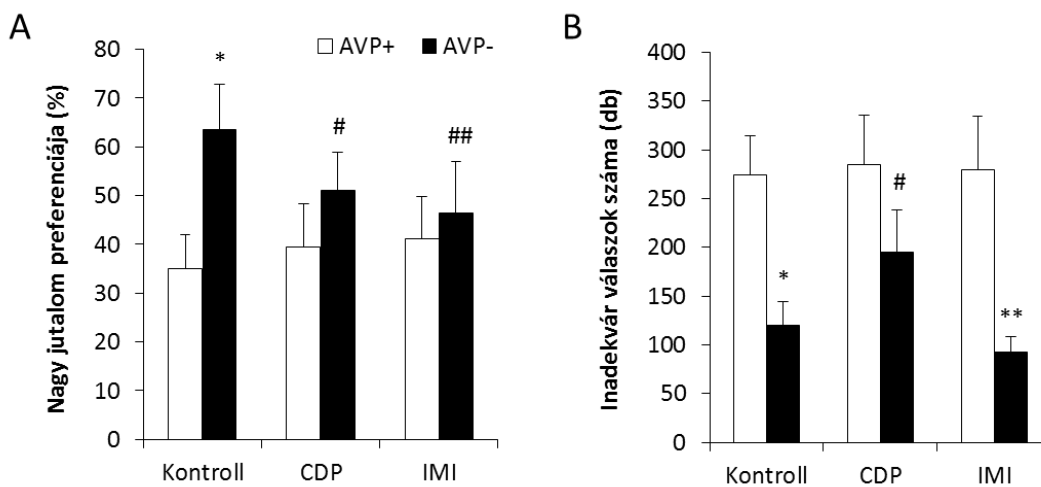
A *teszt fázis napjai* folyamán a laktáló nőstények nagy jutalom preferenciája csökkent (késleltetés hatása:  $F_{(7,126)}=22,09$ ;  $p<0,01$ ; 31. ábra A rész). Az AVP-hiányos laktáló anyák nagy jutalom preferenciája magasabb volt, mint az AVP-t expresszálóknak (genotípus hatás:  $F_{(1,18)}=5,13$ ;  $p<0,05$ ), vagyis a döntési impulzivitás szintje alacsonyabbnak mutatkozott. Nem volt megfigyelhető szignifikáns interakció a genotípus és a késleltetés között. Az inadekvát válaszok száma a teszt fázis folyamán a késleltetés növelésével szignifikánsan növekedett (késleltetés hatása:  $F_{(7,126)}=11,36$ ;  $p<0,01$ ), azonban a genotípus hatás csak marginálisan jelentkezett (genotípus hatás:  $F_{(1,18)}=3,7$ ;  $p=0,07$ ; 31. ábra B rész). Ugyanakkor szignifikáns interakció mutatkozott a genotípus és a késleltetés között is ( $F_{(7,126)}=6,2$ ;  $p<0,01$ ). Az inadekvát válaszok számának (vagyis a motoros impulzivitás) növekedése nagyobb volt a kontroll állatokban, mint az AVP-hiányos egyedekben.



31. ábra A teszt fázis során a nagy jutalom preferenciája (A) és az inadekvát válaszok száma (B) \* $p<0,05$  vs. AVP+

A *farmakológiai kezelések* során a nagy jutalom preferenciára nem volt szignifikáns hatása külön sem a genotípusnak, sem a kezeléseknek (32. ábra A rész). Viszont a genotípus és a kezelés szignifikáns interakciót mutatott ( $F_{(2,36)}=5,29$ ;  $p<0,01$ ). A post hoc analízisből kiderült, hogy a vivőanyaggal kezelt (kontroll) csoportoknál az AVP-állatok impulzivitása szignifikánsan kisebb volt ( $p<0,05$ ), és mind a CDP-, mind az IMI- kezelés szignifikánsan csökkentette a nagy jutalom preferenciáját (vagyis a döntési

impulzivitását növelte) AVP-t nem expresszáló egyedekben a vivőanyag-kezeléshez viszonyítva, míg az AVP+ állatoknál nem változtatta meg. Az inadekvát válaszok száma esetén a genotípus és a kezelés közötti interakció marginális szignifikanciát mutatott ( $F_{(2,36)}=2,76$ ;  $p=0,08$ ), ugyanis a kezelés által kiváltott változások csak AVP hiányában jelentkeztek (32. ábra B rész). Az AVP- csoportnál mindhárom kezelés esetén alacsonyabb volt az inadekvát válaszok száma (és így a motoros impulzivitása) az AVP+ egyedekhez viszonyítva (genotípus hatás:  $F_{(1,18)}=7,4$ ;  $p<0,05$ ), továbbá a kezelések hatása is szignifikáns volt (kezelés hatás:  $F_{(2,36)}=3,7$ ;  $p<0,05$ ): a CDP-kezelés szignifikánsan növelte azt a vivőanyag-kezelt állatokhoz képest.

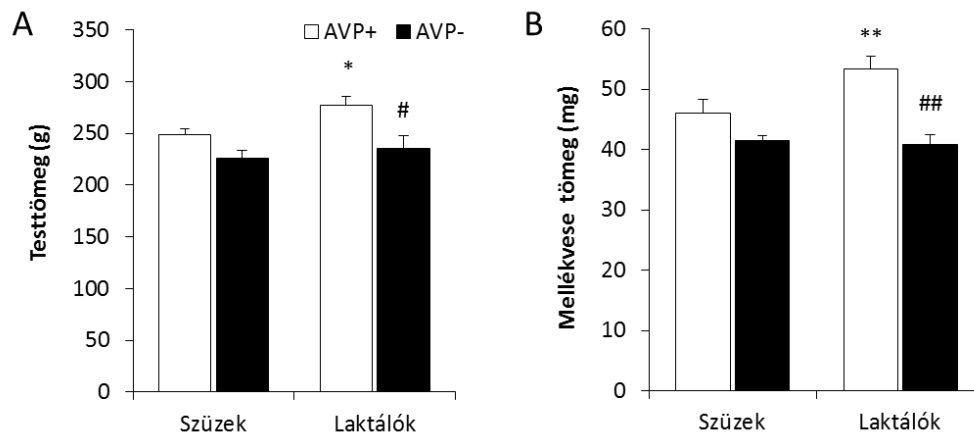


32. ábra A kezelések hatása a nagy jutalom preferenciájára (A) és az inadekvát válaszok számára (B) \* $p<0,05$  és \*\* $p<0,01$  vs. AVP+; # $p<0,05$  és ## $p<0,01$  vs. Kontroll

### 4.3. Stressz-tengely működésének vizsgálata

#### 4.3.1. Szomatikus paraméterek

A kölykök elválasztásának idejére (ellés után 20-22 nappal) az anyák testtömege (33. ábra A rész) még mindig magasabb volt, mint a szűz egyedeké, de az AVP-hiányosoknak szignifikánsan alacsonyabb volt az AVP+ csoporthoz képest (genotípus hatás:  $F_{(1,36)}=12,78$ ;  $p<0,01$ ; reprodukzív állapot hatása:  $F_{(1,36)}=4,55$ ;  $p<0,05$ ; nincs interakció). Az AVP- genotípusú állatok mellékveséje kisebbnek mutatkozott (genotípus hatás:  $F_{(1,36)}=23,74$ ;  $p<0,01$ ; 33. ábra B rész). Az anyaság és a laktáció csak az AVP+ csoportnál eredményezett szignifikáns mellékvese-tömeg növekedést (genotípus x reprodukzív állapot interakció:  $F_{(1,36)}=5,31$ ;  $p<0,05$ ).



33. ábra Fiziológiai paraméterek: Testtömeg az ellés után 20-22 nappal (A) és mellékvese tömeg (B)\* $p < 0,05$  és \*\* $p < 0,01$  vs. szüzek; # $p < 0,05$  és ## $p < 0,01$  vs. AVP+

#### 4.3.2. Stressz-tengely alapaktivitása

A *CRH mRNS* szint a PVN-ben szignifikánsan alacsonyabb volt az AVP-hiányos állatokban (genotípus hatás:  $F_{(1,24)}=16,5$ ;  $p < 0,01$ ; 34. ábra A rész). A laktáló anyáknak a *CRH* szintje megemelkedett a szüzekhez képest (reproduktív állapot hatása:  $F_{(1,24)}=9,44$ ;  $p < 0,01$ ), de post hoc elemzéssel kitűnik, hogy ez csak az AVP+ egyedekben történt így (genotípus x reproduktív állapot interakció:  $F_{(1,24)}=7,52$ ;  $p=0,01$ ).

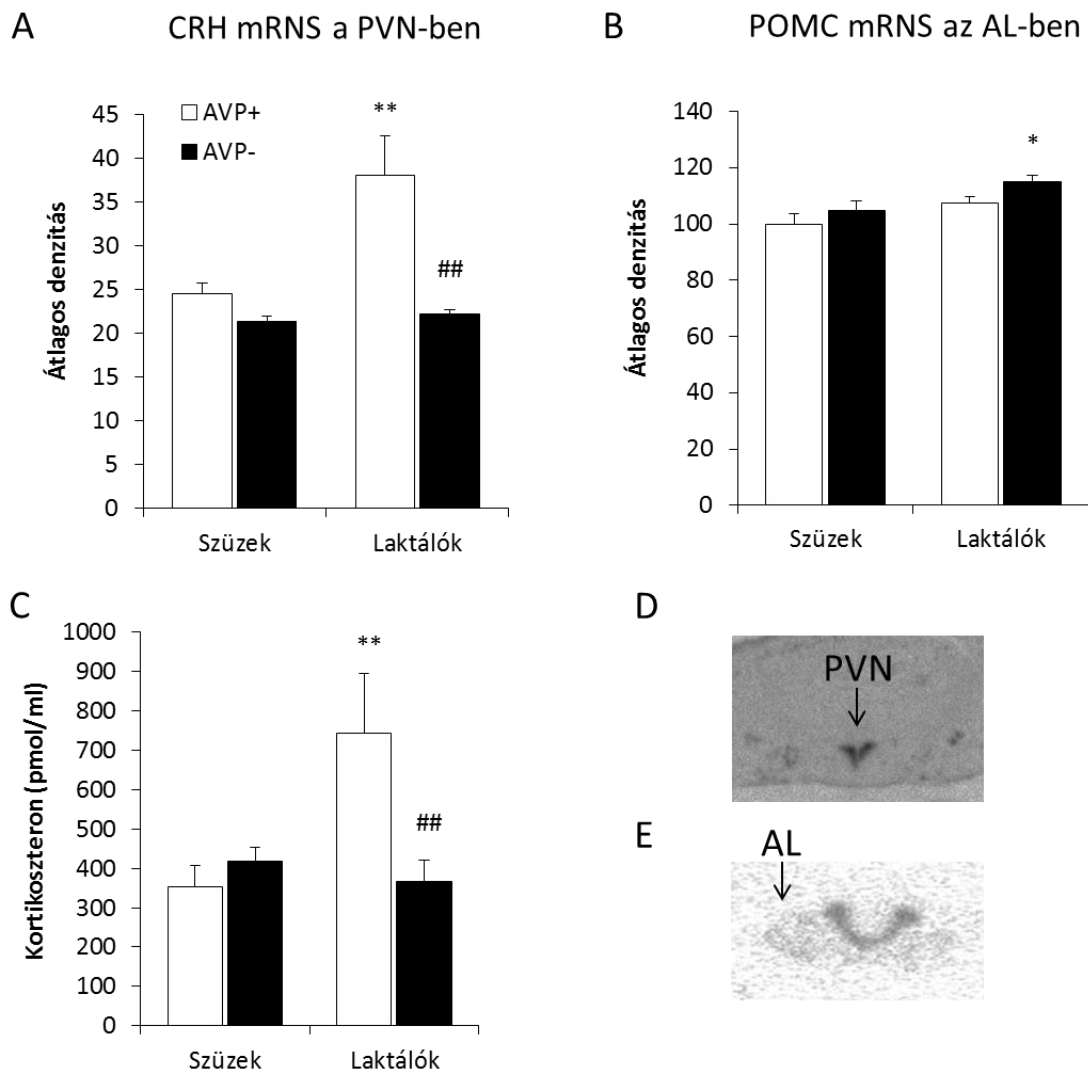
A hypothysis elülső lebenyében mért *POMC mRNS* esetében (34. ábra B rész) mind a genotípus, mind a reproduktív állapot szignifikáns expresszió emelkedést okozott, de interakció nélkül (genotípus hatás:  $F_{(1,24)}=4,39$ ;  $p < 0,05$ ; reproduktív állapot hatása:  $F_{(1,24)}=8,83$ ;  $p < 0,05$ ).

A plazma *ACTH* szintekben (5. táblázat) nem találtunk szignifikáns eltérést sem a genotípusok, sem a különböző reproduktív állapotban lévő csoportok között.

5. táblázat Plazma ACTH szintek (fmol/ml)

<i>ACTH</i> (fmol/ml)	Szűz	Laktáló
AVP+	31,72±4,9	34,2±6,9
AVP-	35,3±3,8	35,5±5,0

A kortikoszteron szintje (34. ábra C rész) a laktáló AVP+ anyáknak szignifikánsan magasabb volt, mind a szüzekhez, mind az AVP- csoporthoz képest (genotípus x reproduktív állapot interakció:  $F_{(1,58)}=5,86$ ;  $p=0,01$ ).



**34. ábra** Stressz-tengely paramétereinek változása az ellés után 20-22 nappal CRH mRNS szint a PVN-ben (A és D), a POMC mRNS szintje a hypophysis első lebenyében (AL) (B és E) és a plazma kortikoszteron koncentrációja (C) \* $p < 0,05$  és \*\* $p < 0,01$  vs. szüzek; ## $p < 0,01$  vs. AVP+

### 4.3.3. Stresszorok hatása

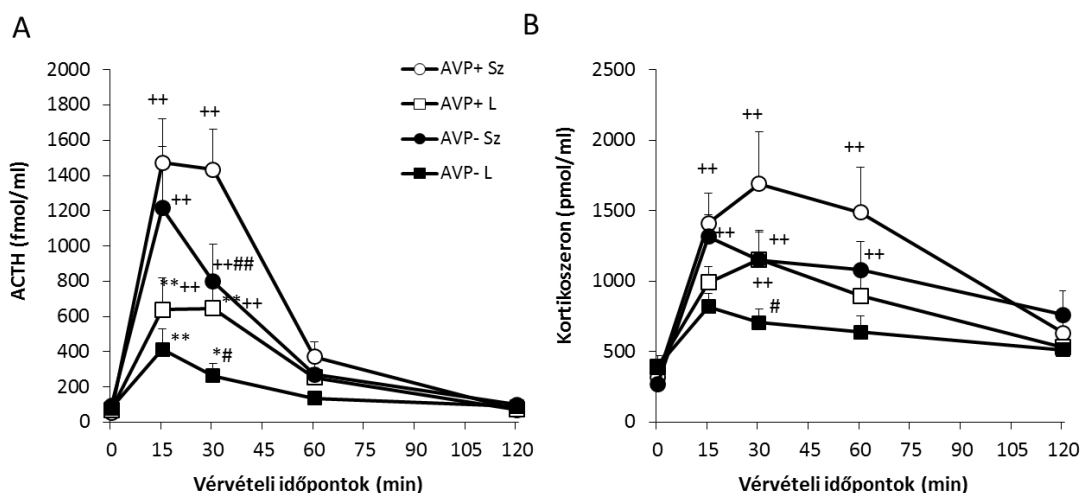
#### a) Intravénás tojásfehérje és az általa okozott HPA-tengely aktiváció

A tojásfehérje iv. beadását követően minden csoportnál megemelkedett az ACTH szekréció (35. ábra A rész) (időhatás:  $F_{(4,200)}=48,23$ ;  $p < 0,01$ ). Az emelkedés csúcsa a beadást követő 15. perces vérvételi időpontnál volt látható, majd a 30-60 perces időpontok között kezdett el csökkenni és 120 perccel a beadást követően visszatért az alapszintre. Az AVP-hiányos állatok (szüzek és laktálók esetén is) alacsonyabb ACTH-szint emelkedéssel reagáltak erre a stresszorra, mint az AVP-t expresszáló egyedek (genotípus hatás:  $F_{(1,50)}=3,95$ ;  $p=0,05$ ). A laktáló csoport a szüzekhez képest kevésbé



mutatott ACTH emelkedést függetlenül a genotípustól (reproduktív állapot hatása:  $F_{(1,50)}=13,36$ ;  $p<0,01$ ).

