

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

**NEUROTENZINERG MECHANIZMUSOK
SZEREPE MAGATARTÁSI FOLYAMATOK
SZABÁLYOZÁSÁBAN**

Doktori (Ph.D.) Értekezés Tézisei

Dr. László Kristóf

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Lénárd László

Programvezető: Prof. Dr. Lénárd László

Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

Pécs, 2010

1. Bevezetés

A központi idegrendszerben a neurotensin (NT) neurotranszmitterként és neuromodulátorként fejt ki hatásait. Az NT rendszer hibás működését számos pszichiátriai és neurológiai kórképpel is kapcsolatba hozták, melyek között szerepel a skizofrénia, Parkinson-kór, hangulati zavarok és drogfüggőség. A ventralis tegmentalis area (VTA) és ventralis mesencephalon területén az NT pozitív megerősítő hatású, a nucleus accumbensben (NAC) pedig helytanulást moduláló hatását igazolták.

A centrális amygdala (CeA) a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a jutalmazási folyamatokban, motivációban, tanulásban és a memória folyamatok szabályozásában. Irodalmi adatok szerint a CeA gazdag NT tartalmú idegvégződésekben és neurotensin-1 receptorokban (NTS1), eddig azonban még nem vizsgálták az NT hatásait ebben a struktúrában. Kísérleteinkben arra kerestünk választ, hogy a CeA-ba injektált NT befolyásolja-e a megerősítési-, tanulási- és memória-folyamatokat.

Jelen dolgozat tárgya tehát a neuropeptid NT magatartási folyamatokra gyakorolt hatásainak vizsgálata a CeA területén patkányban. A neuropeptid pozitív megerősítési folyamatokra gyakorolt hatását helypreferencia tesztben vizsgáltuk. A szorongási szint mérésére emelt keresztpalló tesztet alkalmaztunk. Morris-féle úsztatási tesztben vizsgáltuk az NT tértanulásban betöltött szerepét és passzív elhárító tesztben a memória konszolidációra és retencióra gyakorolt hatását. Open field tesztben pedig az állatok spontán motoros aktivitását befolyásoló szerepét tanulmányoztuk. Választ kerestünk arra is, hogy a magatartási folyamatok szabályozását mely receptorokon keresztül fejt ki, illetve hogy a dopaminerg rendszer modulálása révén magyarázhatók-e ezen komplex magatartási hatások.

2. Célkitűzések:

- a. A mezolimbikus dopamin (DA) rendszer eredési területére, a VTA-ba injektált NT pozitív megerősítő hatású. Célszerű megvizsgálnunk, hogy a DA-rendszer ezen végződési területére, az NTS1-ben gazdag CeA-ba mikroinjektált NT rendelkezik-e pozitív megerősítő hatással **helypreferencia tesztben**.

- b. Pozitív megerősítő hatás esetén helypreferencia tesztben az állatok az apparátus egy adott térrészében több időt töltenek, mint máshol. Ez akár következménye is lehetne annak, hogy az adott anyag szorongást vált ki és az állatok keveset mozognak, az adott térrészben lekuporodnak. Ezért **emelt keresztpalló teszt**ben megvizsgáljuk, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT hatással van-e az állatok szorongására.
- c. Ismert, hogy az AMY szerepet játszik a tanulási folyamatok szabályozásában, leírták továbbá azt is, hogy más agystruktúrában a neurotenzinerger rendszer blokkolása helytanulási nehézséget okoz. Ezért megvizsgáljuk a CeA-ba mikroinjektált NT hatását **Morris-féle úsztatási teszt**ben, továbbá választ keresünk arra, hogy az NTS1 szerepet játszik-e ezen hatás közvetítésében.
- d. Az AMY-nak fontos szerepet tulajdonítanak a félelem-kondicionált tanulás kialakításában. Más agystruktúrákba injektálva már bizonyították, hogy az NT fokozza a memória kialakulását passzív elhárító paradigmában. Ezért a CeA-ba mikroinjektált NT hatását **passzív elhárító teszt**ben is megvizsgáljuk, továbbá választ keresünk arra, hogy a NTS1 szerepet játszik-e ezen hatás közvetítésében.
- e. Számos bizonyíték van arra vonatkozólag, hogy az NT kapcsolatban áll a DA rendszerrel mind anatómiai, mind funkcionális szempontból. Továbbá a mezolimbikus-mezokortikális DA rendszerről - melynek jelentős része az AMY-ban végződik - ismert, hogy kulcsfontosságú a tanulási és megerősítési folyamatok szabályozásában. Ebből kiindulva azt feltételezzük, hogy az NT ezen DA pályarendszer modulálásával fejti ki helytanulást, memóriát és helypreferenciát fokozó hatását. Mindezzért **helypreferencia teszt**ben, **Morris-féle úsztatási teszt**ben és **passzív elhárító szituációban** is vizsgáljuk az NT-DA interakció hatását, oly módon, hogy DA D2 antagonistát előkezelést alkalmazunk az NT beadása előtt.
- f. Választ keresünk továbbá arra a kérdésre is, hogy az NT fent említett magatartási folyamatok szabályozásában betöltött szerepében az NT esetleges motoros aktivitást moduláló hatása befolyásoló szereppel bír-e. Ezért **open field teszt**ben is megvizsgáljuk az NT, illetve az NTS1 antagonistát és a DA D2 antagonistát spontán motoros aktivitásra kifejtett hatását.

3. Anyagok és módszerek:

3.1. Kísérleti állatok:

Kísérleteinkben 440 hím Wistar patkányt használtunk, melyek testsúlya 280-300 g volt. Az állatokat klimatizált állatházban tarottuk (a hőmérséklet 22 ± 2 °C, a relatív páratartalom 65-70 %-os volt.) A természetes napszaknak megfelelő mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, 12 óra sötét és 12 óra világos periódust biztosítottunk. A kísérleteket reggel 8 órakor kezdtük. Az állatok standard laboratóriumi tápot (Charles River Magyarország Kft., Budapest) és csapvizet ad libitum fogyaszthattak, kivéve a tesztek ideje alatt. Az állatok tartásánál és a kísérletek során az állatetikai kódex szabályait betartva jártunk el (European Community Council Directive - 1986. November 24. 86-609-EEC).

3.2. Műtétek:

A műtéteket altatásban végeztük, ehhez ketamin (80mg/testtömeg kg, Calypsol Richter Gedeon) és diazepam (20mg/testtömeg kg, Seduxen Richter Gedeon) keverékét használtuk, melyet i.p. alkalmaztunk. Sztereotaxikus technikával végzett műtét során rozsdamentes fém vezetőkanülöket vezetünk be a CeA fölé bilaterálisan. A kanülök átmérője 22 gauge volt és belső vége 1 mm-rel a célzott struktúra fölött helyezkedett el. A célzott terület koordinátáit Paxinos és Watson atlasza szerint határoztuk meg. A kanül végének koordinátái a következők voltak DV: -6,5 mm a durához képest, AP: -2,3 mm, L: $\pm 4,1$ mm a bregmához viszonyítva. A vezető kanülöket a koponyacsontba erősített csavarok segítségével fogászati akriláttal rögzítettük. A krónikusan beépített vezető kanülökbe 27 gauge átmérőjű mandrinokat helyeztünk az eltömődés és a következményes anyagbeadás megghiúsulásának megelőzésére. Az állatokat kézhez szoktattuk és a kísérleteket 6 napos posztoperatív periódus után kezdtük meg, amikor az állatok visszanyerték a műtét előtti testsúlyukat.

