

**A ventralis pallidum neurotenzinreceptorainak szerepe a
magatartás szabályozásában**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Ollmann Tamás

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

**Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola
Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szekeres Júlia
Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán
Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László**

Pécs, 2016

1. Bevezetés

Napjainkban a drogaddikció, illetve a szorongásos zavarok igen komoly egészségügyi és társadalmi problémát jelentenek. Számos neuromodulátor szerepét leírták már ezekben a folyamatokban [1, 2], ezek közé tartozik a neurotensin (NT) is [3, 4]. A NT számos más transzmitter hatását befolyásolja a központi idegrendszerben, ezek közül a legfontosabb a dopamin (DA) [5], a gamma-amino-vajsav (GABA) [6, 7], a glutamát [8], a szerotonin (ST) [9, 10], valamint az acetil-kolin [10].

A NT a központi idegrendszer szerteágazó területein megtalálható, így a motivációs és jutalmazó folyamatokban központi szerepet betöltő, a nucleus accumbensből (NAC) a ventralis pallidumba (VP) projiciáló ventralis striatopallidális pálya végződéseiben is [11]. A VP a magatartás szabályozásának egyik fontos integráló központja [12]. Részt vesz a motivációs és a jutalomszignálok hatásának feldolgozásában és integrálásában [13], valamint a szorongás szabályozásában is [14]. A NT számos agyterületen a DA-erg rendszerrel interakcióban fejti ki hatását [5].

A VP-ban NT-erg neuronvégzódések és NT-receptorok egyaránt kimutathatók: a NT jelenléte egyedül a VP ventromedialis alrégiójára (VPvm) jellemző, így a dorsolaterális VP-ban (VPdl) vagy más alrégiókban alig detektálható [11, 15]. A NT-immunoreaktivitás főleg a striatopallidális axonterminálisokon mutatható ki, viszont a perikaryonokon nem vagy csak minimálisan [11]. A NT receptorai közül a VPvm területén a NTS1-receptorok fordulnak elő a legnagyobb sűrűségben [16, 17], amelyek típusosan a dendriteken, illetve az idegsejtek perikaryonjain helyezkednek el [16]. A NTS2-receptorok csak nagyon alacsony koncentrációban vannak jelen [17, 18]. A NTS3-receptorok jelenlétét a VP-ban eddig nem igazolták. A NT vagy NT-antagonisták elektrofiziológiai hatásait eddig még nem vizsgálták a VP-ba történő direkt mikroinjekciót követően, viszont kimutatták, hogy NTS1-antagonisták i.p. injekciója csökkenti a VPvm neuronjainak tüzelési frekvenciáját, miközben a VPdl-ra nincsenek hatással [19]. A NT a VP-ban megnöveli az extracelluláris GABA-szintet [7]. Ismert továbbá, hogy a VPvm gátlásának következtében GABA-erg efferens pályák is gátlódnak, a ventralis tegmentális area (VTA) pedig felszabadul a gátlás alól [20]. A fentiek alapján a VP-ba injektált NT a VTA DA-erg neuronjainak aktivitását befolyásolva szerepet játszhat a pozitív megerősítő és jutalmazó folyamatokban. A VP-ba

injektált NT esetleges magatartási hatásairól keveset tudunk, de annyi bizonyos, hogy szerepet játszik a drogaddikcióban: kokainadminisztrációt, majd extinkciót követően a NT(8-13) a VP-ban potenciózza a kokainalapú, de gátolja a cue-alapú drogkereső magatartást, míg a lokomócióra nincs hatással [7].