A kortikoszteron szint (35. ábra B rész) az ACTH-hoz hasonlóan, szintén megemelkedett az injekció hatására (időhatás:  $F_{(4,192)}=25,95$ ;  $p<0,01$ ). Az anyaállatok alacsonyabb kortikoszteron szintet mutattak a genotípustól függetlenül (reproduktív állapot hatása:  $F_{(1,48)}=5,88$ ;  $p<0,05$ ). Az AVP-hiányos állatoknál csak egy tendenciát lehetett megfigyelni a kisebb mértékű szintemelkedésre (genotípus hatás:  $F_{(1,48)}=3,28$ ;  $p=0,07$ ). Az AVP+ állatok kortikoszteron szintje a 15. és a 30. perc közötti időintervallumban még emelkedett, addig az AVP-hiányos állatoké már elkezdett csökkenni. Erre a két időpontra elvégezve a statisztikai elemzést szignifikáns interakció adódott az idő és a genotípus között (genotípus x idő interakció:  $F_{(1,51)}=4,91$ ;  $p<0,05$ ). Ugyanezt megvizsgálva az ACTH esetében, csak marginális interakció látható (genotípus x idő interakció:  $F_{(1,52)}=3,15$ ;  $p=0,08$ ).



35. ábra Tojásfehérje iv. beadását követő plazma ACTH (A) és kortikoszteron (B) szintek (Sz: szüzek, L: laktáló állatok) \* $p<0,05$  és \*\* $p<0,01$  vs. szüzek; # $p<0,05$  és ## $p<0,01$  vs. AVP+; + $p<0,05$  és ++ $p<0,01$  vs. 0 perc

### b) Intraperitonealis inzulin injekció és az általa kiváltott hipoglikémia hatása

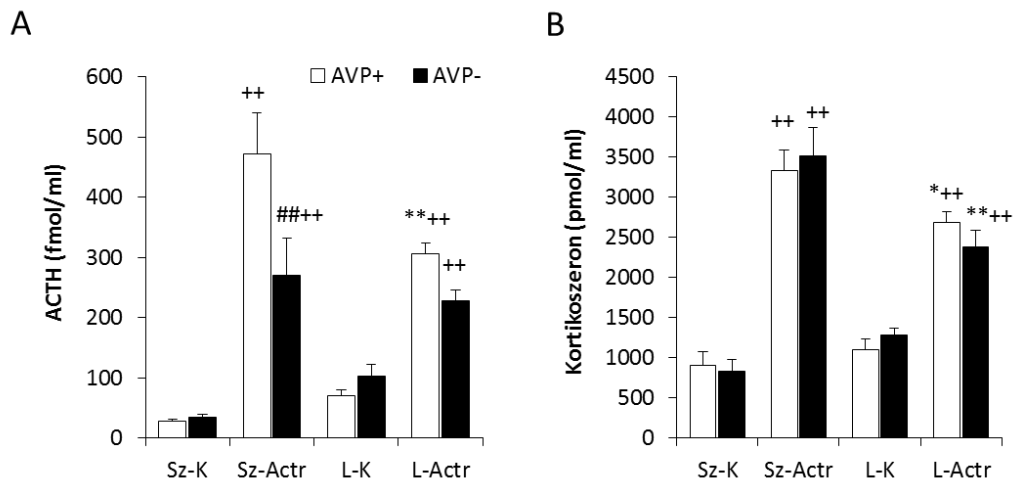
Az Actrapid injekciót követően az állatok vércukorszintje szignifikánsan lecsökkent minden csoportnál (kezelés hatása:  $F_{(1,55)}=105,13$ ;  $p<0,01$ ) (6. táblázat). Nem találtunk különbséget sem a genotípusok, sem a különböző reprodukciós állapotú állatok között.

6. táblázat Vércukorszintek (mmol/l) egy órával az Actrapid (3NE/2ml/kg ip.) és a kontroll injekció után.

AVP+		AVP-	
Kontroll	Stresszelt	Kontroll	Stresszelt
<i>Szűz</i>			
5,10±0,28	2,98±0,33	4,30±0,28	2,79±0,39
<i>Laktáló</i>			
4,90±0,18	2,19±0,12	4,84±0,18	2,77±0,38

A hipoglikémia hatására szignifikáns *ACTH* emelkedés következett be (kezelés hatása:  $F_{(1,55)}=131,96$ ;  $p<0,01$ ; 36. ábra A rész). Az AVP-hiányos állatoknál szignifikánsan kisebb mértékű volt a növekedés (genotípus hatás:  $F_{(1,55)}=7,15$ ;  $p<0,01$ ; genotípus x kezelés interakció:  $F_{(1,55)}=12,34$ ;  $p<0,01$ ). A laktációnak önmagában nem volt szignifikáns hatása, viszont csökkentette az *ACTH* szintjének emelkedését (reproduktív állapot x kezelés interakció:  $F_{(1,55)}=12,43$ ;  $p<0,01$ ). A genotípus és a reprodukciós állapot között interakció nem mutatkozott.

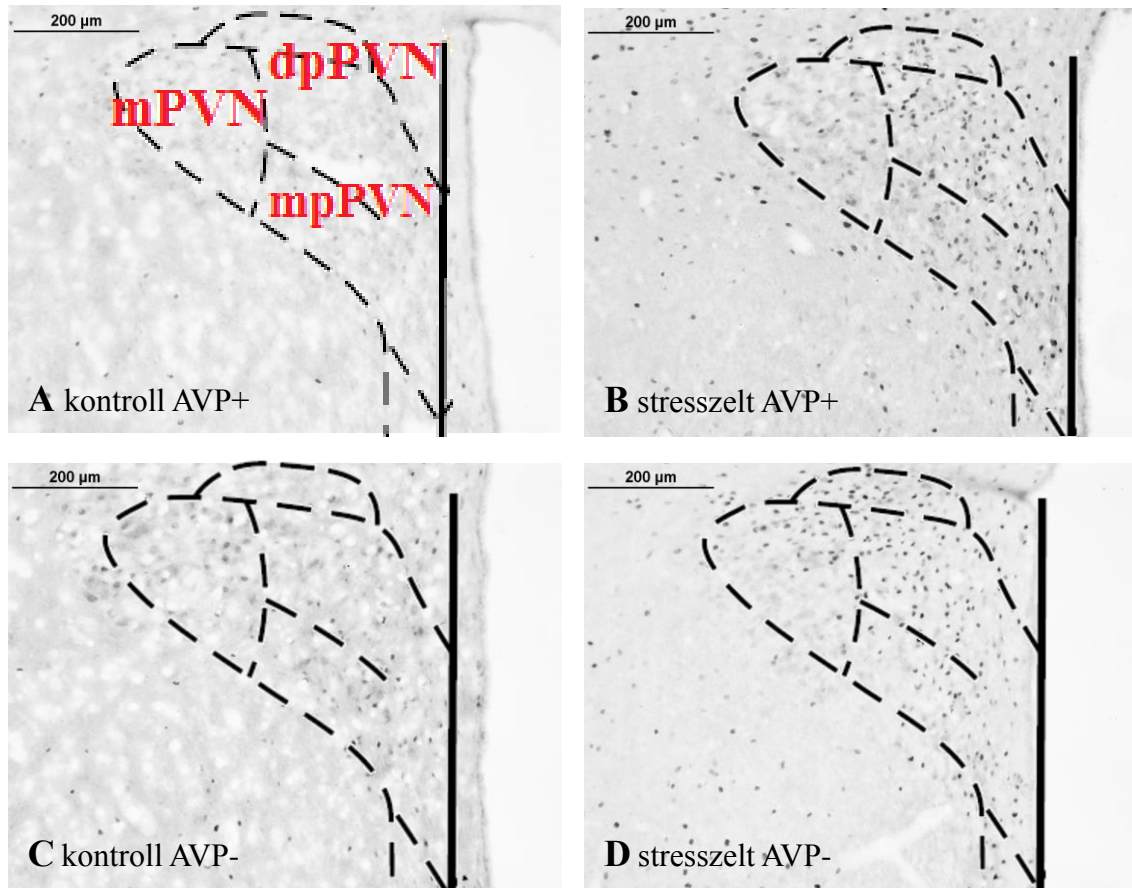
A *kortikoszteron* szintjében is szignifikáns emelkedést okozott az Actrapid injekció a fiziológiás sóoldathoz képest (kezelés hatása:  $F_{(1,55)}=172,74$ ;  $p<0,01$ ; 36. ábra B rész). A genotípusnak azonban nem volt hatása rá, míg a laktáció csökkentette azt (reproduktív állapot:  $F_{(1,55)}=3,58$ ;  $p=0,06$ ; reproduktív állapot x kezelés interakció:  $F_{(1,55)}=16,62$ ;  $p<0,01$ ). A genotípus és a reprodukciós állapot között interakció nem mutatkozott.



36. ábra Actrapid ip. beadását követő plazma *ACTH* (A) és *kortikoszteron* (B) szintek (Sz: szűz; L: laktáló; K: kontroll; Act: Actrapid injekciót kapott) \* $p<0,05$  és \*\* $p<0,01$  vs. szüzek; # $p<0,05$  és ### $p<0,01$  vs. AVP+; + $p<0,05$  és ++ $p<0,01$  vs. kontroll

#### 4.4. Immuncitokémiai vizsgálatok

##### 4.4.1. PVN alrégiók

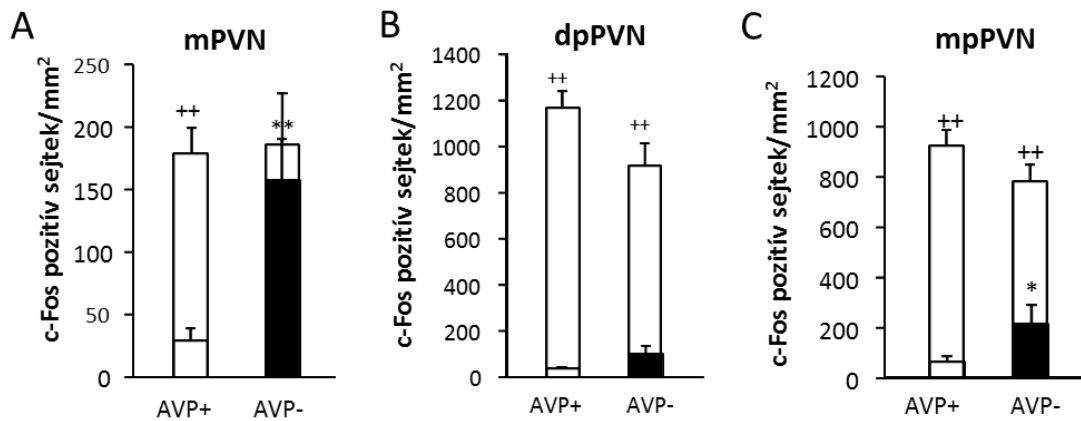


37. ábra PVN területek: mPVN (magnocellularis), dpPVN (dorsalis parvocellularis), mpPVN (medialis parvocellularis)

A PVN magnocellularis régiójának (*mPVN*) bazális (kontroll állatokban mért) c-Fos aktivitásában az AVP- patkányokban szignifikánsan magasabb szinteket észleltünk, mint az AVP+ genotípusúakban (genotípus hatás:  $F_{(1,6)}=21,6$ ;  $p<0,01$ ; 37. ábra A vs. C rész). Ennek ellenére stressz hatására csak az AVP+ állatokban volt szignifikáns az aktivitás emelkedés mértéke (hatszoros; stressz hatás:  $F_{(1,19)}=$ ;  $p<0,01$ ; 37. ábra A vs. B rész), s a két genotípus stressz utáni c-Fos aktivitása között nem találtunk különbséget (37. ábra B vs. D rész; 38. ábra A rész).

A dorsalis parvocellularis PVN-ben (*dpPVN*) a bazális c-Fos aktivitásra a genotípus csak marginálisan hatott (genotípus hatás:  $F_{(1,6)}=4,53$ ;  $p=0,07$ ). Stressz hatására szignifikáns emelkedést lehetett kimutatni (stressz hatás:  $F_{(1,19)}=103,4$ ;  $p<0,01$ ; 38. ábra B rész). Az AVP+ állatoknál harmincszoros, míg a másik csoportnál kilencszeres aktivitás emelkedés következett be.

A medialis parvocellularis PVN-ben (*mpPVN*) a bazális c-Fos aktivitás az AVP-egyedekben szignifikánsan magasabb volt az AVP+ csoporthoz képest (genotípus hatás:  $F_{(1,6)}=6,52$ ;  $p<0,05$ ), viszont ez a csoport kevésbé reagált a stresszre (négyeszeres vs. tizennégyeszeres; 38. ábra C rész). Ugyan az általános stressz-hatás jelentősnek bizonyult (stressz hatás:  $F_{(1,19)}=100,0$ ;  $p<0,01$ ), s így az AVP- genotípusú anyák esetén is szignifikáns aktivitás növekedés volt megfigyelhető, de a stressz és genotípus hatásának interakciója marginális szignifikanciát mutatott (genotípus x stressz interakció:  $F_{(1,19)}=4,2$ ;  $p=0,055$ ), ami a genotípusok eltérő stressz-reaktivitására utal.

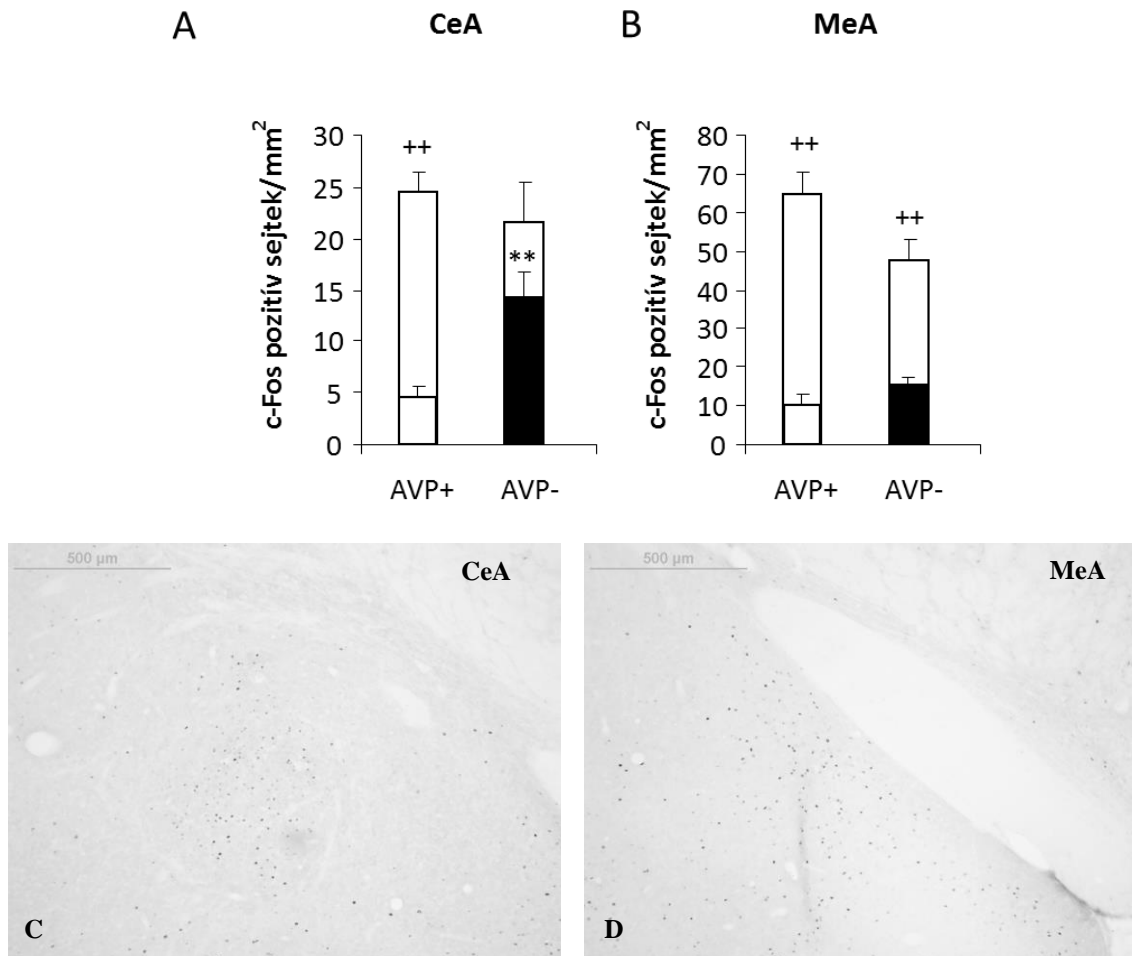


38. ábra A PVN alrégióinak bazális (alacsonyabb oszlopok) és 15 perces FST utáni (stressz; magasabb oszlopok) c-Fos aktivitása  
\*  $p<0,05$  vs. AVP+; ++  $p<0,01$  vs. bazális

#### 4.4.2. CeA és MeA

Az AVP-hiányos patkányok centralis amygdalájának (*CeA*) bazális szintje szignifikánsan magasabb volt, mint az AVP+ genotípusé (genotípus hatás:  $F_{(1,7)}=15,38$ ;  $p<0,01$ ; 39. ábra A és C rész). A stressz által kiváltott aktivitás emelkedést itt is megfigyelhettük (stressz hatás:  $F_{(1,20)}=15,21$ ;  $p<0,01$ ), bár ez igazán csak az AVP+ egyedekben volt jelentős (ötszörös vs. másfélszeres).