3.3. Anyagbeadás:

Kísérleteinkhez NT-t (Sigma-Aldrich Co.: N 3010, moláris tömeg 1830,72 g/mol), alkalmaztunk két különböző dózisban: 100 ng (54,6 pmol) és 250 ng (136, 5 pmol). Az NT-t 0,01 M Na-acetátot és 0,01 M foszfát puffert tartalmazó fiziológiás sóoldatban (NaCl) oldottuk fel, melynek pH-ja 7,4 volt. A kontroll állatok ezt a vivőanyagot kapták (Veh1), az NT mikroinjekciókkal azonos térfogatban. A nem-peptid típusú NTS1 antagonistá – SR 48692 (Sanofi, moláris tömeg 586 g/mol) 35 ng (60 pmol) dózisért alkalmaztuk. Az antagonistát 2% dimetil-szulfidot (DMSO) és 0,01 M foszfát puffert tartalmazó fiziológiás sóoldatban oldottuk fel, melynek pH-ja 7,4 volt. Ezt az oldatot, (Veh2) injektáltuk a megfelelő kontroll csoport állatainak az antagonistá injekciókkal azonos térfogatban. Az oldatokat tartalmazó csöveket a kísérlet során végig + 4 °C-on tartottuk. Az anyagokat minden esetben bilaterálisan 0,4-0,4 µl térfogatban injektáltuk.

Az NT-vel végzett kísérleteink során a következő csoportokat alakítottuk ki: 100 ng NT: 100 ng NT-t kapott állatok, 250 ng NT: 250 ng NT-t kapott állatok, Kontroll: Veh1-et kapott állatok. Az NTS1 antagonistával végzett kísérletek során a következő négy csoportba osztottuk a patkányokat: ANT: 35 ng NTS1 antagonistá + Veh1 kezelt állatok, ANT+NT: 35 ng antagonistá előkezelés után 100 ng NT kezelésben részesült állatok. 100 ng NT: Veh2 előkezelés után 100 ng NT kapott állatok. Kontroll: kontroll állatok, melyek két vehiculum injekciót kaptak (Veh1 és Veh2). Az antagonistá vagy a Veh2 beadás mindig 15 perccel az NT vagy Veh1 beadás előtt történt. A dózisok minden esetben az egyik oldalra történt mikroinjekciók dózisért jelentik, az állatok tehát összesen mindig az említett dózis kétszeresét kapták. A DA D2 antagonistával végzett kísérleteink során Sulpiridet (Sigma-Aldrich Co.: S7771(S), moláris tömeg 341,43 g/mol) alkalmaztunk 5 µg (14,6 nmol) dózisban. A Sulpiridet 0,1 M HCl-ben oldottuk és desztillált vízzel a kívánt koncentrációra hígítottuk úgy, hogy a pH-t 0,1 M NaOH-val 7,4-re állítottuk be. Ezt az oldatot, (Veh3) injektáltuk a megfelelő kontroll csoport állatainak az antagonistá injekciókkal azonos térfogatban. Az anyagbeadás során a beépített vezető kanülökből eltávolítottuk a dugóként funkcionáló mandrinokat, majd bevezettük a beadó kanült (külső átmérő 27 gauge, 0,4 mm), mely 1 mm-el túlnyúlt a vezető kanülön, elérve a CeA-t, lehetővé téve ezzel a tizedmilliméter-pontos anyagbeadást. A beadó kanült polietilén

csövön keresztül 10 µl-es Hamilton fecskendőhöz speciálisan csatlakoztattuk, mely az oldott anyagokat tartalmazta. A fecskendőt Cole-Parmer automata pumpa (Cole-Parmer, IITC, Life Sci. Instruments, California) működtette, mely segítségével 1 percen keresztül folyamatosan, egyenletes tempóban juttatta az anyagot bilaterális mikroinjekciók formájában a célterületre. A beadást követően további 1 percig bent tartottuk a kanült a beadott anyag visszafolyásának megelőzése érdekében, majd eltávolítás után ismét mandrinnal zártuk a kanüloket. Az egész műveletet kézben tartott, éber állatokon végeztük.

3.4. Magatartási tesztek:

3.4.1. Helypreferencia teszt:

A helypreferencia teszt kémiai anyagok jutalmazó-megerősítő hatásának vizsgálatára szolgál [43]. A teszteléséhez egy 85 cm átmérőjű, 40 cm magas falú, henger alakú kádat használtunk (kör alakú ‘open field’ doboz). A sötétszürke apparátus alján lévő vonalak azt négy egyenlő nagyságú kvadránsra osztották. Az állatok térbeli orientációját külső vizuális “jelek”, ún. “cue”-k segítették, amelyek az egész kísérletsorozat során konstans pozícióban voltak. Helypreferencia tesztjeink során az apparátust 40 W-os izzóval világítottuk meg. A dobozt minden egyes kísérlet után kimostuk és megszáritottuk.

A helypreferencia tesztet négy egymást követő napon végeztük. A kísérlet első napján az állatokat habituáltuk, minden állatot konstans pozícióban az apparatus közepére helyeztünk. Ezt követően 15 percen (900 s) keresztül szabadon mozoghattak az egész apparatus területén. Mértük a patkányok által megtett utat és az egyes kvadránsokban töltött időt másodperc pontossággal. A vizsgálat második és harmadik napján történt az állatok kondicionálása. Az anyagbeadást követően az állatot a kezelő kvadránsba helyeztük. A kezelő kvadráns az apparátus kör alakú térrészének egyik, átlátszó plexiüveggel speciálisan elrekesztett negyede. Minden egyes állatnak az apparátus egy olyan negyedét jelöltük ki kezelő kvadránsnak, ahol habituáció során nem a legtöbb, de nem is a legkevesebb időt töltötte. A kezelő kvadránsok megoszlása kiegyenlített volt az egyes csoportokon belül, az állatokat a különböző kezelési csoportokba véletlenszerűen soroltuk be. A patkányok 15 percen keresztül tartózkodtak a kezelő kvadránsban, ezalatt

társíthatták a beadott szer által kiváltott hatást a helyhez. Az állatok mindvégig láthatták a külső vizuális jeleket, melyek alapján tájékozódhattak.

Teszt során – a negyedik napon eltávolítottuk a plexi térelválasztót, majd a patkányokat anyagbeadás nélkül az apparatus közepére helyeztük konstans pozícióban. Ezt követően 15 percen keresztül szabadon mozoghattak az egész apparatus területén. A helypreferencia kiépülésének az volt a kritériuma, hogy az állatoknak szignifikánsan több időt kellett tölteniük a kezelő kvadránsban a teszt alatt, mint a habituáció során.