2. Célkitűzések

A fentiek alapján láthatjuk, hogy a NT, illetve a NTS1-receptorok szerepet játszhatnak a jutalom, valamint a megerősítés szabályozásában fontos ventralis striatopallidalis projekciók modulációjában [11, 21, 22]. Mindazonáltal a NT direkt hatásait a VP-ban eddig még nem vizsgálták sem a pozitív megerősítésre, sem a szorongásra. Emiatt a következő kísérleteket végeztük el:

1. A NT, illetve a NTS1-receptor-antagonista SR 48692 lokomotoros aktivitásra gyakorolt esetleges akut hatásainak vizsgálata céljából open field tesztet (OPF) végeztünk.
2. Jelen kísérleteink másik célja a VP-ba injektált NT esetleges jutalmazó hatásának vizsgálata volt. Erre a célra az ún. kondicionált helypreferencia-tesztet (CPP) alkalmaztuk.
3. Amennyiben a NT jutalmazónak bizonyul, további céljaink között szerepelt annak igazolása, hogy a NT ezt a hatást a VP-ban nagy koncentrációban előforduló NTS1-receptorokon fejt-e ki.
4. Kísérleteink másik vonulata a ventralis pallidumba injektált NT esetleges anxiolitikus hatásának vizsgálata volt. Erre a célra az ún. emelt keresztpalló tesztet (EPM) alkalmaztuk.
5. Kíváncsiak voltunk arra is, hogy amennyiben a NT befolyásolja az anxiétást, ezt a hatást NTS1-receptorokon fejt-e ki.

6. Célunk volt még, hogy ha a NT a fenti paradigmák valamelyikében hatásosnak bizonyul, akkor megvizsgáljuk, hogy ez(eke)t a hatás(oka)t a VP D2 DA-receptorainak gátlása hogyan módosítja.

3. Kísérleti módszertan

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteink során 279 hím Wistar-patkányt használtunk (LATI, Gödöllő), melyek átlagos testsúlya a kísérletek kezdetekor 280-320 g volt. Az állatok a műtétek előtt 1 héttel kerültek át a tenyészetből klimatizált állatházunkba (ahol a hőmérséklet 22 ± 1 °C, a páratartalom: $55 \pm 10\%$). A természetes napszaknak megfelelő mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, 12 óra sötét és 12 óra világos periódust biztosítva. A világos periódus reggel 7 órakor, a sötét este 19 órakor kezdődött. Az állatokat különálló ketrecekben, de ugyanazon helyiségben helyeztük el. Erre azért volt szükség, mert az állatok fején lévő korona megsérülhetne a más állatokkal való találkozás során, illetve a többi állatnak is sérülést okozhatna. A ketrecek tisztítását szakképzett személyek végezték napi rendszerességgel. Az állatok standard laboratóriumi rágcsálótápot (Charles River Magyarország Kft., Budapest) és csapvizet fogyaszthattak *ad libitum*. A patkányokat a műtéteket megelőzően a kísérletet végzők kezéhez szoktattuk (ún. „handling”). Az állatok tartása során az egyetemi (BA02/2000-8/2012), hazai (40/2013. (II. 14.) számú Magyar Kormányrendelet) és nemzetközi (European Community Council Directive, 86/609/EEC, 1986, 2010) állatkísérletes etikai irányelveknek megfelelően jártunk el.

3.2. Sztereotaxikus műtét

A műtéteket általános anesztéziában végeztük, melyet ketamin (Calypsol, Richter Gedeon Zrt., 80 mg/ttkg) és diazepam (Seduxen, Richter Gedeon Zrt., 20 mg/ttkg) keverékének intraperitonealis injekciójával idéztünk elő. Sztereotaxikus műtéti technika segítségével 22 gauge (0,64 mm) átmérőjű rozsdamentes acél vezetőkanülöket implantáltunk bilaterálisan a célterület fölé 0,5 mm-rel. A célterület koordinátáit Paxinos és