A medialis amygdalánál (*MeA*) az AVP- anyák nem mutattak jelentősen magasabb alapszinteket (39. ábra B és D rész). Bár mindegyik genotípusnál jelentős aktivitás emelkedést lehetett megfigyelni (hatszoros vs. háromszoros; stressz hatás:  $F_{(1,20)}=60,73$ ;  $p<0,01$ ), az AVP-hiányos anyák stresszelt szintjei marginálisan szignifikánsan alacsonyabbak voltak az AVP+-okhoz képest ( $F_{(1,13)}=4,50$ ;  $p=0,054$ ).



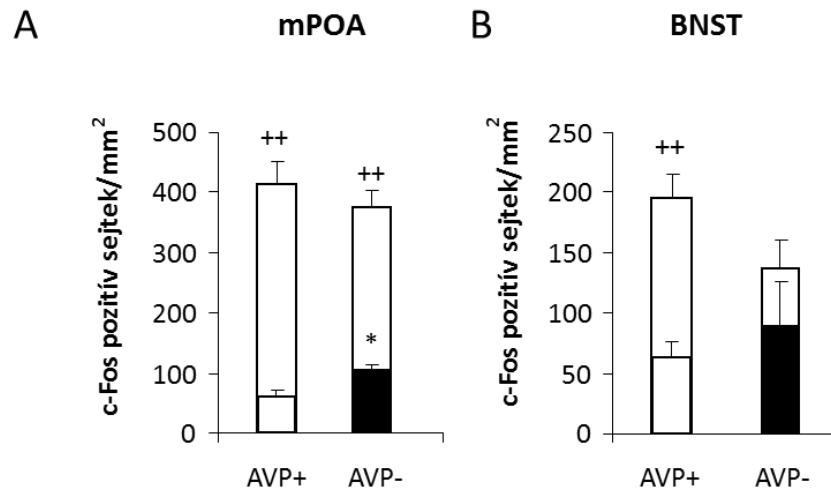
**39. ábra A centralis (A) és medialis (B) amygdala c-Fos aktivitása és a lefényképezett területek (C és D) Bazális aktivitás: alacsonyabb oszlopok, stresszelt szintek: magasabb oszlopok.**

\*\*  $p < 0,01$  vs. AVP+; ++  $p < 0,01$  vs. bazális

#### 4.4.3. *mPOA* és *BNST*

Az AVP- anyák *mPOA*-jában a bazális c-Fos jel szignifikánsan magasabb volt, mint az AVP+ genotípusúakban (genotípus hatás:  $F_{(1,5)}=9,13$ ;  $p < 0,05$ ; 40. ábra A rész). A stressz által kiváltott aktivitás emelkedés itt is mindkét genotípusnál bekövetkezett (hétszeres vs. háromszoros; stressz hatás:  $F_{(1,19)}=67,44$ ;  $p < 0,01$ ).

A *BNST*-ben az alap és a stresszelt szintekben sem találtunk a genotípusok között eltérést. A stressz szignifikáns emelkedést csak az AVP+ állatokban okozott (háromszoros vs. másfeles; stressz hatás:  $F_{(1,19)}=9,65$ ;  $p < 0,01$ ; 40. ábra B rész).



**40. ábra Az mPOA (A) és a BNST (B) c-Fos aktivitása**  
 Bazális aktivitás: alacsonyabb oszlopok, stresszelt szintek: magasabb oszlopok.  
 \*  $p < 0,05$  vs. AVP+; ++  $p < 0,01$  vs. bazális

## 5. Megbeszélés

Laktáló Brattleboro patkányokon végzett jelen kísérleteink eredményei szerint az AVP veleszületett hiánya befolyásolja a patkányok **anyai viselkedését**. A spontán anyai magatartások közül a patkánykölykök szomatikus fejlődéséhez elengedhetetlen szoptatás gyakoriságában az AVP- anyák nem mutattak különbséget, de a szoptatás módja eltért a genotípusok között. Az AVP-hiányos anyák (DDAVP perifériás pótlása után még inkább) többet szoptatták kölykeiket passzív szoptató pozícióban, míg a nagyobb aktivitást igénylő klasszikus szoptató pozícióban (AB) kevesebbet, mint az AVP+ anyák. Az utódgondozó magatartásban (LG), mely a kölykök nyalogatásából, tisztogatásából áll, s amely akut testi változásokat (például test- és agyi hőmérséklet), valamint hosszú távú, epigenetikai módosulásokat is képes indukálni az utódokban, az AVP- anyák hiányos működést mutattak az AVP+ genotípusú anyákhoz képest. Ez az alacsonyabb LG gyakoriság magyarázattal szolgálhat a megelőző vizsgálatainkra [95], miszerint az anya genotípusa befolyásolta az utódok stressz-reaktivitását. Hiszen a kevesebbet LG-ot mutató AVP- anyák di/+ kölykeinek postnatalis stressz-reaktivitását szignifikánsan magasabbnak találtuk az AVP+ anyák kölykeihez képest, mely változás egybevág az irodalomban olvasható epigenetikai vizsgálatokkal. Eszerint az alacsony LG hatására a kölykök hippocampusában a glükokortikoid receptor expressziója alacsonyabb az emelkedett promóter régió metiláció miatt, s ezáltal a stressz-reaktivitásuk magasabb [12-14].

Felmerült, hogy az AVP- anyák só-víz háztartásának zavara miatt - mely abban nyilvánul meg, hogy az AVP-hiányában az aquaporin csatornák nem helyeződnek ki a vese gyűjtőcsatornáiba, így nem történik megfelelő vízvisszaszívás, s a szérum ozmolalitásuk magasabb, míg vizeletük ozmolalitása alacsonyabb lesz - bennük averzió alakul ki a kölykök nyalogatására, hiszen ezzel az anogenitális régióból magas ozmolalitású vizeletet vennének fel. Ebben az esetben a DI fenotípus és nem az agyi AVP-hiány vezetne kevesebb LG magatartásformához. A víz háztartás zavarát V<sub>2</sub>R agonista kezeléssel (bőr alá helyezett, dezmozopresszinnel megtöltött ozmotikus minipumpával) megszüntetve azonban a viselkedési hatások fennmaradtak, azaz megállapíthatjuk, hogy a centralis AVP-hiány áll az eltérő anyai viselkedés háttérében. A fentiek összhangban állnak Bosch és Neumann korábbi eredményeivel az AVP anyai viselkedésre irányuló centrális hatásairól, melyet más patkánytörzsön vizsgáltak [176]:

ha icv.  $V_{1a}R$  antagonistát adtak be a laktáló patkányoknak, akkor a szoptató pozíció (AB) gyakoriságában csökkenést észleltek, viszont a LG nem változott. Ha icv. AVP-t injektáltak be hosszabb időn keresztül, akkor pedig emelkedést figyeltek meg az AB előfordulásában, viszont a többi megfigyelt viselkedésminta száma nem változott. Tehát az AVP a  $V_{1a}$  receptorokon keresztül növelheti az anyai törődést. Bosch munkacsoportja high (HAB) és low anxiety behaviour (LAB) anyák kapcsán is megerősítette az AVP anyai magatartásra gyakorolt pozitív hatását [177]. A LAB állatok PVN-jében alacsonyabb AVP szinteket mutattak ki, hasonlóan a mi AVP-állatainkhoz [178]. A LAB anyák viszont mindkét tesztben (spontán és indukált) alacsony anyai gondoskodást mutattak, míg a mi kísérleteinkben az indukált anyai magatartásra úgy tűnt, hogy nincsen az AVP hatással. A különbségeket lehet magyarázni a tesztek végrehajtásában mutatkozó eltérésekkel is, mivel Neumann-ék kontrollálatlan fészekaljokon végezték a spontán anyai magatartás megfigyeléseket és az indukált anyai magatartás vizsgálatára a 3. postnatális napon került sor. Valamint a kísérleteiket operált állatokon végezték, ami szintén befolyásolhatta az eredményeket. Mivel a fészekalj mérete [144], de még az utódok neme is [146-148] befolyásolhatja az anya viselkedését, ezért fontosnak tartottuk saját vizsgálatainkban ezek kontrollálását. Coverdill és munkacsoportja krónikus stressznek kitett patkányok anyai magatartását vizsgálta: a csökkent anyai magatartásuk centralisan beadott AVP hatására javult [179].

Következő kísérletsorozatunkban azt láttuk, hogy az AVP-hiányos állatok a postpartum időszakban alacsonyabb **depresszió-szerű viselkedést** mutatnak a kontrollcsoportéhoz képest. A *kényszeres úzás tesztben* ezek az állatok szignifikánsan több időt töltöttek küzdéssel, illetve kevesebbet úzással, valamint csökkent tendenciát mutattak a lebegéssel töltött idő tekintetében is. Ez megerősíti számos, hím patkányokkal végzett kísérlet eredményét. Az AVP veleszületett hiánya, a centralis AVP receptorok blokkolása, a szisztémásan beadott specifikus  $V_{1b}R$  antagonistá, a specifikusan a PVN-be juttatott  $V_1$  vagy a bilaterális, intraseptális  $V_{1b}$  receptor blokkoló bejuttatása szintén csökkentik a lebegés gyakoriságát [56, 121, 180, 181]. Közvetlenül az amygdalába juttatott  $V_1R$  antagonistá hatására a lebegés idejének csökkenése mellett a küzdéssel töltött idő is szignifikánsan nő [182]. Az eltérő hatásmechanizmusú antidepresszánsok különböző módon hatnak az FST paramétereire [183]. Az AVP-hiány laktációkor tapasztalt hatásához a Reboxetine (mely a noradrenalin reuptake rendkívül szelektív és



hatékony gátlója; csak gyenge hatása van az 5-HT reuptake-re és nem hat a dopamin uptake-re) hatása hasonló: a küzdéssel töltött idő nő, a lebegés és az úszás gyakorisága csökken [184].

Az FST-ben tapasztaltak mellett a *cukor-preferencia tesztben* észlelt alacsonyabb anhedónia szintén alátámasztja a laktáló nőtény Brattleboro patkányok alacsonyabb depresszióra való hajlamát, ugyanúgy, mint ahogy megelőző kísérleteinkben a hím egyedeknél láthattuk [121]. A nőtényeknél használt protokollnál az alkohol preferencia is információval szolgálhat. Jelen esetben azt mondhatjuk, hogy az AVP- egyedek nem preferálták az alkoholt, vagyis antropomorfizálva megállapíthatjuk, hogy a depresszióval gyakran együtt járó alkohol fogyasztás sem jellemző rájuk [155]. Mivel a cukor-preferenciájukat hasonlítottuk össze az állatoknak, a DI-os patkányok polydipsiája nem befolyásolta az eredményeinket. A hímekkel végzett vizsgálatainkban a Brattleboro patkányok víz és 1% cukor oldat közötti választása során szintén több cukros vizet fogyasztottak. Abban a vizsgálatban az ozmotikus viszonyok, víz és kalória tartalom pont ellentéte a jelen vizsgálatunkban előforduló viszonyoknak (cukros víz szemben vízzel, illetve cukros víz szemben a cukor+alkohollal), így az alkoholos oldat relatíve alacsonyabb víz tartalma sem befolyásolhatta a Brattleboro patkányok folyadék választását. A kalóriatartalom befolyásoló hatása miatt szacharin oldattal is elvégeztük a tesztet, s ugyanazt az eredményt kaptuk. Eredményeinket alátámasztja, hogy a krónikus enyhe stressznek kitett és szívinfarktuson átesett anhedóniás patkányok cukor-preferenciája  $V_1$  receptor blokkolásával szignifikánsan megnőtt [185].

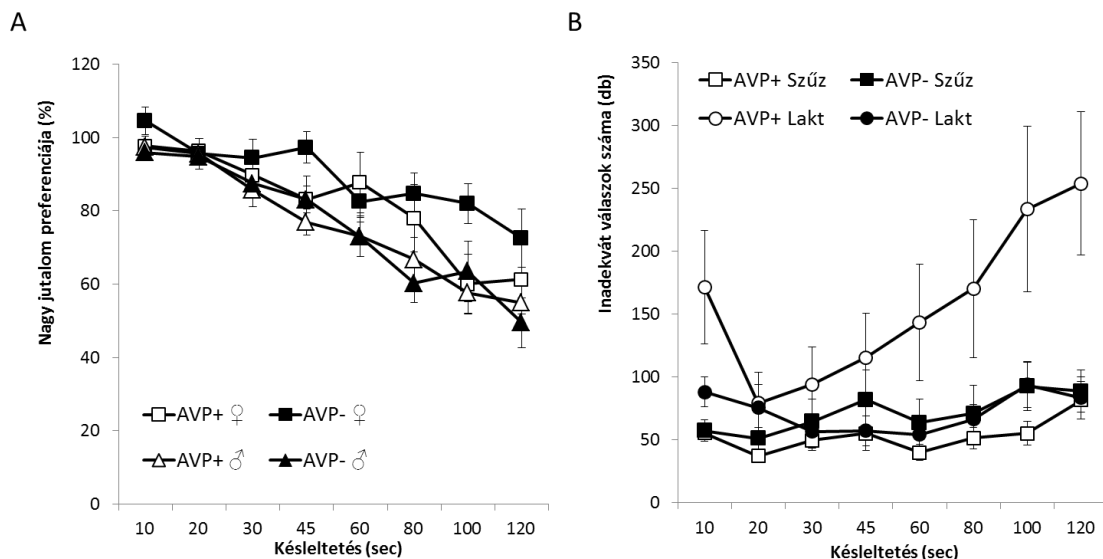
A szorongás mérésére alkalmas *megemelt keresztpalló tesztben* nem találtunk különbséget a genotípusok között a nyílt kari aktivitás paraméterében. Az irodalomban  $V_1R$  antagonistákkal végzett kísérletek során magasabb számú nyílt karba való belépést, valamint nyílt karban töltött több időt észleltek, vagyis az AVP 1-es típusú receptorának gátlásával csökkent szorongási szintet értek el [186]. Viszont a  $V_{1b}R$  antagonistákkal végzett kísérletek során ellentmondó eredményeket találtam: egyes vizsgálatokban nem találtak eltéréseket az EPM tesztben [56], míg mások szignifikáns nyílt kari aktivitás emelkedést észleltek [78]. Számos irodalmi adat szerint a patkányanyák szorongási szintje csökken a szüzekhez képest, de találni olyan tanulmányt is, mely szerint a szorongásuk nem mutat különbséget. Fleming szűz nőtények szenzitizációja kapcsán [39] hasonlította össze a szült és nem szült nőtényeket és azt találta, hogy az anyai

magatartás megjelenésével a nőstények neofóbiája és szorongási szintje csökken. Az eltérő eredmények háttérében metodikai eltérések is állhatnak, mert az anyai szorongást sok tényező befolyásolhatja, például a laktáció ideje, a fizikai kontaktus a kölykökkel a teszt előtt (összefoglalva lásd: [187]). Lonstein és más kutatócsoportok is számos kísérletben bizonyították már, hogy az első postpartum hétben azok a patkányok, amelyek az EPM előtt nem sokkal közvetlen kontaktusban voltak kicsinyeikkel, alacsonyabb szorongást mutattak a tesztben [188, 189]. Ez is hozzájárulhatott a vizsgálataink negatív kimeneteléhez, hiszen a csökkent AVP-szint szorongás csökkentő hatását a kicsikkel való kevesebb kontaktusból eredő fokozottabb szorongás ellensúlyozhatja. Mindenesetre hím Brattleboro patkányokkal végzett kísérleteinkben sem találtunk eltérést a genotípusok között [121].