3.4.2. *Emelt keresztpalló teszt (Elevated plus-maze):*

Az emelt keresztpalló tesztet egyes anyagok anxiogén vagy anxiolitikus hatásának kimutatására használják [17]. A kísérleti berendezés egymással szemben elhelyezkedő két *nyitott* (50x12 cm) és két *zárt* (50x12x40 cm) karból állt, melyek egy méterrel a talaj fölött kereszt alakban helyezkedtek el. A mikroinjekciót követően a kísérleti állatot az apparátus közepére helyeztük, orral az egyik *zárt* kar irányába. Ezután 5 percig (300 s) figyeltük az állatok mozgását és viselkedését. Mértük a *zárt* karokon, a *nyitott* karokon és a *nyitott* karok végein eltöltött időt, valamint a *zárt* karokra, a *nyitott* karokra és a *nyitott* karok végeire történő belépések számát.

3.4.3. *Morris-féle úsztatási teszt (Morris water maze):*

Kísérleteinkhez egy 150 cm átmérőjű, kör alakú medencét használtunk, melyet vízzel töltöttünk meg. A vizet színtelen, szagtalan ételfestékkel festettük meg és egy 10x10 cm alapterületű platformot helyeztünk el a medencében úgy, hogy annak felszíne a víz szintje alatt 2 cm-el helyezkedjen el, és ezáltal a patkányok azt ne láthassák. A medence körül jól látható, a tájékozódást segítő tárgyakat helyeztünk el (cue-k). Kísérletünket egy nappal megelőzően az állatokat habituáltuk az úsztatási teszthez, ami abból állt, hogy 90 s-ig úsztak a platform nélküli apparátusban. A kísérlet során az állatokat minden esetben a medence fala mellé, fejjel a fal felé helyeztük be az apparátusba, innen úsztak a fix helyzetű platformra. A starthelyet ülésenként változtattuk. A patkányok addig maradtak a medencében amíg a platformot meg nem találták. Amennyiben valamelyik állatnak ez

három perc (180 s) alatt nem sikerült, azt a kísérletvezető helyezte a platformra. Másodperces pontossággal mértük a *céltalálási latenciát* (azaz, hogy mennyi idő alatt találják meg a biztonságos, fix helyzetű platformot). Első nap kétszer úsztak az állatok, majd ezután történtek a mikroinjekciók a CeA-ba. Második nap is kétszer úsztattuk a patkányokat, az első naphoz hasonlóan és ezúttal is mértük a céltalálási latenciákat.

3.4.4. *Passzív elhárító teszt:*

Kísérleteinket két kompartmentes passzív elhárító apparátusban végeztük. A kísérleti berendezés egy nagyobb (60x60x60 cm), világosszürkére festett falú, jól megvilágított (100 W-os izzó) és egy hozzá csatlakozó kisebb (15x15x15 cm) fedett, sötét dobozból állt. A kisebb doboz teteje levehető volt és aljára sokkoló rácsot építettünk. A két dobozt egy csapóajtó választotta el. Az apparátust minden egyes ülést követően kimostuk és megszáritottuk. A passzív elhárító tanulási teszt 8 napig tartott, habituáció, kondicionálás és teszt ülésekből állt. Az egyes ülések maximum 3 percig tartottak. A habituáció során az állatokat a jól megvilágított doboz közepére helyeztük, ezt követően szabadon mozoghattak az egész apparátus területén. A kondicionálás során (második nap) az állatokat újra a világos doboz közepére helyeztük és mértük azt az időt másodpercben ami a sötét dobozba való belépésükig telt el (latencia idő). Miután az állatok a sötét dobozba léptek a guillotine ajtót bezártuk. A kondicionálás gyenge sokkal (0,4 mA) történt, amit háromszor 1 s-ig végeztük. Az anyagokat a sokk után, a patkányokat a dobozból kivéve injektáltuk a CeA-ba. A kondicionálás után 24 órával, valamint 1 héttel később végeztünk tesztek (teszt 1, 2). Az állatokat ismét a világos doboz közepére helyeztük és ezúttal is mértük a sötét (sokkoló) dobozba lépés latencia idejét. Ha az állat a 3 perces perióduson belül nem lépett be a sötét dobozba, az ülést befejeztük, és a belépési latenciát 180 s-nak értékeltük.

3.4.5. *Open field teszt:*

A kétoldali mikroinjekciókat követően a patkányokat egy 60x60x60 cm-es dobozba helyeztük. A doboz alját 16 egyenlő méretű négyzetre osztottuk. Öt percen keresztül

figyeltük és a doboz fölé erősített videokamerával rögzítettük az állatok viselkedését. Mértük a megtett távolságot és a keresztezések számát.

3.5. Adatok kiértékelése:

3.5.1. Szövettan:

A kísérletek befejezését követően Calypsol és Seduxen 4:1 arányú keverékével az állatokat elaltattuk, és először fiziológiás sóoldattal, majd ezt követően 10%-os formaldehid oldattal transzkardiálisan perfundáltuk. Az eltávolított és fixált agyakból 1 hét múlva mikrotommal 40 μm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket krezil ibolyával festettünk meg. Az értékelés fénymikroszkóppal történt, a Paxinos és Watson-féle sztereotaxikus atlasz segítségével rekonstruáltuk a kanülök valós helyét [46]. A statisztikai analízisből kizártuk azon állatokat, amelyek esetében a kanül nem a célterületen volt.

3.5.2. Statisztika:

A kísérleti eredményeket egy-szemponos és két-szemponos varianciaanalízissel (ANOVA GraphPad InStat for Windows 3.0) dolgoztuk fel. Szignifikáns különbség esetén, 'post hoc' Tukey tesztet végeztünk az eredmények további analízisére. A szignifikancia szintet $p < 0,05$ -nek tekintettük, a szignifikáns értékeket a grafikonokon csillaggal és kettős kereszttel jelöltük.

4. Eredmények

4.1. Helypreferencia teszt

Kimutattuk, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT pozitív megerősítő hatású. Azon patkányok ugyanis, melyek 100 ng NT vagy 250 ng NT kezelésben részesültek szignifikánsan több időt töltöttek *teszt* során a kezelő kvadráns területén. Az NT pozitív megerősítő hatása NTS1 specifikus, mivel NTS1 antagonistá előkezelés ezt kivédte. A pozitív megerősítő hatás hátterében az NT DA-rendszert moduláló hatása állhat, mivel a DA D2 antagonistá előkezelés felfüggesztette ezt a hatást.

4.2. Emelt keresztpalló teszt

Emelt keresztpalló tesztben az NT szorongásra kifejtett hatását vizsgáltuk. Az állatokat 100 ng NT vagy 250 ng NT vagy vehiculum mikroinjekcióját követően teszteltük. Mértük a *nyitott* karokon és a *nyitott* karok végein töltött időt és a *nyitott* karokra történő kilépések számát, egyik paraméterben sem találtunk statisztikai eltérését a vizsgált csoportok között. Igazoltuk tehát, hogy a CeA-ba injektált 100 ng NT és 250 ng NT nem befolyásolja a szorongást emelt keresztpalló tesztben.