Watson sztereotaxikus agyatlása [23] alapján határoztuk meg. Az alkalmazott koordináták a bregmához viszonyítva a következők voltak: anteroposterior (AP): -0,26 mm (a bregmától posterior irányban), laterálisan (ML): 2,2 mm (a középvonaltól), dorsoventrálisan (DV): 7,1 mm (a dura felszínétől mérve). A kanülöket a koponyacsonthoz és a koponyacsontba fűrt 3 rozsdamentes acél csavarhoz rögzítettük fogászati akrilát segítségével (Duracryl). A vezetőkanülöket 27 gauge (0,36 mm) átmérőjű steril dugókkal zártuk le, amelyeket az anyagbeadás során eltávolítottunk. Az állatok a műtétek során antibiotikum-profilaxisban részesültek (G-penicillin). A posztoperatív időszakban az állatoknak legalább 6 napot hagytunk a felépülésre a kísérletek megkezdése előtt. Minden állatot neurológiai vizsgálatnak vetettünk alá, hogy meggyőződhessünk a szenzoros és a motoros funkcióik intakt voltáról. A magatartási tesztek a nappali periódusban végeztük, 08.00 és 18.00 óra között.

3.3. Az alkalmazott kísérleti anyagok és azok mikroinjekciója

A NT-t (Sigma-Aldrich Co., N6383) 0,15 M-os steril sóoldatban oldottuk fel, amely 0,01 M Na-acetátot és 0,01 M foszfát-pufferes sóoldatot tartalmazott (PBS, pH 7,4). A NT mikroinjekciókat két különböző dózisban alkalmaztuk: 100 ng vagy 250 ng. A NTS1-antagonista SR 48692-t (Tocris Co., Cat. No. 3721) 2% dimetil-szulfoxidot és 0,01M PBS-t tartalmazó 0,15 M-os steril sóoldatban oldottuk fel. Az SR 48692-t 35 ng-os dózisban mikroinjektáltuk. A D2 DA receptor antagonist (S)-(-)-sulpiridet (Sigma-Aldrich Co., S7771) fiziológiás sóoldatban oldottuk fel, a sulpirid 4 µg-os dózisát alkalmaztuk. A dózisok oldalanként értendők.

A NT [24-27], illetve a sulpirid [28] dózisait pilot kísérletek alapján, illetve a más agyterületeken alkalmazott intracerebrális mikroinjekciónál korábban hatásos dózistartományok alapján választottuk meg. Az SR 48692 dózisát úgy választottuk meg, hogy a NT hatásos dóziséval ekvimoláris legyen, az antagonist dózisa így jóval meghaladja az 50%-os inhibitoros koncentrációt [29].

A mikroinjekció előzőleg kézhez szoktatott, kézben tartott, éber állatokon történt. Az összes anyagot 27 gauge átmérőjű rozsdamentes acél beadókanülökön keresztül juttattuk be, amelyek 0,5 mm-rel hosszabbak voltak az implantált vezetőkanülöknél. A beadókanülök polietilén csöveken keresztül (PE-10) 10 µl-es Hamilton-fecskendőkhöz

csatlakoztak (Hamilton Co., Bonaduz, Svájc). Az egyes mikroinjekciók 0,4 µl térfogatban történtek, Cole-Parmer-féle digitális infúziós pumpa használatával (Cole-Parmer, IITC, Life Sci. Instruments, Kalifornia, USA), 60 sec időtartam alatt. A mikroinjekciókat követően a beadókanüloket további 60 sec-ig a vezetőkanülokben hagytuk, így gátolva az oldatok visszafolyását és biztosítva az anyagok diffúzióját a célterületre. Minden beadás után meggyőződünk arról is, hogy a beadókanül nem tömődött el.