AVP hiányában nem csak az anyai gondoskodó magatartás, hanem a kölykök védelmezését szolgáló **anyai agresszió** is csökkenést mutatott. Az irodalmi adatoknak megfelelően mindkét genotípus agressziójának szintje csökkent a laktáció előrehaladtával [28], de az AVP- csoportnak még így is alacsonyabb maradt az agresszivitása a későbbi időpontban is, mint az AVP+ anyáknak. A durva és a veszélyes harapások száma a korábbi időpontban nem különbözött a genotípusok között, de a későbbi időpontra az AVP- anyáknak csökkent, míg a másik csoportnak enyhén növekedett. Ezek a paraméterek az abnormális agresszió mértékével korrelálnak [106], vagyis AVP jelenlétében a laktáció idejével csökkenő agresszivitás patológiás irányba változhat. Bár elképzelhető lenne, hogy az AVP-hiányos állatok megváltozott só-víz háztartása befolyásolja a kapott eredményeket, de ozmotikus dehidratációnak kitett patkányok, akiknek a plazma nátrium szintje az AVP-hiányos állatokhoz hasonlóan emelkedett, nem mutattak eltérő agresszivitást [190]. Az agresszió tesztet követően szintén csökkent anyai magatartást találtunk az AVP- anyáknál a szoptatás korai szakaszában. A fészek felett tartózkodás és a kölykök nyalogatásának ideje a 18-19. napon a két genotípus között már nem különbözött. Úgy tűnik, hogy AVP hiányában elmarad a korai laktáció alatt észlelhető anyai magatartások gyakoriságának növekedése. Ez az anyai agresszió szintjét is befolyásolhatja, hiszen a kölykök gondozása közben az anyát érő taktilis ingereknek agressziót fokozó hatása van [26]. Mivel az AVP-hiányos anyák utódgondozó magatartása csökkent, kevesebb taktilis inger éri őket, ez pedig csökkenést okozhat az agressziójuk szintjében is. Bosch az AVP

szerepét az anyai agresszió szabályozásában is megvizsgálta a HAB/LAB törzsön [191]. Azt találta, hogy a CeA AVP tartalma az agresszívabb HAB csoportnak mind a nyugalmi értékeknél, mind a LAB csoportnál szignifikánsan magasabb volt az agresszió teszt alatt.  $V_{1a}$  receptor antagonistá beadása csökkentette ennek a csoportnak az agresszivitását, míg a LAB állatoknak AVP adása növelte azt. Összességében ennek a munkának az eredményét megerősítettük, ugyanis az AVP-hiányos állatainkhoz hasonló, csökkent AVP szintű (MeA, BNST, agresszió alatt a CeA) LAB anyák kevésbé agresszívek, kevésbé szorongók és rosszabb anyák, mint a normál AVP-jű HAB egyedek. Cordero szintén pozitív korrelációt talált laktáló patkányok agresszivitása és AVP szintje között a 7. postpartum napon [192].  $V_{1b}R$  antagonistá icv. akut beadása a laktáló patkányok gondoskodó magatartását csökkentette, viszont az agressziójukra nem volt hatással [193], míg  $V_{1a}R$  antagonistá meglepően növelte azt [194].

Az AVP-hiányos laktáló nőtények csökkent **impulzivitást** mutattak az AVP+ anyákhoz képest. Jentsch és Taylor a nemek közötti különbséget vizsgálta. Eredményeik szerint a gonádok eltávolításával, vagyis a nemre jellemző hormonális háttér megszüntetésével a hímek impulzivitása csökken, míg a nőtényeké nő [195]. Ez alapján feltételezhetően a nemi hormonok szerepet játszanak az impulzív viselkedés kialakulásában. Ha meta-analízisnek vetjük alá a hím és szűz nőtény Brattleboro patkányokon végzett kísérleteink eredményeit [196, 197], láthatjuk,



41. ábra Hím és szűz nőtények döntési impulzivitása (A); szűz és laktáló nőtény Brattleboro patkányok motoros impulzivitása (B) [196, 197]

hogy a nagy jutalom preferenciája alapján a nőstények alacsonyabb impulzivitást mutatnak, mint a hímek, függetlenül a genotípustól (41. ábra A rész). Vagyis az ivar valószínűleg AVP független módon befolyásolja az impulzivitást. Ugyanakkor laktáló patkányok esetében, már az AVP is szerephez juthat, hiszen csak AVP jelenlétében emelkedik meg az anyák motoros impulzivitása (41. ábra B rész), míg AVP hiányában az a szüzekhez hasonló szinten marad. Ezek alapján elmondható, hogy AVP hiányában a laktációkor jellemző impulzivitás-szint emelkedés nem következik be, vagyis a laktáció alatti impulzivitás emelkedéshez AVP szükséges, mely változás az anya számára előnyös a postpartum időszakban, ha az még a funkcionális impulzivitás szintjén belül marad.

A szűz nőstény Brattleboro patkányoknál a farmakológiai kezelések hatásai megerősítették a korábbi irodalmi adatokat [117-119], miszerint a CDP növeli, míg az IMI csökkenteti az állatok motoros impulzivitását; míg a döntési impulzivitás szintjüket nem változtatták meg szignifikánsan. Ehhez képest az anyáknál az AVP+ csoportnál egyik szer sem változtatta meg egyik paramétert sem, az AVP- csoportnál pedig a CDP növelte az impulzivitás mindkét típusát, az IMI pedig meglepő módon szintén növelte a döntési impulzivitást. Eredményeink azt támasztják alá, hogy a terhesség és a laktáció alatt bekövetkező hormonális változások befolyásolhatják az impulzivitást, illetve annak a szabályozását, mely során úgy tűnik, hogy az AVP is szerephez juthat akár a GABA, akár az 5-HT neurotranszmisszió keresztül.

A CDP a GABA neurotranszmisszió fokozásával csak AVP hiányában tudta laktáció alatt az impulzivitás szintjét növelni, míg szüzek esetében AVP jelenlétében is. A laktáló AVP+ csoportnál a hatástalanság oka lehet az is, hogy a laktáció következtében létrejövő impulzivitás-emelkedés elért egy maximális szintet, amelyet a kezelés már nem tudott tovább fokozni. Mindemellett az AVP szabályozó szerepe fontosnak tűnik, hiszen laktáció alatt AVP függő módon fejtette ki a CDP az impulzivitást növelő hatását. A GABA fontos szerepet játszik a laktáló patkányok magatartásának szabályozásában. A gerincevelő-folyadékban mért GABA koncentráció például a kölykökkel való interakció függvényében változik: ha az anya a kölykeivel van, akkor emelkedett, de amint a kölyköket elválasztják, csökken [198]. 2 napos elválasztás után a kicsiket visszaadva az anyának 60 percre, a anyai magatartás szabályozásában központi szerepet játszó agyterületeken (mPOA, BNST, PAG) a GABA szintézisért felelős enzim

(glutamát-dekarboxiláz) immunreaktivitása megnő [199], emellett az agyi GABA<sub>A</sub> receptorok érzékenysége is fokozódik [200]. A receptorok érzékenységének változására példa, hogy a GABA<sub>A</sub> receptor antagonistá bicucullin ip. injekciója következtében az anyapatkányok szorongása drasztikusabban nőtt, mint a szűz csoporté [201]. Mivel az AVP-hiányos anyák kevesebbet foglalkoznak kölykeikkel, felmerülhet, hogy így a GABA koncentrációjuk és érzékenységük is alacsonyabb, ezért a CDP képes fokozni azt, közelítve az impulzivitásuk szintjét az AVP+ csoportéhoz. Nagyon fontos kiemelni, hogy a GABA jelátvitel befolyásolása dózis-függő hatásokkal bír az anyai magatartásra: például az anyai agressziót kis dózisu benzodiazepin fokozza, míg nagyobb dózis már gátolja [202]. Ugyanakkor kontextus-függő is a hatása, mert függ a betolakodó nemétől és a rezidens anyaállat korábbi tapasztalataitól is, minthogy volt-e már korábban ilyen élménye [203]. Ha a mPOA/BNST területére muscimolt vagy baclofent (GABA<sub>A</sub> vagy B receptor agonista) injektáltak, az anyai magatartás dózis-függően romlott, legmagasabb dózisonál pedig az agresszió is csökkent [204]. Eltérést figyeltek meg a két receptor hatásai között: a muscimol inkább az aktív anyai magatartásra hatott, mint a fészeképítés, míg a baclofen a szoptató pozíciók gyakoriságára (fészek felett és AB), hasonlóan az AVP-hez.

A másik gyógyszercsoport, amelyet alkalmaztunk az impulzivitás-tesztben, az antidepresszáns imipramin (*IMI*) volt, mely szűz nőstényekben AVP-től függetlenül a motoros impulzivitást csökkentette, a döntési impulzivitást nem befolyásolta [197]. Az anyákban a motoros impulzivitásra nem hatott, ellenben az AVP- anyák döntési impulzivitását növelte, mely ellentétben áll az irodalomban tapasztaltakkal [118-120]. Az IMI legfőbb hatása a szerotonin (5-HT) és a noradrenalin preszinaptikus visszavételének gátlása, emellett antimuszkarin, antiadrenerg és antihisztamin hatásokkal is bír, melyek a humán terápiás alkalmazásban jelentkező kellemetlen mellékhatások kialakulásának okozói (például szájszárazság, székrekedés, szexuális diszfunkciók, hízás). Az 5-HT számos pszichés változással kapcsolatba hozható, többek között a depresszióval, szorongással, szerepet játszik az impulzivitás kialakulásában, a stressz-tengely működésében, de az anyai magatartás szabályozásában is. Humán vizsgálatokban összefüggést találtak az alacsony 5-HT szint, a csökkent kedélyállapot, a fokozott irritabilitás, agresszió és impulzivitás között [205, 206]. Ez pont az ellentéte az AVP- anyákon tapasztaltaknak (csökkent depresszió, agresszió és impulzivitás), vagyis

elképzelhető, hogy az AVP- anyákban az 5-HT transzmisszió fokozódásával jön létre ez a fenotípus. Patkányokon végzett kísérletek alapján az 5-HT 2C és 2A típusú receptorának arányát tartják fontosnak a spontán és az indukált anyai magatartás szabályozásában: 2C agonista injekciója csökkentette, 2A antagonistá pedig nem befolyásolta azt [207]. Vagyis a fokozott 5-HT transzmisszió az AVP- anyákban összefüggésbe lehet a csökkent anyai magatartással is. Ezt alátámasztva az AVP-hiányos állatokban magasabb szerotonin szinteket mutattak ki [208, 209]. Emellett a laktáció alatt megváltozott 5-HT homeosztázis (változás akár a szintjében, akár a receptorok érzékenységében) magyarázhatja, hogy az IMI kezelésre a szűz és az anyapatkányok eltérő módon reagáltak, s hogy ebben az állapotban az impulzivitás szabályozásában az AVP is szerephez juthat.

Összefoglalva elmondható, hogy a laktáció AVP jelenlétében megemeli az állatok impulzivitási szintjét és érzéketlenné teszi a külső behatásokra, hiszen az AVP+ genotípusnál egyik gyógyszer sem tudta befolyásolni azt, stabilan magas maradt.

A kortikoszteroid szint is befolyásolja az impulzivitást: pubertáskorban patkányoknak adott krónikus kortikoszteron kezelés a motoros impulzivitást csökkentette, míg a döntési impulzivitást növelte [210]. A jelenlegi és korábbi eredményeink szerint is [197, 211] a laktáció huszadik napja körül az AVP-hiányos anyáknak szignifikánsan alacsonyabb volt a kortikoszteroid szintjük és impulzivitásuk, mint az AVP+ anyáknak, ugyanakkor szűz nőtények esetében se a kortikoszteron szint, se az állatok impulzivitása nem különbözött a genotípusok között. Emellett eredményeinkhez hasonlóan, az 1-es típusú CRH receptor KO egereken végzett kísérletek során csökkent szoptatást, agressziót, valamint utódgondozó magatartást figyeltek meg a KO csoportban, míg a retrieval tesztben nem találtak eltérést a genotípusok között [212]. Azaz az AVP a HPA tengelyt szabályozó hatásán keresztül is befolyásolhatja az anyai magatartást.

Laktáló AVP+ anyák **stressz-tengely** alapaktivitása a krónikus stressz állapotnak megfelelő képet mutatott: megemelkedett mellékvese tömeg, CRH mRNS szint a PVN-ben, illetve plazma kortikoszteron-szint. Da Costa egy másik patkánytörzsön (Sprague–Dawley) 3 nappal az ellés után szintén emelkedett CRH mRNS szintet mutatott ki a PVN-ben [123]. Az AVP- csoportnál viszont nem találtunk különbséget a szűz és a laktáló nőtények stressz-tengely jellemzői között. Azaz AVP hiányában a laktációkor

bekövetkező krónikus HPA-tengely aktiválódás nem következik be. Ez egybevág azzal az elképzeléssel, hogy az AVP HPA-tengely szabályozásában betöltött szerepe megnövekszik krónikus stressz-folyamatok során [213, 214]. A szűz nőstényekben a genotípusnak nem volt hatása a tengely alap-működésére, míg megelőző kísérleteinkben hímeknél AVP hiányában magasabb CRH mRNS-t találtunk a PVN-ben [121, 143]. A különbség hátterében az is állhat, hogy a hímek esetén egy érzékenyebb mérési módszert, az integrált denzitást (a PVN teljes hosszában mérve) alkalmaztuk. A stressz hatására bekövetkező ACTH-szint emelkedések esetén a következő sorrend volt megfigyelhető: AVP+ szűz > AVP- szűz > AVP+ laktáló > AVP- laktáló. Vagyis mind az AVP hiány, mind a laktáció csökkentette a stressz-reaktivitást, de az AVP nem befolyásolta a laktáció hatását. Azaz a laktáló patkány akut stressz-reaktivitásának fenntartásában nem jelentősebb az AVP szerepe, mint a szűz állatok esetén.

Érdekes jelenség az ACTH és kortikoszteron szintek disszociációja, mely hím Brattleboro patkányokban is megfigyelhető [143]: AVP-hiányos állatok ACTH emelkedése szignifikánsan alacsonyabb, a kortikoszteron változása pedig nem különbözik a genotípusok között.  $V_{1b}R$  antagonistá alkalmazásával is hasonló disszociációt írtak le a két hormon szintében stressz (például lipopoliszacharid injekció) hatására: a receptorok blokkolásával az ACTH szintjének emelkedése enyhébb volt, míg a kortikoszteron szintek nem különböztek a kontroll és a kezelt csoport között [215]. Erre az egyik magyarázat a mellékvese fokozott ACTH érzékenysége lehet, hiszen az alacsonyabb ACTH szint ugyanolyan kortikoszteron szintet biztosít. Másik ok lehet a kortikoszteron szekréció ACTH-független kiváltása, melyben szerepet játszhat például a mellékvese velőállományából a stressz-válasz során felszabaduló adrenalin is [216].

Az AVP stresszel összefüggő agyi szabályozó szerepének vizsgálatát **immuncitokémiai mérésekkel** is kiegészítettük. Az aktiválódott idegrendszeri elemeket c-Fos festéssel tettük láthatóvá. Vizsgáltuk a stressz-folyamatok és az ezzel összefüggő stressz-függő pszichiátriai kórképek (szorongás, depresszió) kialakulása szempontjából releváns, valamint az anyai magatartás szabályozásában szerepet játszó agyterületeket.

A *magnocellularis PVN* c-Fos alap aktivitását az AVP-hiányos patkányokban magasabbnak találtuk, mint AVP+ társaikét. Ennek magyarázata, hogy az AVP-hiány következtében a Brattleboro patkányok szérum ozmolalitása szignifikánsan magasabb,

mint az AVP-vel rendelkező egyedeknek (lásd: 8. ábra), így állandó ozmotikus stressznek vannak kitéve, mely folyamatosan stimulálja a PVN magnocellularis neuronjait. Ennek hatására ezek a neuronok hypertrophizálnak és hyperaktivitást mutatnak [217], valamint magasabb c-Fos aktivitást lehet bennük mérni [218-220]. Ennek az agyterületnek a kényszeres úszás tesztre bekövetkező aktivitás változása elenyésző volt. Ez az eredmény nem meglepő, mivel a magnocellularis PVN feladata többek között a szervezet ozmotikus egyensúlyának megtartása, így a felborult só-víz háztartású AVP- állatokban ez a terület már alapállapotban is aktív. A PVN ugyanakkor csak korlátozottan vesz részt a viselkedés és a stressz-tengely szabályozásában. Hasonló eredmények születtek azokban a vizsgálatokban is, melyekben az AVP mRNS szintjének változását regisztrálták a különböző stresszek hatására [221-223]. Ezen területek aktivitása sem akut, sem krónikus immobilizációra, sem foot-shockra nem változott.

A *parvocellularis PVN* dorsalis és medialis régiójának nyugalmi c-Fos aktivitása is hasonló tendenciát mutatott: az AVP- patkányok bazális szintje magasabb volt az AVP+ csoporthoz képest. Ezekben a sejtekben azonban mindkét genotípus szignifikáns c-Fos emelkedést mutatott a stressz hatására. Irodalmi adatok szerint stressz hatására (például FST) a PVN parvocellularis régiójában emelkedik meg leginkább a c-Fos aktivitás [223, 224]. A *medialis* parvocellularis részből kiinduló neuronokból származó CRH és AVP az adenohypophysishez kerül és az ACTH termelését serkenti, így a stressz-tengelyt aktiválják (az AVP  $V_{1b}$  receptorokon keresztül) [63]. A PVN *dorsalis* része elsősorban az autonóm területekre vetít [61, 225]. Ezek a területek szerepet játszhatnak a stressz hatására bekövetkező szomatikus változások (szívfrekvencia növekedés, izzadás) közvetítésében, ezért érhető, hogy az AVP+ anyáknál harmincszorosára emelkedett a c-Fos jel ebben a régióban. Az AVP ebben betöltött szerepét bizonyítja, hogy  $V_{1b}$  vagy  $V_2$  receptor antagonisták icv. bejuttatása kivédi a stressz hatására bekövetkező tachycardiát és baroreceptor deszenzitizációt, míg a vérnyomás emelkedését nem, ugyanakkor normál körülmények között AVP receptor antagonisták icv. beadása nem okoz sem vérnyomás, sem szívfrekvencia változást [226]. Az AVP- állatok stressz-reaktivitása alacsonyabb volt, mint az AVP+ egyedeké (medialis: tizennégyszeres vs. négyszeres; dorsalis: harmincszoros vs. kilencszeres). Ezeket az immunitokémiai eredményeket



számos hormonvizsgálat támasztja alá: Brattleboro patkányoknak mind fizikális [227, 228], mind emocionális stresszre [229] alacsonyabb a válaszreakciójuk [143].