4.3. Morris-féle úsztatási teszt

Morris-féle úsztatási tesztben vizsgáltuk az NT helytanulásra gyakorolt hatását. Kimutattuk, hogy a 100 ng NT- és 250 ng NT kezelésben részesült állatok szignifikánsan rövidebb idő alatt megtalálták a biztonságos platformot, mint a kontroll csoport tagjai. Adataink továbbá azt is igazolták, hogy a 100 ng NT kezelt állatok szignifikánsan jobban teljesítettek, mint az NTS1 antagonistá előkezelés után NT-nel kezelt állatok, vagy az NTS1 antagonistá kezelésben részesült csoport tagjai. Elsőként mutattuk ki, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT fokozza a helytanulást és ez a hatás NTS1 specifikus, mert NTS1 antagonistá előkezeléssel kivédhető. DA D2 antagonistával végzett kísérleteink azt mutatták, hogy az NT tanulást fokozó hatása valószínűleg a DA rendszer modulálása révén jön létre, mert DA D2 antagonistá előkezelés hatására a céltalálási latencia szignifikánsan magasabb, mint a 100 ng NT-nel kezelt csoport esetén.

4.4. Passzív elhárító teszt

A CeA-ba adott NT tanulást facilitáló hatásának bizonyult. A 100 ng NT szignifikánsan megnövelte a latencia időt, amely jelzi, hogy ezek az állatok jobban tanultak. Ez a hatás NTS1 specifikus, mert NTS1 antagonistá előkezelés kivédte. Másrésztől azonban a 250 ng NT kezelésben részesült állatok csak tendenciát mutattak a tanulásra. A DA rendszer szerepet játszhat az NT passzív tanulást fokozó hatásában, mert DA D2 antagonistá előkezelés ezt a hatást kivédte.

4.5. Open field teszt

Open field tesztben vizsgáltuk az állatok spontán motoros aktivitását a bilaterális mikroinjekciókat követően. A következő csoportokat vizsgáltuk: 100 ng NT-, 250 ng NT-, NTS1 antagonistá-, NTS1 antagonistá + NT, DA D2 antagonistá-, DA D2 antagonistá+NT kezelésben részesült állatok. Minden csoportnál a mikroinjekciót követő alapaktivitást hasonlítottuk össze az előző napi alapaktivitással. Mértük a megtett távolságot és a keresztezések számát. A mért paramétereket illetően nem találtunk szignifikáns eltérést az egyes csoportok közt.

5. DISZKUSSZIÓ

5.1. Helypreferencia teszt

Kísérleti adataink azt igazolják, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT pozitív megerősítő hatású. Ezen eredmények összevethetők az irodalomban talált adatokkal. A ventralis mesencephalon egyes területeire, többek között a VTA-ba juttatott NT pozitív megerősítő hatású helypreferencia tesztben. [13,36]. Kémiai öningerléses kísérletekben is bizonyították a ventralis tegmentális area-ba öninjektált NT megerősítő hatását [12].

A CeA, a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a memória folyamatok szabályozásában [28] és a megerősítésben [22,25] és ismert, hogy ezen struktúra viszonylag gazdag NTS1-okban [6,9,31,45]. Irodalmi adatok szerint a CeA-ba juttatott NT befolyásolja az idegsejtek működését. In vitro kísérleti eredmények azt bizonyították, hogy a vizsgált CeA neuronok 60 %-ának szignifikánsan nőtt a tüzelési frekvenciája NT hatására, míg 9 %-uknak csökkent [26]. Saját elektrofiziológiai kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy altatott patkányok CeA-jába elektroforetikus vagy mikronyomással bejuttatott NT bizonyos neuronokból excitatórikus más neuronokból inhibitorikus választ vált ki. A fenti eredmények fényében nyilvánvaló, hogy a CeA-ba juttatott NT befolyásolja a CeA neuronhálózataink aktivitását.

Ismert, hogy az NT legnagyobb affinitással az NTS1-okhoz kötődik. [24,45]. Kísérleteinkben ezért szelektív, non-peptid NTS1 antagonistá SR 48692-t használtunk,

amelyről korábban már kimutatták, hogy képes gátolni az NT hatására létrejövő viselkedési hatásokat [40]. Eredményeink azt mutatják, hogy az NTS1-k fontos szerepet játszanak a helypreferencia kialakulásában, mert az NTS1 antagonisták előkezelés kivédi ezt a hatást. A kémiaiailag stabil NTS1 antagonisták SR 48692-t 15 perccel az NT kezelés előtt alkalmaztuk, hogy elég ideje legyen az NTS1-okhoz kötődnie.

Bizonyos neuropeptidekről, mint például a substance P-ről és az NT-ről is azt feltételezik, hogy pozitív megerősítő hatásának hátterében a mezolimbikus DA rendszer modulálása állhat [21]. A neurotenziner és a dopaminerg rendszerek közötti kölcsönhatást már különböző szinteken bizonyították. Biokémiai és elektrofiziológiai adatok igazolják, hogy a VTA vagy a substantia nigra DA sejtjeinek aktivitását megváltoztatja az NT, továbbá facilitálja az endogén DA felszabadulást a striatumban, a NAC-ban és a prefrontalis kéregben. [16,27,35]. Számos elektrofiziológiai tanulmányban publikálták, hogy az NT fokozza a dopaminerg idegsejtek működését in vivo és in vitro. Leírták, hogy az NT stimulálja a dopaminerg neuronok tüzelési frekvenciáját a substantia nigrában, a VTA-ban és a frontális kéreg pyramis sejtjein. [19,34,38]. Továbbá kimutatták az NT és a DA ko-lokalizációját, sőt azt is, hogy bizonyos idegsejteknél ugyanazon vezikulumokban található meg az NT és a DA is [4,5]. Feltevéseink szerint a CeA-ba mikroinjektált NT pozitív megerősítő hatását a mezolimbikus DA rendszer modulálása révén fejt ki. Kísérleteinkben a DA D2 antagonisták előkezelés kivédte az NT pozitív megerősítő hatását.

5.2. Emelt keresztpalló teszt

Az emelt keresztpalló tesztet két fő ok miatt végeztük el: egyrészt a CeA a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a félelemhez társuló magatartás szabályozásában és tudjuk azt is, hogy a CeA viszonylag gazdag NTS1-okban. Szerettük volna tehát megvizsgálni, hogy a CeA-ba injektált NT hatást gyakorol-e az anxietasra. Másrészt pedig felmerülhet, hogy helypreferencia teszt során az állatok esetleg azért töltöttek több időt a kezelő kvadránsban, mert az NT hatására szorongtak. Adataink azt támasztják alá, hogy a CeA-ba injektált NT se nem anxiolitikus, se nem anxiogén. Ebből

az a következtetés vonható le, hogy az állatok nem azért töltöttek több időt a kezelő kvadránsban helypreferencia teszt során, mert szorongtak.

5.3. Morris water maze test

A Morris-féle úsztatási tesztet széles körben alkalmazzák a helytanulási folyamatok vizsgálatára. Kísérleti apparátusunk mérete és a kísérlet paraméterei megfeleltek a Morris által használt és publikált feltételeknek [29]. Vizsgálataink során az állatokat kétszer úsztattuk két napon keresztül. A Morris-féle úsztatási teszt irodalmában széles skáláját találjuk a teszt során végzett úsztatások számának és ezen belül is az egy napon lévő ülések számának [1,7,23,30]. Általában elmondhatjuk, hogy a tanulási deficit mérésére több napon keresztül végzett, magas úsztatási szám alkalmas, míg az esetleges tanulást, memóriát fokozó hatás vizsgálatakor viszonylag kevés ülést alkalmaznak [30,42]. Az anyagbeadásokat az úsztatások után végeztük, mivel leírták, hogy a memória konszolidáció ekkor történik [18]. További előnye az úsztatás utáni anyagbeadásnak az, hogy ily módon kizárható, hogy a helytanulás kiépülésében nem-specifikus folyamatok is szerepet játszhatnak, így például az adott anyag hatása a szorongásra, fájdalomra vagy az állatok aktivitására. Tudomásunk szerint a CeA-ba injektált NT helytanulásra kifejtett hatását még nem vizsgálták. A kísérleteinkben alkalmazott 100 ng NT és 250 ng NT szignifikánsan csökkentette a céltalálási latenciát, azaz fokozta a helytanulást. Számos tanulmány bizonyította már az NT tanulásban és megerősítésben betöltött szerepét [13,36,37,41]. Tudomásunk szerint elsőként mutattuk ki, hogy az intraamygdaloid NT fokozza a helytanulást és a memóriát. Kísérleteinket ezúttal is Noldus EthoVision programmal értékeltük ki és azt kaptuk, hogy az egyes csoportok között nem volt szignifikáns különbség, sem az úszási sebességekben, sem habituáció során a leúszott távolságokban. Eredményeink tehát nem magyarázhatók az állatok közötti motoros aktivitási különbségekkel. Kísérleteinkben szelektív non-peptid NTS1 antagonistát, SR 48692-t használtuk, amiről ismert, hogy képes blokkolni számos NT által indukált hatást [14,32,33]. Irodalmi adatok szerint a nucleus accumbens-be injektált SR 48692 gátolta a helytanulási- és memória-folyamatokat [41]. Az általunk használt dózisú NTS1 antagonistát önmagában nem befolyásolta a helytanulást. Eredményeink szerint az NT

helytanulást fokozó hatása NTS1 specifikus, mert szelektív NTS1 antagonistával ez a hatás kivédhető. Az NT tanulást-, memóriát fokozó hatását valószínűleg a DA-rendszer modulálása révén fejt ki. Vizsgálati eredményeink ugyanis azt mutatják, hogy DA D2 antagonistá előkezelés ezt a hatást kivédi. A pontos mechanizmus feltérképezéséhez további vizsgálatok szükségesek.

5.4. Passzív elhárító teszt

Kísérleti eredményeink azt mutatják, hogy az NT tanulást fokozó hatású passzív elhárító tesztben. A patkányok természetüknél fogva szeretik a sötét, zárt helyeket, a büntetés lényege pedig abban áll, hogy ha az állatok bemennek a kis, sötét, zárt dobozba, akkor elektromos sokkot alkalmazunk kondicionálás során, amely fájdalmat okoz a patkányoknak. Korábban már igazolták az NT szerepét a fájdalom transzmisszióban [8]. Ezek alapján feltételezhető lenne, hogy az NT nem a memória konszolidációra és retencióra hat, hanem esetleg a fájdalom-transzmisszió modulálása révén növeli a belépési latenciát. Ennek elkerülésére az NT-t minden esetben az elektromos sokk alkalmazása után injektáltuk. Kísérleteinkben a 100 ng NT szignifikánsan növelte a belépési latenciát, a 250 ng NT-t kapott állatok pedig tendenciát mutattak a tanulásra, de ez a hatás nem érte el a szignifikancia szintet. Irodalmi adatok szerint az NT harang alakú dózis-hatás görbét mutathat [39]. Ezen mechanizmus hátterében több dolog is állhat: egyrészt az internalizálódott receptorok intracelluláris degradációja [15,44], másrészt pedig bizonyították az NTS1 gyors deszenzitizációját és down regulációját [2,10].

Kísérleti eredményeink azt mutatják, hogy az NT passzív elhárító tanulást fokozó hatása NTS1 specifikus, mert NTS1 előkezelés ezt a hatást kivédte. Feltételezzük továbbá, hogy az NT memóriát fokozó hatását a mezolimbikus DA rendszer modulálása révén fejt ki, mivel DA D2 antagonistá előkezelés felfüggesztette az NT tanulást fokozó hatását.

5.5. Open field teszt

Az Open field teszt az általános motoros aktivitás vizsgálatára alkalmas paradigma. A CeA-ba mikroinjektált NT hatása az állatok motoros aktivitására számunkra több

szempontból is fontos volt. Helypreferencia tesztben kimutattuk, hogy az NT pozitív megerősítő hatású, azaz az állatok több időt tartózkodnak egy adott térrészben. Ez esetleg magyarázható lenne az állatok hypoaktivitásával. Az NT motoros aktivitásra gyakorolt hatása befolyásolhatná a passzív elhárító tesztben és a Morris-féle úsztatási tesztben mért tanulási latencia időket. Az irodalmi adatok nem egységesek az NT motoros aktivitásra gyakorolt hatásával kapcsolatos eredményeket illetően. A VTA-ba injektált NT fokozza a spontán motoros aktivitást [20], a NAC-ban azonban lecsökkenti az amfetamin hatására létrejövő hyperaktivitást, illetve az önmagában adott NT ebben a struktúrában lecsökkenti az állatok open field aktivitását [3,11]. Kísérleteinkben a CeA-ba injektált 100 ng NT és 250 ng NT nem befolyásolta a spontán lokomotoros aktivitást és más magatartási hatásokat sem, mint pl. az “ágaskodást” (rearing), “mosakodást” (grooming).

6. Eredményeink összefoglalása

- 1., A CeA-ba mikroinjektált 100 ng NT és 250 ng NT pozitív megerősítő hatású kondicionált helypreferencia tesztben, ez a hatás NTS1 specifikus, mivel NTS1 antagonistával kivédhető.
- 2., Az NT pozitív megerősítő hatása kivédhető DA D2 receptor antagonistákkal előkezeléssel.
- 3., Emelt keresztpalló tesztben igazoltuk, hogy a CeA-ba injektált 100 ng NT és 250 ng NT nem befolyásolja a szorongást, azaz nincs anxiolitikus vagy anxiogén hatása. Ez az eredmény alátámasztja az NT pozitív megerősítő hatását, amelyet helypreferencia tesztben mutattunk ki, azaz az állatok nem azért töltöttek több időt az apparatus egyes részeiben, mert szorongtak.
- 4., Morris-féle úsztatási tesztben igazoltuk, hogy az NT részt vesz a helytanulási folyamatok szabályozásában és ez a hatás NTS1 specifikus.

5., Igazoltuk, hogy a helytanulást facilitáló hatás DA D2 receptor antagonistá előkezeléssel kivédhető.

6., Passzív elhárító tesztben kimutattuk, hogy neuroenzimerg folyamatok részt vesznek a büntetéses tanulás- és a memóriefolyamatok szabályozásában és ez a hatás NTS1 antagonistával felfüggeszthető.

7., Igazoltuk, hogy az NT memóriefolyamatok szabályozására gyakorolt pozitív hatása DA D2 antagonistá előkezeléssel kivédhető.

8., Az NT pozitív megerősítő hatása, a memória kialakulása és retenciója nem magyarázhatók a motoros aktivitásra kifejtett hatással, mivel Open field tesztben az NT nem befolyásolta az állatok motoros aktivitását. NTS1 és DA D2 antagonistá előkezelés, vagy az önmagában adott antagonistá kezelések nem befolyásolták szignifikánsan az állatok open field aktivitását.