Az amygdalában FST-re bekövetkező aktivitás változás kapcsán Ebner és munkatársai azt tapasztalták, hogy FST után az amygdalában az AVP szintje megnövekszik (a MeA-ban szintetizálódik az AVP), valamint hogy mikrodialízis próbbal közvetlenül az amygdalába juttatott  $V_1R$  antagonistá antidepresszáns hatású [182].  $V_{1b}R$ -antagonista (SSR149415) szelektív bejuttatása az amygdala különböző részeibe eltérő hatással bírt. A basolateralis nucleusbba juttatva anxiolitikus, míg a centralis, a basolateralis vagy a medialis magba juttatva antidepresszáns hatású volt [230]. Saját kísérleteinkben a CeA-ban az AVP-hiányos patkányokban magasabb alapszintű c-Fos aktivitást találtunk, azonban ezek az állatok nem mutattak jelentős emelkedést stressz hatására. A CeA-t a krónikus stresszel és ennek következtében kialakuló affektív kórképekkel hozzák összefüggésbe [231]. Például az antidepresszáns IMI hatására a CeA területén fokozott c-Fos aktivitást találtak [224]. Ennek az agyi magnak a sejtjeiben krónikus stressz hatására fokozott CRH szekréciót mutattak ki, ellentétben a PVN-nel, ahol a CRH szekréció csökken, viszont az AVP szekréció nő. A CeA-nak a megemelkedett nyugalmi aktivitása egy alaphangon fokozott érzelmi állapotot jelenthet az AVP-hiányos anyákban. Emellett az anyai agresszióval is kapcsolatba hozható, mert a CeA-ban lokálisan felszabaduló AVP az anyai agresszió szintjét növeli [191].

A MeA-t is kapcsolatba hozták az emocionális stresszre adott válaszreakció szabályozásával. A MeA-ban az AVP- patkányok bazális aktivitása nem volt az AVP+ csoportnál jelentősen magasabb. Mindkét genotípus reagált stresszre, viszont az AVP-hiányosaknál az emelkedés csak fele akkora volt (hatszoros vs. háromszoros). A MeA stimulálása a POA-n és a BNST-n keresztül kortikoszteroid plazmaszintjének emelkedését okozza [232]. Ugyanakkor a MeA léziójának következtében stressz hatására a medialis PVN-ben nem jön létre aktivitás fokozódás, melynek következtében az ACTH és a kortikoszteroid szintek sem emelkednek [233, 234].

Ahogy mi is tapasztaltuk, stressz hatására magasabb c-Fos aktivitás emelkedést észleltek a MeA-ban, mint a CeA-ban. Ez esetünkben azzal is magyarázható, hogy míg a CeA-t inkább a szomatikus, szisztémás akut stresszre (például vérzés [235]), valamint a krónikus stresszre adott reakciókkal hozzák összefüggésbe [231], addig a MeA-t a

pszichés stresszel [233, 236], mint az FST is [237]. Elképzelhető, hogy a „nyugalmi szintek” esetén az AVP-hiány azért csak a CeA-ban okoz magasabb c-Fos aktivitást, mert a DI elsősorban szomatikus stresszt jelent az állat számára. Saját kísérleteink is megerősítik, hogy az AVP az amygdalán keresztül befolyásolhatja a depresszióra jellemző magatartás kialakulását, mivel az AVP-hiányos állatok stresszre bekövetkező kisebb amygdaláris aktivációja együtt járt a kevésbé depressziós magatartás megjelenésével.

Az anyai magatartás szabályozásában fontos szerepet játszó agyterületek vizsgálata során a genotípusok között a *mPOA* alap-szintjében szignifikáns különbséget találtunk, mégpedig az AVP-hiányos anyáknál volt intenzívebb c-Fos jel. Ez látszólag ellentétben áll a viselkedésvizsgálatok során talált eredményekkel, hiszen az AVP-hiányos állatok csökkent anyai magatartást mutattak. Ez az ellentmondás azzal oldható fel, hogy az AVP-hiányos egyedek alap agyi aktivitása általánosságban magasabb, mint az AVP-t expresszálóké, de különféle kihívásokra (például a kicsinyek jelenléte) kisebb aktivitásemelkedéssel reagál. A *mPOA* szerepe a laktáció során észlelhető csökkent stresszreaktivás háttérében is felmerül, mivel ilyenkor csökkent CRH-érzékenység észlelhető ezen az agyterületen, mely akut stressz során a PVN-be érkező információk modulációjában játszik szerepet [123].

A *BNST* alap aktivitásában szignifikáns különbség nem mutatkozott. Ezt az agyterületet az anyai magatartás szabályozása mellett a szorongással hozzák még összefüggésbe; valamint a stressz-tengely szabályozásában is részt vesz a PVN-en és a CeA-n keresztül is [238]. A *BNST* c-Fos aktivitásával párhuzamosan, a különböző genotípusú Brattleboro patkányok szorongás-szintjében sem találtunk eltérést. Meg kell jegyeznünk, hogy a *BNST* egyes almagjai szorongáskeltő stimulusokra eltérően reagálnak: egyesek aktiválódnak, míg mások deaktiválódnak [238]. Az anteroventralis mag aktiválja a PVN-t és kortikoszteroid szekréciót indukál, míg a posterior *BNST* gátolja a stressz által kiváltott PVN aktiválódást [239]. Vizsgálataink során igyekeztünk a *BNST* ventralis területeit elemezni, hiszen főleg ez a terület játszik szerepet az anyai magatartás szabályozásában, de nem kizárt, hogy más almagok is elemzésre kerültek, így ez befolyásolhatta a kapott eredményeket. Stressz hatására csak az AVP+ csoport mutatott aktivitás emelkedést a *BNST*-ban, ami párhuzamba állítható mind az *mPOA* esetén talált változásokkal, mind az anyai magatartással.

## 6. Következtetések

Munkánk során AVP-vel rendelkező és AVP-hiányos laktáló Brattleboro patkányok viselkedését és stressz-reaktivitását vizsgáltuk, mely alapján az AVP szabályozó szerepéről a következőket mondhatjuk:

1. Az anyák utódgondozó (spontán anyai) magatartása AVP hiányában csökken, míg indukált anyai magatartása nem változik.
2. A postpartum időszakban a depresszió-szerű tünetek megjelenése AVP hiányában ritkább, valamint csökken az agresszió és az impulzivitás mértéke is.
3. A stressz-tengely alap-aktivitásának növekedése a laktáció időszaka alatt szűz nőtény kontrollokhoz képest AVP hiányában nem következik be, stresszor hatására pedig kisebb mértékben aktiválódik a nőtény állatok HPA tengelye a reprodukív állapottól függetlenül.
4. Számos, az AVP-t termelő, a stressz-folyamatok és az anyai magatartás szabályozásában részt vevő agyterület bazális c-Fos aktivitása magasabb AVP hiányában, ugyanakkor stressz hatására a területek kevésbé aktiválódnak.

Összességében tehát a laktáció időszakában tapasztalható változások AVP hiányában nem jönnek létre, nem alakul ki megfelelő anyai magatartás, nem növekszik meg az anyák agressziója, impulzivitása és stressz-tengely aktivációja, ugyanakkor a stressz reaktivitásuk csökken. Mindezek mellett ugyan pozitív változásnak tekinthetőek az AVP hiányában csökkenő depresszió-szerű tünetek, azonban az AVP receptor antagonisták postpartum depresszióban való alkalmazását az anyai magatartásra és stressz-reaktivitásra gyakorolt negatív mellékhatásai erőteljesen korlátozzák.

## 7. Összefoglalás

A korai anya-gyermek kapcsolat fontos szerepet játszik a csecsemő lelki és szomatikus fejlődésében egyaránt. Így az, hogy az anya miként viselkedik a szülést követő időszakról kezdve gyermekével, hosszú távú következményekkel jár. Az anyánál jelentkező postpartum depresszió, illetve az anyát érő stressz és az azzal való megbirkózás képessége a szoros anya-gyermek kapcsolat útjában állhat, és közvetve az utódra is hatással lehet. A vazopresszin (AVP) kulcsszerepet tölt be a szociális viselkedés szabályozásában, befolyásolja a szociális kötődés kialakulását, az agressziót és az utódgondozásban való részvételt, ugyanakkor szerepe lehet a depresszió, a szorongás kialakulásában is.

PhD munkám során ezért az AVP anyai viselkedésben, postpartum mentális zavarokban és a stressz-tengely működésében betöltött szabályozó szerepét vizsgáltuk laktáló AVP-hiányos Brattleboro patkányokon.

Eredményeink szerint az AVP hiánya csökkent utódgondozó magatartáshoz, illetve depresszió-szerű tünetekhez vezetett. Az AVP-hiányos állatok szorongásának mértéke nem különbözött az AVP-t expresszáló csoporthoz képest, azonban anyai agressziójuk és impulzivitásuk alacsonyabb volt. AVP hiányában nem következett be a laktáció időszaka alatt természetesnek mondható növekedés a stressz-tengely alap aktivitásában, valamint akut stresszorok hatására enyhébb stressz-választ tapasztaltunk. A fenti magatartásokat és élettani folyamatokat szabályozó agyterületek neuronális aktivációját megvizsgálva azt az általános következtetés vonhattuk le, hogy az AVP-hiányos anyákban alapállapotban az idegsejtek magasabb aktivitást mutattak, ugyanakkor stressz hatására kevésbé aktiválódtak.

Összességében tehát a laktáció időszakában tapasztalható változások AVP hiányában nem jönnek létre, nem alakul ki megfelelő anyai magatartás, nem növekszik meg az anyák agressziója, impulzivitása és stressz-tengely aktivációja, ugyanakkor a stressz reaktivitásuk csökken. Mindezek mellett ugyan pozitív változásnak tekinthetőek az AVP hiányában csökkenő depresszió-szerű tünetek, azonban az AVP receptor antagonisták postpartum depresszióban való alkalmazását az anyai magatartásra és stressz-reaktivitásra gyakorolt negatív mellékhatásai erőteljesen korlátozzák.

## 8. Summary

Early mother-infant relationship is an important factor in the psychosomatic development of the offspring. Postpartum depression and stress can arrest normal parental bonding. Vasopressin (AVP) is a key regulator both of social and depression-like behavior and might have a role in stress regulation.

We aimed to clarify if the congenital lack of vasopressin (AVP) influences maternal behavior paralleled by the development of a depressive-, and anxiety-like phenotype, changes in maternal aggression and impulsivity and the activity of the HPA axis during lactation using AVP-deficient Brattleboro rats.

Our results demonstrated that the congenital deficit of AVP in Brattleboro rats reduced the spontaneous maternal behavior without affecting the induced maternal response. AVP- mothers showed more preference for sucrose and saccharin and struggled more in the forced swim test, suggesting that they act as less depressive without any changes their anxiety levels. AVP-deficient mothers had suppressed maternal aggression. The lactation-induced increase in impulsivity was abolished by AVP-deficiency. AVP seems to contribute to the physiological changes observed during lactation mimicking a chronic stress state, because in AVP-deficient dams, adrenal gland hyperplasia and resting corticosterone level elevations were not observed. The acute HPA axis stimulation was blunted in lactating rats compared with the virgins and in AVP-deficient rats compared with the controls. Under basal conditions, AVP-deficient mothers had more c-Fos positive cells, but the swim-stress-induced activation was smaller.

In conclusion, AVP-deficiency resulted in maternal neglect due to a central effect, suppressed maternal aggression and impulsivity and was protective against depressive-like behavior probably as a consequence of reduced activation of some stress-related brain structures. Although the present data on mood suggest that AVP antagonists might have positive impact on postpartum depression, the negative side effects on maternal behavior may limit their usage.

## 9. Irodalomjegyzék

1. Tringer L. *A pszichiátria tankönyve*. 2010, Budapest, Semmelweis Kiadó.
2. Numan M. *Parental Behavior*, in *Encyclopedia of Behavioral Neuroscience*, G.F. Koob, M. Le Moal, and R.F. Thompson, Editors. 2010, Academic Press: Oxford. p. 14-23.
3. Boros Z, Katonáné Pehr E, Kőrös A, Makai K, Szeibert O. *Polgári jog III/VI.; Családjog*. ed. A. Kőrös 2014, Budapest, HVG-ORAC Lap- és Könyvkiadó Kft.
4. Vetró Á. *Gyermek- és ifjúságpszichiátria*. 2008, Budapest, Medicina Könyvkiadó Rt.
5. Terkel J, Bridges RS, Sawyer CH. (1979) *Effects of transecting lateral neural connections of the medial preoptic area on maternal behavior in the rat: nest building, pup retrieval and prolactin secretion*. Brain Res, 169(2): p. 369-80.
6. Numan M and Stolzenberg DS. (2009) *Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats*. Front Neuroendocrinol, 30(1): p. 46-64.
7. Stern JM and Johnson SK. (1990) *Ventral somatosensory determinants of nursing behavior in Norway rats. I. Effects of variations in the quality and quantity of pup stimuli*. Physiol Behav, 47(5): p. 993-1011.
8. Gubernick DJ and Alberts JR. (1983) *Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls*. Physiol Behav, 31(5): p. 593-601.
9. Gubernick DJ and Alberts JR. (1985) *Maternal licking by virgin and lactating rats: water transfer from pups*. Physiol Behav, 34(4): p. 501-6.
10. Sullivan RM, Shokrai N, Leon M. (1988) *Physical stimulation reduces the body temperature of infant rats*. Dev Psychobiol, 21(3): p. 225-35.
11. Sullivan RM, Wilson DA, Leon M. (1988) *Physical stimulation reduces the brain temperature of infant rats*. Dev Psychobiol, 21(3): p. 237-50.
12. Francis D, Diorio J, Liu D, Meaney MJ. (1999) *Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat*. Science, 286(5442): p. 1155-8.
13. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ. (1997) *Maternal care, hippocampal*

- glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress.* Science, 277(5332): p. 1659-62.
14. Weaver IC. (2007) *Epigenetic programming by maternal behavior and pharmacological intervention. Nature versus nurture: let's call the whole thing off.* Epigenetics, 2(1): p. 22-8.
  15. Murgatroyd C, Patchev AV, Wu Y, Micale V, Bockmuhl Y, Fischer D, Holsboer F, Wotjak CT, Almeida OF, Spengler D. (2009) *Dynamic DNA methylation programs persistent adverse effects of early-life stress.* Nat Neurosci, 12(12): p. 1559-66.
  16. Terkel J and Rosenblatt JS. (1968) *Maternal behavior induced by maternal blood plasma injected into virgin rats.* J Comp Physiol Psychol, 65(3): p. 479-82.
  17. Terkel J and Rosenblatt JS. (1972) *Humoral factors underlying maternal behavior at parturition: cross transfusion between freely moving rats.* J Comp Physiol Psychol, 80(3): p. 365-71.
  18. Rosenblatt JS and Siegel HI. (1975) *Hysterectomy-induced maternal behavior during pregnancy in the rat.* J Comp Physiol Psychol, 89(7): p. 685-700.
  19. Rosenblatt JS. *Hormonal Bases of Parenting in Mammals*, in *Handbook of Parenting - 2nd edition*, M.H. Bornstein, Editor 2002, Lawrence Erlbaum Associates: New Jersey. p. 31-61.
  20. Siegel HI and Rosenblatt JS. (1975) *Hormonal basis of hysterectomy-induced maternal behavior during pregnancy in the rat.* Horm Behav, 6(3): p. 211-22.
  21. Siegel HI and Rosenblatt JS. (1975) *Progesterone inhibition of estrogen-induced maternal behavior in hysterectomized-ovariectomized virgin rats.* Horm Behav, 6(3): p. 223-30.
  22. Numan M, Roach JK, del Cerro MC, Guillamon A, Segovia S, Sheehan TP, Numan MJ. (1999) *Expression of intracellular progesterone receptors in rat brain during different reproductive states, and involvement in maternal behavior.* Brain Res, 830(2): p. 358-71.
  23. Rosenblatt JS. (1967) *Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat.* Science, 156(3781): p. 1512-4.