7. Irodalomjegyzék

- [1] S. Aspley and K.C. Fone, Galanin fails to alter both acquisition of a two trial per day water maze task and neurochemical markers of cholinergic or serotonergic neurones in adult rats, *Brain Res* 622 (1993) 330-336.
- [2] E. Audinat, J.M. Hermel and F. Crepel, Neurotensin-induced excitation of neurons of the rat's frontal cortex studied intracellularly in vitro, *Exp Brain Res* 78 (1989) 358-368.
- [3] P. Bauco and P.P. Rompre, Central neurotensin receptor activation produces differential behavioral responses in Fischer and Lewis rats, *Psychopharmacology (Berl)* 168 (2003) 253-261.
- [4] A.J. Bean, T.E. Adrian, I.M. Modlin and R.H. Roth, Dopamine and neurotensin storage in colocalized and noncolocalized neuronal populations, *J Pharmacol Exp Ther* 249 (1989) 681-687.
- [5] A.J. Bean, M.J. During, A.Y. Deutch and R.H. Roth, Effects of dopamine depletion on striatal neurotensin: biochemical and immunohistochemical studies, *J Neurosci* 9 (1989) 4430-4438.
- [6] H. Boudin, D. Pelaprat, W. Rostene and A. Beaudet, Cellular distribution of neurotensin receptors in rat brain: immunohistochemical study using an antipeptide antibody against the cloned high affinity receptor, *J Comp Neurol* 373 (1996) 76-89.

- [7] E.J. Chesler and J.M. Juraska, Acute administration of estrogen and progesterone impairs the acquisition of the spatial morris water maze in ovariectomized rats, *Horm Behav* 38 (2000) 234-242.
- [8] B.V. Clineschmidt, J.C. McGuffin and P.B. Bunting, Neurotensin: antinociceptive action in rodents, *Eur J Pharmacol* 54 (1979) 129-139.
- [9] P.E. Cooper, M.H. Fernstrom, O.P. Rorstad, S.E. Leeman and J.B. Martin, The regional distribution of somatostatin, substance P and neurotensin in human brain, *Brain Res* 218 (1981) 219-232.
- [10] E. Donato di Paola, B. Cusack, M. Yamada and E. Richelson, Desensitization and down-regulation of neurotensin receptors in murine neuroblastoma clone N1E-115 by [D-Lys⁸] neurotensin(8-13), *J Pharmacol Exp Ther* 264 (1993) 1-5.
- [11] G.N. Ervin, L.S. Birkemo, C.B. Nemeroff and A.J. Prange, Jr., Neurotensin blocks certain amphetamine-induced behaviours, *Nature* 291 (1981) 73-76.
- [12] P.W. Glimcher, A.A. Giovino and B.G. Hoebel, Neurotensin self-injection in the ventral tegmental area, *Brain Res* 403 (1987) 147-150.
- [13] P.W. Glimcher, D.H. Margolin, A.A. Giovino and B.G. Hoebel, Neurotensin: a new 'reward peptide', *Brain Res* 291 (1984) 119-124.
- [14] D. Gully, M. Canton, R. Boigegrain, F. Jeanjean, J.C. Molimard, M. Poncelet, C. Gueudet, M. Heaulme, R. Leyris, A. Brouard and et al., Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor, *Proc Natl Acad Sci U S A* 90 (1993) 65-69.
- [15] E. Hermans, J.N. Octave and J.M. Maloteaux, Receptor mediated internalization of neurotensin in transfected Chinese hamster ovary cells, *Biochem Pharmacol* 47 (1994) 89-91.
- [16] E. Hetier, A. Boireau, P. Dubedat and J.C. Blanchard, Neurotensin effects on evoked release of dopamine in slices from striatum, nucleus accumbens and prefrontal cortex in rat, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 337 (1988) 13-17.
- [17] S. Hogg, A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety, *Pharmacol Biochem Behav* 54 (1996) 21-30.
- [18] J.P. Huston and M.S. Oitzl, The relationship between reinforcement and memory: parallels in the rewarding and mnemonic effects of the neuropeptide substance P, *Neurosci Biobehav Rev* 13 (1989) 171-180.
- [19] P.W. Kalivas, Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area, *Brain Res Brain Res Rev* 18 (1993) 75-113.
- [20] P.W. Kalivas, C.B. Nemeroff and A.J. Prange, Jr., Increase in spontaneous motor activity following infusion of neurotensin into the ventral tegmental area, *Brain Res* 229 (1981) 525-529.
- [21] E. Kertes, K. Laszlo, B. Berta and L. Lenard, Positive reinforcing effects of substance P in the rat central nucleus of amygdala, *Behav Brain Res* 205 (2009) 307-310.
- [22] S. Killcross, T.W. Robbins and B.J. Everitt, Different types of fear-conditioned behaviour mediated by separate nuclei within amygdala, *Nature* 388 (1997) 377-380.

- [23] P.J. Kraemer, R.W. Brown, S.A. Baldwin and S.W. Scheff, Validation of a single-day Morris Water Maze procedure used to assess cognitive deficits associated with brain damage, *Brain Res Bull* 39 (1996) 17-22.
- [24] F. Le, B. Cusack and E. Richelson, The neurotensin receptor: is there more than one subtype?, *Trends Pharmacol Sci* 17 (1996) 1-3.
- [25] J.E. LeDoux, J. Iwata, P. Cicchetti and D.J. Reis, Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear, *J Neurosci* 8 (1988) 2517-2529.
- [26] Y.F. Lu, A. Moriwaki, Y. Hayashi, K. Tomizawa, T. Itano and H. Matsui, Effects of neurotensin on neurons in the rat central amygdaloid nucleus in vitro, *Brain Res Bull* 40 (1996) 135-141.
- [27] R. Markstein and P. Emson, Effect of neurotensin and its fragments neurotensin-(1-6) and neurotensin-(8-13) on dopamine release from cat striatum, *Eur J Pharmacol* 152 (1988) 147-152.
- [28] J.L. McGaugh, I.B. Introini-Collison, L.F. Cahill, C. Castellano, C. Dalmaz, M.B. Parent and C.L. Williams, Neuromodulatory systems and memory storage: role of the amygdala, *Behav Brain Res* 58 (1993) 81-90.
- [29] R. Morris, Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat, *J Neurosci Methods* 11 (1984) 47-60.
- [30] R.G. Morris, P. Garrud, J.N. Rawlins and J. O'Keefe, Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions, *Nature* 297 (1982) 681-683.
- [31] E. Moyse, W. Rostene, M. Vial, K. Leonard, J. Mazella, P. Kitabgi, J.P. Vincent and A. Beaudet, Distribution of neurotensin binding sites in rat brain: a light microscopic radioautographic study using monoiodo [¹²⁵I]Tyr³-neurotensin, *Neuroscience* 22 (1987) 525-536.
- [32] M. Poncelet, C. Gueudet, D. Gully, P. Soubrie and G. Le Fur, Turning behavior induced by intrastriatal injection of neurotensin in mice: sensitivity to non-peptide neurotensin antagonists, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 349 (1994) 57-60.
- [33] T.A. Pugsley, H.C. Akunne, S.Z. Whetzel, S. Demattos, A.E. Corbin, J.N. Wiley, D.J. Wustrow, L.D. Wise and T.G. Heffner, Differential effects of the nonpeptide neurotensin antagonist, SR 48692, on the pharmacological effects of neurotensin agonists, *Peptides* 16 (1995) 37-44.
- [34] A. Reches, R.E. Burke, D. Jiang, H.R. Wagner and S. Fahn, Neurotensin interacts with dopaminergic neurons in rat brain, *Peptides* 4 (1983) 43-48.
- [35] M. Reinecke, Neurotensin. Immunohistochemical localization in central and peripheral nervous system and in endocrine cells and its functional role as neurotransmitter and endocrine hormone, *Prog Histochem Cytochem* 16 (1985) 1-172.
- [36] P.P. Rompre, P. Baucó and A. Gratton, Facilitation of brain stimulation reward by mesencephalic injections of neurotensin-(1-13), *Eur J Pharmacol* 211 (1992) 295-303.
- [37] W.B. Rowe, S. Kar, M.J. Meaney and R. Quirion, Neurotensin receptor levels as a function of brain aging and cognitive performance in the Morris water maze task in the rat, *Peptides* 27 (2006) 2415-2423.