24. Moltz H, Lubin M, Leon M, Numan M. (1970) *Hormonal induction of maternal behavior in the ovariectomized nulliparous rat*. *Physiol Behav*, 5(12): p. 1373-7.
25. Lonstein JS and Gammie SC. (2002) *Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents*. *Neurosci Biobehav Rev*, 26(8): p. 869-88.
26. Stern JM and Kolunie JM. (1993) *Maternal aggression of rats is impaired by cutaneous anesthesia of the ventral trunk, but not by nipple removal*. *Physiol Behav*, 54(5): p. 861-8.
27. Erskine MS, Barfield RJ, Goldman BD. (1978) *Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal*. *Behav Biol*, 23(2): p. 206-18.
28. Giovenardi M, Consiglio AR, Barros HM, Lucion AB. (2000) *Pup age and aggressive behavior in lactating rats*. *Braz J Med Biol Res*, 33(9): p. 1083-8.
29. Ferreira A, Dahlof LG, Hansen S. (1987) *Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex*. *Behav Neurosci*, 101(5): p. 709-17, 746.
30. Numan M. *Parental Behavior*, in *Encyclopedia of Behavioral Neuroscience*, G.F. Koob, M. Le Moal, and R.F. Thompson, Editors. 2010, Oxford: Academic Press. p. 14–23.
31. Numan M. (1974) *Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat*. *J Comp Physiol Psychol*, 87(4): p. 746-59.
32. Hansen S, Harthorn C, Wallin E, Lofberg L, Svensson K. (1991) *Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the female rat: effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness*. *Behav Neurosci*, 105(4): p. 588-98.
33. Numan M, Rosenblatt JS, Komisaruk BR. (1977) *Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat*. *J Comp Physiol Psychol*, 91(1): p. 146-64.
34. Fahrbach SE and Pfaff DW. (1986) *Effect of preoptic region implants of dilute estradiol on the maternal behavior of ovariectomized, nulliparous rats*. *Horm Behav*, 20(3): p. 354-63.



35. Rosenblatt JS, Olufowobi A, Siegel HI. (1998) *Effects of pregnancy hormones on maternal responsiveness, responsiveness to estrogen stimulation of maternal behavior, and the lordosis response to estrogen stimulation.* Horm Behav, 33(2): p. 104-14.
36. Bridges RS, Feder HH, Rosenblatt JS. (1977) *Induction of maternal behaviors in primigravid rats by ovariectomy, hysterectomy, or ovariectomy plus hysterectomy: effect of length of gestation.* Horm Behav, 9(2): p. 156-69.
37. Lorberbaum JP, Newman JD, Horwitz AR, Dubno JR, Lydiard RB, Hamner MB, Bohning DE, George MS. (2002) *A potential role for thalamocingulate circuitry in human maternal behavior.* Biol Psychiatry, 51(6): p. 431-45.
38. Wan MW, Downey D, Strachan H, Elliott R, Williams SR, Abel KM. (2014) *The neural basis of maternal bonding.* PLoS One, 9(3): p. e88436.
39. Fleming AS and Luebke C. (1981) *Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: emotionality differences between nulliparous and parturient females.* Physiol Behav, 27(5): p. 863-8.
40. Numan M. (2006) *Hypothalamic neural circuits regulating maternal responsiveness toward infants.* Behav Cogn Neurosci Rev, 5(4): p. 163-90.
41. Stein DJ. (2009) *Oxytocin and vasopressin: social neuropeptides.* CNS Spectr, 14(11): p. 602-6.
42. Heinrichs M, von Dawans B, Domes G. (2009) *Oxytocin, vasopressin, and human social behavior.* Front Neuroendocrinol, 30(4): p. 548-57.
43. Hammock EA and Young LJ. (2005) *Microsatellite instability generates diversity in brain and sociobehavioral traits.* Science, 308(5728): p. 1630-4.
44. Oliver G and Schafer EA. (1895) *On the Physiological Action of Extracts of Pituitary Body and certain other Glandular Organs: Preliminary Communication.* J Physiol, 18(3): p. 277-9.
45. Farini F. (1913) *Diabete insipido ed opoterapia.* Gazz Osped Clin, 34: p. 1135–1139.
46. Brownstein MJ, Russell JT, Gainer H. (1980) *Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones.* Science, 207(4429): p. 373-8.

47. Buijs RM, Swaab DF, Dogterom J, van Leeuwen FW. (1978) *Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat*. Cell Tissue Res, 186(3): p. 423-33.
48. Sausville E, Carney D, Battey J. (1985) *The human vasopressin gene is linked to the oxytocin gene and is selectively expressed in a cultured lung cancer cell line*. J Biol Chem, 260(18): p. 10236-41.
49. Gyires K and Fürst Z. *Farmakológia*. 2007, Budapest, Medicina Könyvkiadó Zrt.
50. Aszalós Z. (2007) *Néhány endokrin betegség neurológiai és pszichiátriai vonatkozása: hypothalamus-hypophysis rendszer*. Orvosi Hetilap, 148(16): p. 723–730.
51. Ventura MA, Rene P, de Keyzer Y, Bertagna X, Clauser E. (1999) *Gene and cDNA cloning and characterization of the mouse V3/V1b pituitary vasopressin receptor*. J Mol Endocrinol, 22(3): p. 251-60.
52. Ostrowski NL, Lolait SJ, Young WS, 3rd. (1994) *Cellular localization of vasopressin V1a receptor messenger ribonucleic acid in adult male rat brain, pineal, and brain vasculature*. Endocrinology, 135(4): p. 1511-28.
53. Tribollet E, Barberis C, Arsenijevic Y. (1997) *Distribution of vasopressin and oxytocin receptors in the rat spinal cord: sex-related differences and effect of castration in pudendal motor nuclei*. Neuroscience, 78(2): p. 499-509.
54. Vaccari C, Lolait SJ, Ostrowski NL. (1998) *Comparative distribution of vasopressin V1b and oxytocin receptor messenger ribonucleic acids in brain*. Endocrinology, 139(12): p. 5015-33.
55. Hernando F, Schoots O, Lolait SJ, Burbach JP. (2001) *Immunohistochemical localization of the vasopressin V1b receptor in the rat brain and pituitary gland: anatomical support for its involvement in the central effects of vasopressin*. Endocrinology, 142(4): p. 1659-68.
56. Stemmelin J, Lukovic L, Salome N, Griebel G. (2005) *Evidence that the lateral septum is involved in the antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415*. Neuropsychopharmacology, 30(1): p. 35-42.

57. Kato Y, Igarashi N, Hirasawa A, Tsujimoto G, Kobayashi M. (1995) *Distribution and developmental changes in vasopressin V2 receptor mRNA in rat brain*. Differentiation, 59(3): p. 163-9.
58. Vargas KJ, Sarmiento JM, Ehrenfeld P, Anazco CC, Villanueva CI, Carmona PL, Brenet M, Navarro J, Muller-Esterl W, Gonzalez CB. (2009) *Postnatal expression of V2 vasopressin receptor splice variants in the rat cerebellum*. Differentiation, 77(4): p. 377-85.
59. Lee B, Yang C, Chen TH, al-Azawi N, Hsu WH. (1995) *Effect of AVP and oxytocin on insulin release: involvement of V1b receptors*. Am J Physiol, 269(6 Pt 1): p. E1095-100.
60. Folny V, Raufaste D, Lukovic L, Pouzet B, Rochard P, Pascal M, Serradeil-Le Gal C. (2003) *Pancreatic vasopressin V1b receptors: characterization in In-R1-G9 cells and localization in human pancreas*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 285(3): p. E566-76.
61. Swanson LW and Kuypers HG. (1980) *The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods*. J Comp Neurol, 194(3): p. 555-70.
62. Swanson LW and Sawchenko PE. (1980) *Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms*. Neuroendocrinology, 31(6): p. 410-7.
63. Antoni FA. (1993) *Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age*. Front Neuroendocrinol, 14(2): p. 76-122.
64. Zelena D, Domokos A, Barna I, Mergl Z, Haller J, Makara GB. (2008) *Control of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the neonatal period: adrenocorticotropin and corticosterone stress responses dissociate in vasopressin-deficient brattleboro rats*. Endocrinology, 149(5): p. 2576-83.
65. Ingram CD, Ciobanu R, Coculescu IL, Tanasescu R, Coculescu M, Mihai R. (1998) *Vasopressin neurotransmission and the control of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus*. Prog Brain Res, 119: p. 351-64.

66. Hoorneman EM and Buijs RM. (1982) *Vasopressin fiber pathways in the rat brain following suprachiasmatic nucleus lesioning*. Brain Res, 243(2): p. 235-41.
67. Vandesande F, Dierickx K, DeMey J. (1975) *Identification of the vasopressin-neurophysin producing neurons of the rat suprachiasmatic nuclei*. Cell Tissue Res, 156(3): p. 377-80.
68. Zhou JN, Riemersma RF, Unmehopa UA, Hoogendijk WJ, van Heerikhuize JJ, Hofman MA, Swaab DF. (2001) *Alterations in arginine vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus in depression*. Arch Gen Psychiatry, 58(7): p. 655-62.
69. de Vries GJ, Duetz W, Buijs RM, van Heerikhuize J, Vreeburg JT. (1986) *Effects of androgens and estrogens on the vasopressin and oxytocin innervation of the adult rat brain*. Brain Res, 399(2): p. 296-302.
70. De Vries GJ, Buijs RM, Van Leeuwen FW. (1984) *Sex differences in vasopressin and other neurotransmitter systems in the brain*. Prog Brain Res, 61: p. 185-203.
71. van Leeuwen F and Caffè R. (1983) *Vasopressin-immunoreactive cell bodies in the bed nucleus of the stria terminalis of the rat*. Cell Tissue Res, 228(3): p. 525-34.
72. Caffè AR, van Leeuwen FW, Luiten PG. (1987) *Vasopressin cells in the medial amygdala of the rat project to the lateral septum and ventral hippocampus*. J Comp Neurol, 261(2): p. 237-52.
73. Bielsky IF, Hu SB, Szegda KL, Westphal H, Young LJ. (2004) *Profound impairment in social recognition and reduction in anxiety-like behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice*. Neuropsychopharmacology, 29(3): p. 483-93.
74. Wersinger SR, Ginns EI, O'Carroll AM, Lolait SJ, Young WS, 3rd. (2002) *Vasopressin V1b receptor knockout reduces aggressive behavior in male mice*. Mol Psychiatry, 7(9): p. 975-84.
75. Gold PW, Goodwin FK, Reus VI. (1978) *Vasopressin in affective illness*. Lancet, 1(8076): p. 1233-6.

76. van Londen L, Goekoop JG, van Kempen GM, Frankhuijzen-Sierevogel AC, Wiegant VM, van der Velde EA, De Wied D. (1997) *Plasma levels of arginine vasopressin elevated in patients with major depression.* Neuropsychopharmacology, 17(4): p. 284-92.
77. Meynen G, Unmehopa UA, van Heerikhuizen JJ, Hofman MA, Swaab DF, Hoogendijk WJ. (2006) *Increased arginine vasopressin mRNA expression in the human hypothalamus in depression: A preliminary report.* Biol Psychiatry, 60(8): p. 892-5.
78. Griebel G, Simiand J, Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, Pascal M, Scatton B, Maffrand JP, Soubrie P. (2002) *Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders.* Proc Natl Acad Sci U S A, 99(9): p. 6370-5.
79. Ferris CF, Lu SF, Messenger T, Guillon CD, Heindel N, Miller M, Koppel G, Robert Bruns F, Simon NG. (2006) *Orally active vasopressin V1a receptor antagonist, SRX251, selectively blocks aggressive behavior.* Pharmacol Biochem Behav, 83(2): p. 169-74.
80. Blanchard RJ, Griebel G, Farrokhi C, Markham C, Yang M, Blanchard DC. (2005) *AVP V1b selective antagonist SSR149415 blocks aggressive behaviors in hamsters.* Pharmacol Biochem Behav, 80(1): p. 189-94.
81. Coccaro EF, Kavoussi RJ, Hauger RL, Cooper TB, Ferris CF. (1998) *Cerebrospinal fluid vasopressin levels: correlates with aggression and serotonin function in personality-disordered subjects.* Arch Gen Psychiatry, 55(8): p. 708-14.
82. De Wied D. (1965) *The Influence of the Posterior and Intermediate Lobe of the Pituitary and Pituitary Peptides on the Maintenance of a Conditioned Avoidance Response in Rats.* Int J Neuropharmacol, 4: p. 157-67.
83. Kovacs GL, Bohus B, Versteeg DH. (1979) *Facilitation of memory consolidation by vasopressin: mediation by terminals of the dorsal noradrenergic bundle?* Brain Res, 172(1): p. 73-85.

84. Engelmann M and Landgraf R. (1994) *Microdialysis administration of vasopressin into the septum improves social recognition in Brattleboro rats*. *Physiol Behav*, 55(1): p. 145-9.
85. Born J, Pietrowsky R, Fehm HL. (1998) *Neuropsychological effects of vasopressin in healthy humans*. *Prog Brain Res*, 119: p. 619-43.
86. Wang ZX, Liu Y, Young LJ, Insel TR. (2000) *Hypothalamic vasopressin gene expression increases in both males and females postpartum in a biparental rodent*. *J Neuroendocrinol*, 12(2): p. 111-20.
87. Parker KJ and Lee TM. (2001) *Central vasopressin administration regulates the onset of facultative paternal behavior in *Microtus pennsylvanicus* (meadow voles)*. *Horm Behav*, 39(4): p. 285-94.
88. Caldwell JD, Greer ER, Johnson MF, Prange AJ, Jr., Pedersen CA. (1987) *Oxytocin and vasopressin immunoreactivity in hypothalamic and extrahypothalamic sites in late pregnant and postpartum rats*. *Neuroendocrinology*, 46(1): p. 39-47.
89. Landgraf R, Neumann I, Pittman QJ. (1991) *Septal and hippocampal release of vasopressin and oxytocin during late pregnancy and parturition in the rat*. *Neuroendocrinology*, 54(4): p. 378-83.
90. Walker CD, Toufexis DJ, Bulet A. (2001) *Hypothalamic and limbic expression of CRF and vasopressin during lactation: implications for the control of ACTH secretion and stress hyporesponsiveness*. *Prog Brain Res*, 133: p. 99-110.
91. Caba M, Silver R, Gonzalez-Mariscal G, Jimenez A, Beyer C. (1996) *Oxytocin and vasopressin immunoreactivity in rabbit hypothalamus during estrus, late pregnancy, and postpartum*. *Brain Res*, 720(1-2): p. 7-16.
92. Schrier RW. (2010) *Systemic arterial vasodilation, vasopressin, and vasopressinase in pregnancy*. *J Am Soc Nephrol*, 21(4): p. 570-2.
93. Valtin H and Schroeder HA. (1964) *Familial Hypothalamic Diabetes Insipidus in Rats (Brattleboro Strain)*. *Am J Physiol*, 206: p. 425-30.
94. Schmale H, Ivell R, Breindl M, Darmer D, Richter D. (1984) *The mutant vasopressin gene from diabetes insipidus (Brattleboro) rats is transcribed but the message is not efficiently translated*. *EMBO J*, 3(13): p. 3289-93.

95. Zelena D, Mergl Z, Makara GB. (2009) *Postnatal development in vasopressin deficient Brattleboro rats with special attention to the hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: the role of maternal genotype*. Int J Dev Neurosci, 27(2): p. 175-83.
96. Zelena D, Mergl Z, Makara GB. (2003) *Maternal genotype influences stress reactivity of vasopressin-deficient brattleboro rats*. J Neuroendocrinol, 15(12): p. 1105-10.
97. Kessler RC, McGonagle KA, Swartz M, Blazer DG, Nelson CB. (1993) *Sex and depression in the National Comorbidity Survey. I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence*. J Affect Disord, 29(2-3): p. 85-96.
98. Gaynes BN, Gavin N, Meltzer-Brody S, Lohr KN, Swinson T, Gartlehner G, Brody S, Miller WC. (2005) *Perinatal depression: prevalence, screening accuracy, and screening outcomes*. Evid Rep Technol Assess (Summ), (119): p. 1-8.
99. Wisner KL, Sit DK, McShea MC, Rizzo DM, Zoretich RA, Hughes CL, Eng HF, Luther JF, Wisniewski SR, Costantino ML, Confer AL, Moses-Kolko EL, Famy CS, Hanusa BH. (2013) *Onset timing, thoughts of self-harm, and diagnoses in postpartum women with screen-positive depression findings*. JAMA Psychiatry, 70(5): p. 490-8.
100. Hendrick V. *Psychiatric Disorders in Pregnancy and the Postpartum*. ed. V. Hendrick 2006, New Jersey, USA, Humana Press Inc.
101. Viguera AC, Nonacs R, Cohen LS, Tondo L, Murray A, Baldessarini RJ. (2000) *Risk of recurrence of bipolar disorder in pregnant and nonpregnant women after discontinuing lithium maintenance*. Am J Psychiatry, 157(2): p. 179-84.
102. Lovejoy MC, Graczyk PA, O'Hare E, Neuman G. (2000) *Maternal depression and parenting behavior: a meta-analytic review*. Clin Psychol Rev, 20(5): p. 561-92.
103. Field T. (2010) *Postpartum depression effects on early interactions, parenting, and safety practices: a review*. Infant Behav Dev, 33(1): p. 1-6.
104. Laurent HK and Ablow JC. (2012) *A cry in the dark: depressed mothers show reduced neural activation to their own infant's cry*. Soc Cogn Affect Neurosci, 7(2): p. 125-34.

105. Dubber S, Reck C, Muller M, Gawlik S. (2014) *Postpartum bonding: the role of perinatal depression, anxiety and maternal-fetal bonding during pregnancy*. Arch Womens Ment Health.
106. Haller J and Kruk MR. (2006) *Normal and abnormal aggression: human disorders and novel laboratory models*. Neurosci Biobehav Rev, 30(3): p. 292-303.
107. Taylor CT, Hirshfeld-Becker DR, Ostacher MJ, Chow CW, LeBeau RT, Pollack MH, Nierenberg AA, Simon NM. (2008) *Anxiety is associated with impulsivity in bipolar disorder*. J Anxiety Disord, 22(5): p. 868-76.
108. Swann AC, Dougherty DM, Pazzaglia PJ, Pham M, Steinberg JL, Moeller FG. (2005) *Increased impulsivity associated with severity of suicide attempt history in patients with bipolar disorder*. Am J Psychiatry, 162(9): p. 1680-7.
109. Association AP. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed.)*. 1994, Washington, DC, APA.
110. Dickman SJ. (1990) *Functional and dysfunctional impulsivity: personality and cognitive correlates*. J Pers Soc Psychol, 58(1): p. 95-102.
111. Eysenck SB and Eysenck HJ. (1978) *Impulsiveness and venturesomeness: their position in a dimensional system of personality description*. Psychol Rep, 43(3 Pt 2): p. 1247-55.
112. Crews FT and Boettiger CA. (2009) *Impulsivity, frontal lobes and risk for addiction*. Pharmacol Biochem Behav, 93(3): p. 237-47.
113. Whiteside SP and Lynam DR. (2001) *The Five Factor Model and impulsivity: using a structural model of personality to understand impulsivity*. Personality and Individual Differences, 30(4): p. 669-689.
114. Patton JH, Stanford MS, Barratt ES. (1995) *Factor structure of the Barratt impulsiveness scale*. J Clin Psychol, 51(6): p. 768-74.
115. Etain B, Mathieu F, Liqueur S, Raust A, Cochet B, Richard JR, Gard S, Zanouy L, Kahn JP, Cohen RF, Bougerol T, Henry C, Leboyer M, Bellivier F. (2013) *Clinical features associated with trait-impulsiveness in euthymic bipolar disorder patients*. J Affect Disord, 144(3): p. 240-7.



116. Richards JB, Zhang L, Mitchell SH, de Wit H. (1999) *Delay or probability discounting in a model of impulsive behavior: effect of alcohol*. J Exp Anal Behav, 71(2): p. 121-43.
117. Thiebot MH, Le Bihan C, Soubrie P, Simon P. (1985) *Benzodiazepines reduce the tolerance to reward delay in rats*. Psychopharmacology (Berl), 86(1-2): p. 147-52.
118. Wolff MC and Leander JD. (2002) *Selective serotonin reuptake inhibitors decrease impulsive behavior as measured by an adjusting delay procedure in the pigeon*. Neuropsychopharmacology, 27(3): p. 421-9.
119. Bizot JC, Thiebot MH, Le Bihan C, Soubrie P, Simon P. (1988) *Effects of imipramine-like drugs and serotonin uptake blockers on delay of reward in rats. Possible implication in the behavioral mechanism of action of antidepressants*. J Pharmacol Exp Ther, 246(3): p. 1144-51.
120. Miyazaki K, Miyazaki KW, Doya K. (2012) *The role of serotonin in the regulation of patience and impulsivity*. Mol Neurobiol, 45(2): p. 213-24.
121. Mlynarik M, Zelena D, Bagdy G, Makara GB, Jezova D. (2007) *Signs of attenuated depression-like behavior in vasopressin deficient Brattleboro rats*. Horm Behav, 51(3): p. 395-405.
122. Balazsfi D, Pinter O, Klausz B, Kovacs KB, Fodor A, Torok B, Engelmann M, Zelena D. (2014) *Restoration of peripheral V2 receptor vasopressin signaling fails to correct behavioral changes in Brattleboro rats*. Psychoneuroendocrinology, 51C: p. 11-23.
123. da Costa AP, Ma X, Ingram CD, Lightman SL, Aguilera G. (2001) *Hypothalamic and amygdaloid corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH receptor-1 mRNA expression in the stress-hyporesponsive late pregnant and early lactating rat*. Brain Res Mol Brain Res, 91(1-2): p. 119-30.
124. O'Hara MW, Rehm LP, Campbell SB. (1983) *Postpartum depression. A role for social network and life stress variables*. J Nerv Ment Dis, 171(6): p. 336-41.
125. Selye H. (1985) *The nature of stress*. Basal Facts, 7(1): p. 3-11.
126. Selye H. (1998) *A syndrome produced by diverse noxious agents*. 1936. J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 10(2): p. 230-1.

127. Day TA. (2005) *Defining stress as a prelude to mapping its neurocircuitry: no help from allostasis*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 29(8): p. 1195-200.
128. Abou-Samra AB, Harwood JP, Catt KJ, Aguilera G. (1987) *Mechanisms of action of CRF and other regulators of ACTH release in pituitary corticotrophs*. Ann N Y Acad Sci, 512: p. 67-84.
129. Dallman MF, Akana SF, Cascio CS, Darlington DN, Jacobson L, Levin N. (1987) *Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B*. Recent Prog Horm Res, 43: p. 113-73.
130. Reul JM and de Kloet ER. (1985) *Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation*. Endocrinology, 117(6): p. 2505-11.
131. Duval D, Durant S, Homo-Delarche F. (1983) *Non-genomic effects of steroids. Interactions of steroid molecules with membrane structures and functions*. Biochim Biophys Acta, 737(3-4): p. 409-42.
132. Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joels M. (2011) *Rapid non-genomic effects of corticosteroids and their role in the central stress response*. J Endocrinol, 209(2): p. 153-67.
133. Jacobson L and Sapolsky R. (1991) *The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis*. Endocr Rev, 12(2): p. 118-34.
134. Murphy BEP. *Corticosteroid-binding globulin (Transcortin)*, in *Stress Science: Neuroendocrinology*, G. Fink, Editor 2007, Academic Press: USA. p. 245-252.
135. Makrigiannakis A, Margioris AN, Le Goascogne C, Zoumakis E, Nikas G, Stournaras C, Psychoyos A, Gravanis A. (1995) *Corticotropin-releasing hormone (CRH) is expressed at the implantation sites of early pregnant rat uterus*. Life Sci, 57(20): p. 1869-75.
136. Harris B, Lovett L, Smith J, Read G, Walker R, Newcombe R. (1996) *Cardiff puerperal mood and hormone study. III. Postnatal depression at 5 to 6 weeks postpartum, and its hormonal correlates across the peripartum period*. Br J Psychiatry, 168(6): p. 739-44.

137. Parry BL, Sorenson DL, Meliska CJ, Basavaraj N, Zirpoli GG, Gamst A, Hauger R. (2003) *Hormonal basis of mood and postpartum disorders*. *Curr Womens Health Rep*, 3(3): p. 230-5.
138. Kammerer M, Taylor A, Glover V. (2006) *The HPA axis and perinatal depression: a hypothesis*. *Arch Womens Ment Health*, 9(4): p. 187-96.
139. Walker CD, Lightman SL, Steele MK, Dallman MF. (1992) *Suckling is a persistent stimulus to the adrenocortical system of the rat*. *Endocrinology*, 130(1): p. 115-25.
140. Windle RJ, Wood SA, Kershaw YM, Lightman SL, Ingram CD. (2013) *Adaptive changes in basal and stress-induced HPA activity in lactating and post-lactating female rats*. *Endocrinology*, 154(2): p. 749-61.
141. Altemus M, Deuster PA, Galliven E, Carter CS, Gold PW. (1995) *Suppression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to stress in lactating women*. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(10): p. 2954-9.
142. Mezzacappa ES, Kelsey RM, Myers MM, Katkin ES. (2001) *Breast-feeding and maternal cardiovascular function*. *Psychophysiology*, 38(6): p. 988-97.
143. Zelena D, Domokos A, Jain SK, Jankord R, Filaretova L. (2009) *The stimuli-specific role of vasopressin in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis response to stress*. *J Endocrinol*, 202(2): p. 263-78.
144. Dimitsantos E, Escorihuela RM, Fuentes S, Armario A, Nadal R. (2007) *Litter size affects emotionality in adult male rats*. *Physiol Behav*, 92(4): p. 708-16.
145. Moore CL and Morelli GA. (1979) *Mother rats interact differently with male and female offspring*. *J Comp Physiol Psychol*, 93(4): p. 677-84.
146. Richmond G and Sachs BD. (1984) *Maternal discrimination of pup sex in rats*. *Dev Psychobiol*, 17(1): p. 87-9.
147. Alleva E, Caprioli A, Laviola G. (1989) *Litter gender composition affects maternal behavior of the primiparous mouse dam (*Mus musculus*)*. *J Comp Psychol*, 103(1): p. 83-7.
148. Myers MM, Brunelli SA, Squire JM, Shindeldecker RD, Hofer MA. (1989) *Maternal behavior of SHR rats and its relationship to offspring blood pressures*. *Dev Psychobiol*, 22(1): p. 29-53.

149. Champagne FA, Francis DD, Mar A, Meaney MJ. (2003) *Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development*. *Physiol Behav*, 79(3): p. 359-71.
150. Slamberova R, Szilagyi B, Vathy I. (2001) *Repeated morphine administration during pregnancy attenuates maternal behavior*. *Psychoneuroendocrinology*, 26(6): p. 565-76.
151. Croskerry PG, Smith GK, Leon M. (1978) *Thermoregulation and the maternal behaviour of the rat*. *Nature*, 273(5660): p. 299-300.
152. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. (1985) *Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat*. *J Neurosci Methods*, 14(3): p. 149-67.
153. Katz RJ. (1982) *Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit*. *Pharmacol Biochem Behav*, 16(6): p. 965-8.
154. Willner P. (2005) *Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS*. *Neuropsychobiology*, 52(2): p. 90-110.
155. Huot RL, Thivikraman KV, Meaney MJ, Plotsky PM. (2001) *Development of adult ethanol preference and anxiety as a consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment*. *Psychopharmacology (Berl)*, 158(4): p. 366-73.
156. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. (1977) *Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants*. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 229(2): p. 327-36.
157. Haller J, Millar S, van de Schraaf J, de Kloet RE, Kruk MR. (2000) *The active phase-related increase in corticosterone and aggression are linked*. *J Neuroendocrinol*, 12(5): p. 431-6.
158. Giovenardi M, Padoin MJ, Cadore LP, Lucion AB. (1998) *Hypothalamic paraventricular nucleus modulates maternal aggression in rats: effects of ibotenic acid lesion and oxytocin antisense*. *Physiol Behav*, 63(3): p. 351-9.
159. Haller J, van de Schraaf J, Kruk MR. (2001) *Deviant forms of aggression in glucocorticoid hyporeactive rats: a model for 'pathological' aggression?* *J Neuroendocrinol*, 13(1): p. 102-7.

160. Haller J. (2013) *The neurobiology of abnormal manifestations of aggression--a review of hypothalamic mechanisms in cats, rodents, and humans*. Brain Res Bull, 93: p. 97-109.
161. Panlilio LV, Justinova Z, Mascia P, Pistis M, Luchicchi A, Lecca S, Barnes C, Redhi GH, Adair J, Heishman SJ, Yasar S, Aliczki M, Haller J, Goldberg SR. (2012) *Novel use of a lipid-lowering fibrate medication to prevent nicotine reward and relapse: preclinical findings*. Neuropsychopharmacology, 37(8): p. 1838-47.
162. Adriani W, Caprioli A, Granstrem O, Carli M, Laviola G. (2003) *The spontaneously hypertensive-rat as an animal model of ADHD: evidence for impulsive and non-impulsive subpopulations*. Neurosci Biobehav Rev, 27(7): p. 639-51.
163. Adriani W and Laviola G. (2003) *Elevated levels of impulsivity and reduced place conditioning with d-amphetamine: two behavioral features of adolescence in mice*. Behav Neurosci, 117(4): p. 695-703.
164. Adriani W, Seta DD, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F, Laviola G. (2003) *Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A*. Environ Health Perspect, 111(4): p. 395-401.
165. Kim S and Lee D. (2011) *Prefrontal cortex and impulsive decision making*. Biol Psychiatry, 69(12): p. 1140-6.
166. Evenden JL. (1998) *The pharmacology of impulsive behaviour in rats III: the effects of amphetamine, haloperidol, imipramine, chlordiazepoxide and ethanol on a paced fixed consecutive number schedule*. Psychopharmacology (Berl), 138(3-4): p. 295-304.
167. Evenden J and Ko T. (2005) *The psychopharmacology of impulsive behaviour in rats VIII: effects of amphetamine, methylphenidate, and other drugs on responding maintained by a fixed consecutive number avoidance schedule*. Psychopharmacology (Berl), 180(2): p. 294-305.
168. Zelena D, Filaretova L, Mergl Z, Barna I, Toth ZE, Makara GB. (2006) *Hypothalamic paraventricular nucleus, but not vasopressin, participates in*

- chronic hyperactivity of the HPA axis in diabetic rats. Am J Physiol Endocrinol Metab*, 290(2): p. E243-50.
169. Barna I, Balint E, Baranyi J, Bakos N, Makara GB, Haller J. (2003) *Gender-specific effect of maternal deprivation on anxiety and corticotropin-releasing hormone mRNA expression in rats. Brain Res Bull*, 62(2): p. 85-91.
  170. Foldes A, Nemethy Z, Szalay O, Kovacs KJ. (2000) *Anaphylactoid reactions activate hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis: comparison with endotoxic reactions. Brain Res Bull*, 52(6): p. 573-9.
  171. Lolait SJ, Stewart LQ, Jessop DS, Young WS, 3rd, O'Carroll AM. (2007) *The hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to stress in mice lacking functional vasopressin V1b receptors. Endocrinology*, 148(2): p. 849-56.
  172. Zelena D, Kiem DT, Barna I, Makara GB. (1999) *Alpha 2-adrenoreceptor subtypes regulate ACTH and beta-endorphin secretions during stress in the rat. Psychoneuroendocrinology*, 24(3): p. 333-43.
  173. Kovacs KJ. (1998) *c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. Neurochem Int*, 33(4): p. 287-97.
  174. Paxinos G and Watson C. *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. 4th ed 1998, San Diego, California 92101-4495, USA, Academic Press.
  175. Tasan RO, Nguyen NK, Weger S, Sartori SB, Singewald N, Heilbronn R, Herzog H, Sperk G. (2010) *The central and basolateral amygdala are critical sites of neuropeptide Y/Y2 receptor-mediated regulation of anxiety and depression. J Neurosci*, 30(18): p. 6282-90.
  176. Bosch OJ and Neumann ID. (2008) *Brain vasopressin is an important regulator of maternal behavior independent of dams' trait anxiety. Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(44): p. 17139-44.
  177. Bosch OJ. (2011) *Maternal nurturing is dependent on her innate anxiety: the behavioral roles of brain oxytocin and vasopressin. Horm Behav*, 59(2): p. 202-12.
  178. Kessler MS, Murgatroyd C, Bunck M, Czibere L, Frank E, Jacob W, Horvath C, Muigg P, Holsboer F, Singewald N, Spengler D, Landgraf R. (2007) *Diabetes insipidus and, partially, low anxiety-related behaviour are linked to a SNP-associated vasopressin deficit in LAB mice. Eur J Neurosci*, 26(10): p. 2857-64.

179. Coverdill AJ, McCarthy M, Bridges RS, Nephew BC. (2012) *Effects of Chronic Central Arginine Vasopressin (AVP) on Maternal Behavior in Chronically Stressed Rat Dams*. Brain Sci, 2(4).
180. Overstreet DH and Griebel G. (2005) *Antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist SSR149415 in the Flinders Sensitive Line rat*. Pharmacol Biochem Behav, 82(1): p. 223-7.
181. Wigger A, Sanchez MM, Mathys KC, Ebner K, Frank E, Liu D, Kresse A, Neumann ID, Holsboer F, Plotsky PM, Landgraf R. (2004) *Alterations in central neuropeptide expression, release, and receptor binding in rats bred for high anxiety: critical role of vasopressin*. Neuropsychopharmacology, 29(1): p. 1-14.
182. Ebner K, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M. (2002) *Forced swimming triggers vasopressin release within the amygdala to modulate stress-coping strategies in rats*. Eur J Neurosci, 15(2): p. 384-8.
183. Cryan JF, Valentino RJ, Lucki I. (2005) *Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test*. Neurosci Biobehav Rev, 29(4-5): p. 547-69.
184. Cryan JF, Page ME, Lucki I. (2002) *Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effects of reboxetine in a modified forced swim test*. Eur J Pharmacol, 436(3): p. 197-205.
185. Cudnoch-Jedrzejewska A, Puchalska L, Szczepanska-Sadowska E, Wsol A, Kowalewski S, Czarzasta K. (2014) *The effect of blockade of the central V1 vasopressin receptors on anhedonia in chronically stressed infarcted and non-infarcted rats*. Physiol Behav, 135: p. 208-14.
186. Liebsch G, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M. (1996) *Septal vasopressin modulates anxiety-related behaviour in rats*. Neurosci Lett, 217(2-3): p. 101-4.
187. Gammie SC. *Maternal Aggression*, in *Biology of Aggression*, R.J. Nelson, Editor 2005, Oxford University Press. p. 250-266.
188. Lonstein JS. (2005) *Reduced anxiety in postpartum rats requires recent physical interactions with pups, but is independent of suckling and peripheral sources of hormones*. Horm Behav, 47(3): p. 241-55.