- [38] V. Seutin, L. Massotte and A. Dresse, Electrophysiological effects of neurotensin on dopaminergic neurones of the ventral tegmental area of the rat in vitro, *Neuropharmacology* 28 (1989) 949-954.
- [39] D.J. Smith, A.A. Hawranko, P.J. Monroe, D. Gully, M.O. Urban, C.R. Craig, J.P. Smith and D.L. Smith, Dose-dependent pain-facilitatory and -inhibitory actions of neurotensin are revealed by SR 48692, a nonpeptide neurotensin antagonist: influence on the antinociceptive effect of morphine, *J Pharmacol Exp Ther* 282 (1997) 899-908.
- [40] R. Steinberg, P. Brun, M. Fournier, J. Souilhac, D. Rodier, G. Mons, J.P. Terranova, G. Le Fur and P. Soubrie, SR 48692, a non-peptide neurotensin receptor antagonist differentially affects neurotensin-induced behaviour and changes in dopaminergic transmission, *Neuroscience* 59 (1994) 921-929.
- [41] G. Tirado-Santiago, G. Lazaro-Munoz, V. Rodriguez-Gonzalez and C.S. Maldonado-Vlaar, Microinfusions of neurotensin antagonist SR 48692 within the nucleus accumbens core impair spatial learning in rats, *Behav Neurosci* 120 (2006) 1093-1102.
- [42] K. Toth, K. Laszlo and L. Lenard, Role of intraamygdaloid acylated-ghrelin in spatial learning, *Brain Res Bull* 81 (2010) 33-37.
- [43] T.M. Tzschentke, Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues, *Prog Neurobiol* 56 (1998) 613-672.
- [44] F. Vandebulcke, D. Nouel, J.P. Vincent, J. Mazella and A. Beaudet, Ligand-induced internalization of neurotensin in transfected COS-7 cells: differential intracellular trafficking of ligand and receptor, *J Cell Sci* 113 (Pt 17) (2000) 2963-2975.
- [45] J.P. Vincent, J. Mazella and P. Kitabgi, Neurotensin and neurotensin receptors, *Trends Pharmacol Sci* 20 (1999) 302-309.
- [46] G.P.a.C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic Press, New York (1986).

8. Publikációs jegyzék

7.1. A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk:

K. Laszlo, K. Toth, E. Kertes, L. Peczely and L. Lenard, The role of neurotensin in positive reinforcement in the rat central nucleus of amygdala, *Behav. Brain Res.* 208 430-435. (2010) **(IF:3,171)**

K. Laszlo, K. Toth, E. Kertes, L. Peczely, T. Ollmann and L. Lenard, Effects of neurotensin in amygdaloid spatial learning mechanisms, *Behav. Brain Res.* 210 280-283. (2010) **(IF:3,171)**

7.2. Egyéb publikációk:

K. Toth, **K. Laszlo**, E.E. Bagi, E. Lukacs and L. Lenard, Effects of intraamygdaloid microinjections of acylated-ghrelin on liquid food intake of rats, *Brain Res. Bull* 77 (2008) 105-111. **(IF:2,281)**

E. Kertes, **K. Laszlo**, B. Berta and L. Lenard, Effects of substance P microinjections into the globus pallidus and central nucleus of amygdala on passive avoidance learning in rats, *Behav. Brain Res.* 198 (2009) 397-403. **(IF:3,171)**

E. Kertes, **K. Laszlo**, B. Berta and L. Lenard, Positive reinforcing effects of substance P in the rat central nucleus of amygdala, *Behav. Brain Res.* 205 (2009) 307-310. **(IF:3,171)**

K. Toth, **K. Laszlo**, E. Lukacs and L. Lenard, Intraamygdaloid microinjection of acylated-ghrelin influences passive avoidance learning, *Behav. Brain Res.* 202 (2009) 308-311. **(IF:3,171)**

K. Toth, **K. Laszlo** and L. Lenard, Role of intraamygdaloid acylated-ghrelin in spatial learning, *Brain Res. Bull* 81 (2010) 33-37. **(IF:2,281)**

E. Kertes, **K. László**, B. Berta, L. Lénárd, Positive reinforcing effects of substance P in the rat globus pallidus revealed by conditioned place preference, *Behav. Brain Res.*, Volume 215, Issue 1, 20 December 2010, Pages 152-155. **(IF:3,171)**

7.3. Citálható absztraktok:

E. Kertes, **K. László**, P. Sándor, L. Lénárd: Influence of learning and anxiety by substance P in the globus pallidus and amygdala. *Acta Neurobiol Exp*, Vol. 63: p.: 56, 2003.

E. Kertes, **K. László**, L. Lénárd: Involvement of NK1 receptors in the effects of substance P injected into the rat central nucleus of amygdala. *Clinical Neurosci.*, 56(2): p:46-47, 2003.

K. László, E. Kertes, K. Tóth, O.K. Várady, Sz. Tálos, L. Lénárd: The role of neurotensin and neurotensin-1 receptor antagonist (SR 48692) in positive reinforcement. *Acta Physiol. Hung.*, 93: 201-202, 2006.

Olga Hangodi, Barbara Urbán, Péter Inkő, Szilvia Tálos, **Kristóf László**, Éva E. Bagi, Éva M. Fekete, Balázs Lukács, László Lénárd, Yutaka Oomura, Shuji Aou Behavioral effects of orexin-A in the bed nucleus of stria terminalis of rat *International Congress Series*, Volume 1301, July 2007, Pages 234-237

Tóth K., Lukács E., **László K.**, Bagi E. E., Lénárd L.: Effects of intraamygdalar injection of ghrelin on liquid food and water intake. *Clinical Neuroscience* 59 (1 suppl.), 66, 2007.

K. László, K. Tóth, E. Kertes, O.K. Várady, R. Bárdosi, L. Lénárd: Effect of neurotensin in amygdaloid learning mechanisms. *Clinical Neuroscience*, 60(1): p.: 39, 2007.

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

László K., Tóth K., Bárdosi R., Oláh-Várady K., Kertes E., Lénárd L.: The role of neurotensin in Morris water maze and passive avoidance paradigm. *Acta Physiologica Hungarica*, 94(4): 369-370, 2007.