189. Lonstein JS. (2007) *Regulation of anxiety during the postpartum period*. Front Neuroendocrinol, 28(2-3): p. 115-41.
190. Krause EG, de Kloet AD, Flak JN, Smeltzer MD, Solomon MB, Evanson NK, Woods SC, Sakai RR, Herman JP. (2011) *Hydration state controls stress responsiveness and social behavior*. J Neurosci, 31(14): p. 5470-6.
191. Bosch OJ and Neumann ID. (2010) *Vasopressin released within the central amygdala promotes maternal aggression*. Eur J Neurosci, 31(5): p. 883-91.
192. Cordero MI, Ansermet F, Sandi C. (2013) *Long-term programming of enhanced aggression by peripuberty stress in female rats*. Psychoneuroendocrinology, 38(11): p. 2758-69.
193. Bayerl DS, Klampfl SM, Bosch OJ. (2014) *Central V1b receptor antagonism in lactating rats: Impairment of maternal care but not of maternal aggression*. J Neuroendocrinol.
194. Nephew BC and Bridges RS. (2008) *Central actions of arginine vasopressin and a V1a receptor antagonist on maternal aggression, maternal behavior, and grooming in lactating rats*. Pharmacol Biochem Behav, 91(1): p. 77-83.
195. Jentsch JD and Taylor JR. (2003) *Sex-related differences in spatial divided attention and motor impulsivity in rats*. Behav Neurosci, 117(1): p. 76-83.
196. Fodor A, Barsvari B, Aliczki M, Balogh Z, Zelena D, Goldberg SR, Haller J. (2014) *The effects of vasopressin deficiency on aggression and impulsiveness in male and female rats*. Psychoneuroendocrinology, 47: p. 141-50.
197. Aliczki M, Fodor A, Balogh Z, Haller J, Zelena D. (2014) *The effects of lactation on impulsive behavior in vasopressin-deficient Brattleboro rats*. Horm Behav, 66(3): p. 545-51.
198. Qureshi GA, Hansen S, Sodersten P. (1987) *Offspring control of cerebrospinal fluid GABA concentrations in lactating rats*. Neurosci Lett, 75(1): p. 85-8.
199. Lonstein JS and De Vries GJ. (2000) *Maternal behaviour in lactating rats stimulates c-fos in glutamate decarboxylase-synthesizing neurons of the medial preoptic area, ventral bed nucleus of the stria terminalis, and ventrocaudal periaqueductal gray*. Neuroscience, 100(3): p. 557-68.



200. Majewska MD, Ford-Rice F, Falkay G. (1989) *Pregnancy-induced alterations of GABAA receptor sensitivity in maternal brain: an antecedent of post-partum 'blues'?* Brain Res, 482(2): p. 397-401.
201. Miller SM, Piasecki CC, Peabody MF, Lonstein JS. (2010) *GABA(A) receptor antagonism in the ventrocaudal periaqueductal gray increases anxiety in the anxiety-resistant postpartum rat.* Pharmacol Biochem Behav, 95(4): p. 457-65.
202. Yoshimura H and Ogawa N. (1991) *Ethopharmacology of maternal aggression in mice: effects of diazepam and SM-3997.* Eur J Pharmacol, 200(1): p. 147-53.
203. Palanza P, Rodgers RJ, Ferrari PF, Parmigiani S. (1996) *Effects of chlordiazepoxide on maternal aggression in mice depend on experience of resident and sex of intruder.* Pharmacol Biochem Behav, 54(1): p. 175-82.
204. Arrati PG, Carmona C, Dominguez G, Beyer C, Rosenblatt JS. (2006) *GABA receptor agonists in the medial preoptic area and maternal behavior in lactating rats.* Physiol Behav, 87(1): p. 51-65.
205. Young SN and Leyton M. (2002) *The role of serotonin in human mood and social interaction. Insight from altered tryptophan levels.* Pharmacol Biochem Behav, 71(4): p. 857-65.
206. Kruesi MJ, Rapoport JL, Hamburger S, Hibbs E, Potter WZ, Lenane M, Brown GL. (1990) *Cerebrospinal fluid monoamine metabolites, aggression, and impulsivity in disruptive behavior disorders of children and adolescents.* Arch Gen Psychiatry, 47(5): p. 419-26.
207. Chen W, Zhang Q, Su W, Zhang H, Yang Y, Qiao J, Sui N, Li M. (2014) *Effects of 5-hydroxytryptamine 2C receptor agonist MK212 and 2A receptor antagonist MDL100907 on maternal behavior in postpartum female rats.* Pharmacol Biochem Behav, 117: p. 25-33.
208. Leonard BE, Ramaekers F, Rigter H. (1976) *Monamines in brain and urine of rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus.* Experientia, 32(7): p. 901-2.
209. Kovacs GL, Szabo G, Szontagh L, Medve L, Telegdy G, Laszlo FA. (1980) *Hereditary diabetes insipidus in rats. Altered cerebral indolamine and catecholamine metabolism.* Neuroendocrinology, 31(3): p. 189-93.

210. Torregrossa MM, Xie M, Taylor JR. (2012) *Chronic corticosterone exposure during adolescence reduces impulsive action but increases impulsive choice and sensitivity to yohimbine in male Sprague-Dawley rats.* Neuropsychopharmacology, 37(7): p. 1656-70.
211. Fodor A, Pinter O, Domokos A, Langnaese K, Barna I, Engelmann M, Zelena D. (2013) *Blunted HPA axis response in lactating, vasopressin-deficient Brattleboro rats.* J Endocrinol, 219(2): p. 89-100.
212. Gammie SC, Bethea ED, Stevenson SA. (2007) *Altered maternal profiles in corticotropin-releasing factor receptor 1 deficient mice.* BMC Neurosci, 8: p. 17.
213. Aguilera G. (1994) *Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress.* Front Neuroendocrinol, 15(4): p. 321-50.
214. Dallman MF. (1993) *Stress update Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress.* Trends Endocrinol Metab, 4(2): p. 62-9.
215. Spiga F, Harrison LR, Wood S, Knight DM, MacSweeney CP, Thomson F, Craighead M, Lightman SL. (2009) *Blockade of the V(1b) receptor reduces ACTH, but not corticosterone secretion induced by stress without affecting basal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity.* J Endocrinol, 200(3): p. 273-83.
216. Makara GB, Varga J, Barna I, Pinter O, Klausz B, Zelena D. (2012) *The vasopressin-deficient Brattleboro rat: lessons for the hypothalamo-pituitary-adrenal axis regulation.* Cell Mol Neurobiol, 32(5): p. 759-66.
217. Ma D and Morris JF. (2002) *Protein synthetic machinery in the dendrites of the magnocellular neurosecretory neurons of wild-type Long-Evans and homozygous Brattleboro rats.* J Chem Neuroanat, 23(3): p. 171-86.
218. Bundzikova J, Pirnik Z, Zelena D, Mikkelsen JD, Kiss A. (2010) *The alpha2-adrenoceptors do not modify the activity of tyrosine hydroxylase, corticoliberine, and neuropeptide Y producing hypothalamic magnocellular neurons in the Long Evans and Brattleboro rats.* J Physiol Pharmacol, 61(4): p. 391-8.
219. Pirnik Z, Mravec B, Kiss A. (2004) *Fos protein expression in mouse hypothalamic paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei upon osmotic*

- stimulus: colocalization with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase. Neurochem Int, 45(5): p. 597-607.*
220. Kawasaki M, Yamaguchi K, Saito J, Ozaki Y, Mera T, Hashimoto H, Fujihara H, Okimoto N, Ohnishi H, Nakamura T, Ueta Y. (2005) *Expression of immediate early genes and vasopressin heteronuclear RNA in the paraventricular and supraoptic nuclei of rats after acute osmotic stimulus. J Neuroendocrinol, 17(4): p. 227-37.*
221. Herman JP, Adams D, Prewitt C. (1995) *Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. Neuroendocrinology, 61(2): p. 180-90.*
222. Sawchenko PE, Arias CA, Mortrud MT. (1993) *Local tetrodotoxin blocks chronic stress effects on corticotropin-releasing factor and vasopressin messenger ribonucleic acids in hypophysiotropic neurons. J Neuroendocrinol, 5(4): p. 341-8.*
223. Herman JP. (1995) *In situ hybridization analysis of vasopressin gene transcription in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat: regulation by stress and glucocorticoids. J Comp Neurol, 363(1): p. 15-27.*
224. Duncan GE, Johnson KB, Breese GR. (1993) *Topographic patterns of brain activity in response to swim stress: assessment by 2-deoxyglucose uptake and expression of Fos-like immunoreactivity. J Neurosci, 13(9): p. 3932-43.*
225. Hosoya Y and Matsushita M. (1979) *Identification and distribution of the spinal and hypophyseal projection neurons in the paraventricular nucleus of the rat. A light and electron microscopic study with the horseradish peroxidase method. Exp Brain Res, 35(2): p. 315-31.*
226. Milutinovic-Smiljanic S, Sarenac O, Lozic-Djuric M, Murphy D, Japundzic-Zigon N. (2013) *Evidence for involvement of central vasopressin V1b and V2 receptors in stress-induced baroreflex desensitization. Br J Pharmacol, 169(4): p. 900-8.*
227. McCann SM, Antunes-Rodrigues J, Nallar R, Valtin H. (1966) *Pituitary-adrenal function in the absence of vasopressin. Endocrinology, 79(6): p. 1058-64.*

228. Yates FE, Russell SM, Dallman MF, Hodge GA, McCann SM, Dhariwal AP. (1971) *Potentiation by vasopressin of corticotropin release induced by corticotropin-releasing factor*. *Endocrinology*, 88(1): p. 3-15.
229. Wiley MK, Pearlmutter AF, Miller RE. (1974) *Decreased adrenal sensitivity to ACTH in the vasopressin-deficient (Brattleboro) rat*. *Neuroendocrinology*, 14(5): p. 257-70.
230. Salome N, Stemmelin J, Cohen C, Griebel G. (2006) *Differential roles of amygdaloid nuclei in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of the V1b receptor antagonist, SSR149415, in rats*. *Psychopharmacology (Berl)*, 187(2): p. 237-44.
231. Keen-Rhinehart E, Michopoulos V, Toufexis DJ, Martin EI, Nair H, Ressler KJ, Davis M, Owens MJ, Nemeroff CB, Wilson ME. (2009) *Continuous expression of corticotropin-releasing factor in the central nucleus of the amygdala emulates the dysregulation of the stress and reproductive axes*. *Mol Psychiatry*, 14(1): p. 37-50.
232. Feldman S, Conforti N, Saphier D. (1990) *The preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis are involved in the effects of the amygdala on adrenocortical secretion*. *Neuroscience*, 37(3): p. 775-9.
233. Dayas CV, Buller KM, Day TA. (1999) *Neuroendocrine responses to an emotional stressor: evidence for involvement of the medial but not the central amygdala*. *Eur J Neurosci*, 11(7): p. 2312-22.
234. Feldman S, Conforti N, Itzik A, Weidenfeld J. (1994) *Differential effect of amygdaloid lesions on CRF-41, ACTH and corticosterone responses following neural stimuli*. *Brain Res*, 658(1-2): p. 21-6.
235. Thrivikraman KV, Su Y, Plotsky PM. (1997) *Patterns of Fos-Immunoreactivity in the CNS Induced by Repeated Hemorrhage in Conscious Rats: Correlations with Pituitary-Adrenal Axis Activity*. *Stress*, 2(2): p. 145-158.
236. Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ. (1995) *Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress*. *Neuroscience*, 64(2): p. 477-505.

237. Jankord R and Herman JP. (2008) *Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress*. Ann N Y Acad Sci, 1148: p. 64-73.
238. Ventura-Silva AP, Pego JM, Sousa JC, Marques AR, Rodrigues AJ, Marques F, Cerqueira JJ, Almeida OF, Sousa N. (2012) *Stress shifts the response of the bed nucleus of the stria terminalis to an anxiogenic mode*. Eur J Neurosci, 36(10): p. 3396-406.
239. Choi DC, Furay AR, Evanson NK, Ostrander MM, Ulrich-Lai YM, Herman JP. (2007) *Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs*. J Neurosci, 27(8): p. 2025-34.

## 10. Saját publikációk jegyzéke

### A disszertációhoz kapcsolódó közlemények:

**2014 Fodor A**, Barsvári B, Aliczki M, Balogh Z, Zelena D, Goldberg SR, Haller J. The effects of vasopressin deficiency on aggression and impulsiveness in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Sep;47:141-50.

Aliczki M, **Fodor A**, Balogh Z, Haller J, Zelena D. The effects of lactation on impulsive behavior in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Hormones and Behavior*. *Horm Behav*. 2014 Aug;66(3):545-51.

**Fodor A**, Zelena D. The effect of maternal stress activation on the offspring during lactation in light of vasopressin. *ScientificWorldJournal*. 2014 Jan 14;2014:265394.

**2013 Fodor A**, Pintér O, Domokos A, Langnaese K, Barna I, Engelmann M, Zelena D. Blunted HPA axis response in lactating, vasopressin-deficient Brattleboro rats. *J Endocrinol*. 2013 Oct 4;219(2):89-100.

### Könyvfejezet:

*Hormones and Behavior*; Editors: Davis Simonsen; Nova Science Publishers; Pub. Date: 2013 - 2nd Quarter; ISBN: 978-1-62417-767-5

The Behavior of the Mother and Vasopressin (**Anna Fodor**, Dóra Zelena, HAS Institute of Experimental Medicine, Budapest, Hungary)

**2012 Fodor A**, Klausz B, Pintér O, Daviu N, Rabasa C, Rotllant D, Balazsfi D, Kovacs KB, Nadal R, Zelena D. Maternal neglect with reduced depressive-like behavior and blunted c-fos activation in Brattleboro mothers, the role of central vasopressin. *Horm Behav*. 2012 Sep;62(4):539-51.

### Egyéb közlemények:

**2014 Balázsfői D**, Pintér O, Klausz B, Kovács KB, **Fodor A**, Török B, Engelmann M, Zelena D. Restoration of peripheral V2 receptor vasopressin signaling fails to

correct behavioral changes in Brattleboro rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2014 Sep 19;51C:11-23. doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.09.011. (Epub ahead of print)

**Fodor A**, Tímár J, Zelena D. Behavioral effects of perinatal opioid exposure. *Life Sci*. 2014 May 28;104(1-2):1-8.

## 11. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt hálával és köszönettel tartozom témavezetőmnek, *Zelena Dórának* a lehetőségért, hogy kutatócsoportjában az egyetemi hallgatóként megkezdett TDK munkámat PhD keretein belül folytathattam, valamint hogy mindenben és mindenkor a segítségemre volt, támogatott céljaim megvalósításában. Köszönet megértéséért, türelméért és idejéért, melyet rám fordított.

Szeretném megköszönni a csoport minden jelenlegi és volt munkatársának az általuk nyújtott segítséget, nélkülük ez a dolgozat nem született volna meg. Hálával tartozom csoportvezetőnknek, *Haller Józsefnek*, valamint az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet és az Állatház minden munkatársának, hogy biztosították a hátteret és a feltételeket a hatékony munkavégzésemhez. Köszönettel tartozom *Klausz Barbarának* és *Pintér Ottónak*, hogy társaságukban ismerhettem meg a kísérletes kutatómunka mindennapjait, hogy bármivel és bármikor fordulhattam hozzájuk segítségért TDK munkám során. Külön köszönöm a kísérletek során és a mindennapokban nyújtott segítséget és támogatást *Venczkóné Bakos Nikolettának* és *Barsvári Beátának*. Hálával tartozom a közös munkákért TDK és PhD társaimnak: *Balázsfi Diának*, *Varga Jánosnak*, *Balogh Zoltánnak* és *Csikota Péternek*. *Mikics Évának* és *Aliczki Manónak* a gyakorlati segítségnyújtásokon túl, az elméleti, szakmai támogatást és az állandó kritikáikat szeretném megköszönni, amelyek a dolgozatom megírásában is óriási segítséget jelentettek.

Emellett külön köszönettel tartozom *Roser Nadalnak* és munkatársainak (*Nuria Daviu Abant*, *Cristina Rabasa Papió*, *David Rotllant* - Universitat Autònoma de Barcelona; Barcelona, Spanyolország), valamint *Mario Engelmannak* (Otto-von-Guericke-Universität, Inst Biochemie & Zellbiol., Magdeburg, Németország), hiszen az ő együttműködésük nélkül nem jöhetett volna létre ez a munka.