Oláhné Várady K., L. Péczely, **K. László**, E. Kertes, B. Berta, L. Lénárd: Application of D1 receptor antagonist prevents learning enhancement induced by D1 receptor agonist in the ventral pallidum. *Acta Physiologica Hungarica*, 94(4): 382, 2007.

E. Kertes, **K. László**, B. Berta, L. Lénárd: Effects of substance P injected into the rat globus pallidus or central nucleus of amygdala on passive avoidance learning. *Frontiers in Neurosci.*, 2010, Conference abstract : IBRO International Workshop 2010. (doi: 10.3389/conf.fnins.2010.10.00161)

K. László, K. Tóth, E. Kertes, L. Péczely, T. Ollmann, L. Lénárd: The role of intraamygdaloid neurotensin receptor 1 in Morris water maze paradigm. *Frontiers in Neurosci.*, 2010, Conference abstract : IBRO International Workshop 2010. (doi: 10.3389/conf.fnins.2010.10.00161)

K. Tóth, **K. László**, L. Lénárd: Amygdaloid acylated-ghrelin injections induce changes in serum metabolite concentrations. *Frontiers in Neurosci.*, 2010, Conference abstract : IBRO International Workshop 2010. (doi: 10.3389/conf.fnins.2010.10.00135)

7.4. Konferencia absztraktok:

László Kristóf: Az amygdala centrális magjába injektált substance P tanulást fokozó hatása úsztatási tesztben. Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, 2002.

László Kristóf: Az amygdala centrális magjába injektált substance P hatása helypreferencia és elevated plus maze tesztben. Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, 2003.

László Kristóf: Az amygdala centrális magjába injektált substance P hatása helypreferencia és elevated plus maze tesztben. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Debrecen, 2003.

Lenard, L., Kertes, E., **Laszlo, K.**: Effects of substance P and NK1 receptor antagonist WIN 62.577 in amygdaloid learning mechanisms., International Behavioral Neuroscience Society San Juan, Puerto Rico. April 23-27, 2003.

László Kristóf: Az amygdala centrális magjába injektált substance P hatásának vizsgálata magatartási tesztekben, patkányokon. Dékáni Pályamunka, 2003.

László Kristóf, Táros Szilvia: Az amygdala centrális magjába injektált substance P helytanulást fokozó hatása Morris féle úsztatási tesztben. Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, 2004.

Táros Szilvia, **László Kristóf**: Az amygdala centrális magjába injektált neurotensin hatása helypreferencia és elevated plus maze tesztben. Tudományos Diákköri Konferencia, Pécs, 2004.

Inkő Péter, Táros Szilvia, **László Kristóf**: Az amygdala centrális magjába injektált orexin A hatása helypreferencia, open field és elevated plus maze tesztben. Országos Tudományos Diákköri Konferencia, Szeged 2005.

Hangodi, O., B. Urbán, P. Inkő, Sz. Táros, **K. László**, L. Lénárd: Az orexin-A hatásának vizsgálata az amygdalában kondicionált helypreferencia, open field és elevated plus maze tesztben. A MÉT LXIX. Vándorgyűlése, P74, p.: 98, 2005.

Olga Hangodi, B. Urbán, P. Inkő, Sz. Táros, **K. László** and L. Lénárd Behavioral examination of the effects of orexin-A in the amygdaloid body LXIX. Conference of the Hungarian Society of Physiology, June 2-4, 2005, Budapest, Hungary

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

László, Kristóf, Kertes, Erika, Várady, Katalin, Táros, Szilvia, Inkő, Péter, Lénárd, László: Positive reinforcement effect of Neurotensin injected into the rat central nucleus of amygdala IBRO Workshop 2006. Bp.

Oláhné Várady, Katalin, Kertes, Erika, **László, Kristóf**, Péczely, László, Berta, Beáta, Lénárd, László: Ventral pallidum learning mechanisms: The role of D1 receptors IBRO Workshop 2006. Bp.

Olga Hangodi, B. Urbán, P. Inkő, Sz. Táros, **K. László**, É.E. Bagi, É. M. Fekete, B. Lukács, L. Lénárd, Y. Oomura, and S. Aou The action of orexin-A on learning and anxiety in the bed nucleus of stria terminalis FENS FORUM 2006, July 8-12, 2006, Vienna, Austria

Olga Hangodi, B. Urbán, P. Inkő, Sz. Táros, **K. László**, É.E. Bagi, É. M. Fekete, B. Lukács, L. Lénárd, Y. Oomura, and S. Aou Complex behavioral functions of

orexin-A in the bed nucleus of stria terminalis 36th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, October 14-18, 2006, Atlanta, Georgia, USA

Olga Hangodi, B. Urbán, P. Inkő, Sz. Tálos, **K. László**, É. E. Bagi, É. Fekete, B. Lukáts, L. Lénárd, Y. Oomura and S. Aou Behavioral effects of orexin-A in the bed nucleus of stria terminalis of rat In International Congress Series (Vol. 1301), Elsevier Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (2006)

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

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

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

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

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

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

Olga Hangodi, B. Lukáts, P. Inkő, **K. László**, L. Lénárd, Y. Oomura, S. Aou In vivo and in vitro effects of orexin-A in the bed nucleus of stria terminalis 10th Tamagawa-Riken Dynamic Brain Forum, March 5-7, 2007, Hakuba, Japan

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

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

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

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

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

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

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

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

K. László, R. Bárdosi, L. Péczely, Á. Molnár, Sz. Sánta, E. Kertes, K. Oláh-Várady, K. Tóth, L. Lénárd: The role of neurotensin- dopamine interactions in positive reinforcement. 72nd Joint Meeting of the Hungarian Physiological Society, Debrecen, Hungary, jun 4-6, 2008. Oral Presentation. Abstract book p.:86. Acta Physiologica Hungarica, 96(1): 96-97, 2009.

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

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

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

László K., Molnár Á., Tóth K., Péczely L., Kertes E., Lénárd L.: The role of neurotensin and dopamine interaction in spatial learning mechanism, 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, January, Budapest, Hungary, 2009. (doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.097).

Kertes E., **László K.**, Berta B., Lénárd L.: Positive reinforcing and anxiolytic effects of substance P injected into the rat globus pallidus. 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, January, Budapest, Hungary, 2009. (doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.095).

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

László K., Molnár Á., Tóth K., Péczely L., Kertes E., Lénárd L.: Neurotenzin-dopamin interakciók jelentősége passzív elhárító tanulásban A Magyar Élettani Társaság LXXIII. Vándorgyűlése, Budapest, 2009.

László K., Tenk J., Tóth K., Kertes E., Ollmann T., Péczely L., Lénárd L. Intraamygdaloid neurotenzin-1 receptor és dopamin D2 receptor szerepe helytanulási folyamatok szabályozásában A Magyar Élettani Társaság LXXIV. Vándorgyűlése, Szeged, 2010. Poszter könyv: 135. o.

Tóth K., **László K.**, Lénárd L. Az intraamygdaloid acylált-ghrelin csökkenti, míg a desacylált-ghrelin nem okoz változást a táplálék felvételben. A Magyar Élettani Társaság LXXIV. Vándorgyűlése, Szeged, 2010. Poszter könyv: 143. o.

Kertes E., **László K.**, Berta B., Lénárd L.: The role of substance P in memory formation studied by passive avoidance paradigm. FENS Abstract, Vol: 6 146, 24, 2010.