Az egyes kísérletekben alkalmazott kezeléseket a következő áttekintő táblázat tartalmazza (a részleteket ld. alább):

OPF	kontroll (veh2 + veh1) (n=6) 100 ng NT (n=8) 250 ng NT (n=6) 35 ng SR 48692 + veh1 (n=6) 35 ng SR 48692 + NT (n=6)
CPP	kontroll (veh1) (n=11) 100 ng NT (n=12) 250 ng NT (n=13)
	kontroll (veh2 + veh1) (n=10) veh2 + 100 ng NT (n=13) 35 ng SR 48692 + veh1 (n=7) 35 ng SR 48692 + 100 ng NT (n=12)
	kontroll (veh3 + veh1) (n=11) veh3 + 100 ng NT (n=6) 4 µg sulpirid + veh1 (n=8) 4 µg sulpirid + 100 ng NT (n=11)
EPM	kontroll (veh1) (n=9) 100 ng NT (n=8) 250 ng NT (n=8)
	kontroll (veh2 + veh1) (n=9) veh2 + 100 ng NT (n=8) 35 ng SR 48692 + veh1 (n=9) 35 ng SR 48692 + 100 ng NT (n=8)
	kontroll (veh3 + veh1) (n=11) veh3 + 100 ng NT (n=6) 4 µg sulpirid + veh1 (n=9) 4 µg sulpirid + 100 ng NT (n=10)

Az OPF tesztben a NT 100 ng-ját (n=8) vagy 250 ng-ját (n=6) mikroinjektáltuk az állatoknak. Az antagonistával kezelt csoport (n=6) 35 ng SR 48692-t, majd 15 perc múlva a NT vivőanyagát (veh1), az antagonistá előkezelést követően NT-nel kezelt csoport (n=6)

35 ng SR 48692-t, majd 15 perc múlva 100 ng NT-t kapott. A kontrollcsoport állatai (n=8) az SR 48692 vivőanyagát (veh2), majd 15 perc múlva veh1-et kaptak.

Az első CPP kísérlet során a NT 100 ng-os (n= 12) vagy 250 ng-os (n=13) dózist mikroinjektáltuk bilaterálisan az állatoknak, a kontrollcsoport (n=11) veh1-et kapott az NT-mikroinjekciókkal azonos térfogatban. A második (az antagonistával végzett) CPP kísérlet során a NT-nel kezelt csoport (n=13) állatai veh2-t, és ezt követően 100 ng NT-t kaptak (azt a dózist, amely az első kísérlet során hatásosnak bizonyult, ld. az eredményeknél). Az antagonistával kezelt (n=7) csoport 35 ng SR 48692-t, majd veh1-et kapott. Az antagonista előkezelést követően NT-nel kezelt csoport (n=12) 35 ng SR 48692-t, majd 15 perc múlva 100 ng NT-t kapott. A kontrollcsoport (n=10) állatai két alkalommal kaptak vivőanyagot (veh2 + veh1). Az antagonistát vagy a veh2-t mindig 15 perccel a NT vagy a veh1 előtt adtuk be. A harmadik (sulpiriddel végzett) CPP kísérlet során a NT-nel kezelt csoport (n=6) állatai a sulpirid vivőanyagát (veh3), és ezt követően 100 ng NT-t kaptak. A sulpiriddel kezelt csoport (n=8) 4 µg sulpiridet, majd veh1-et kapott. A sulpirid előkezelést követően NT-nel kezelt csoport (n=11) 4 µg sulpiridet, majd 15 perc múlva 100 ng NT-t kapott. A kontrollcsoport (n=11) állatai két alkalommal kaptak vivőanyagot (veh3 + veh1). A sulpiridet vagy a veh3-t mindig 15 perccel a NT vagy a veh1 előtt adtuk be. A második és harmadik CPP kísérlet során antagonista vagy sulpirid előkezelést követően alkalmazott NT 15 perc alatt 2 mikroinjekciót jelent az állat számára, ezért a többi csoport állatai szintén 2-2 mikroinjekciót kaptak 15 perc különbséggel, hogy az egyes csoportok eredményei összehasonlíthatók legyenek.

Az első EPM kísérlet során az állatok 100 ng (n= 8) vagy 250 ng (n=8) NT-t kaptak bilaterálisan, a kontrollcsoport (n=9) veh1-et kapott az NT-mikroinjekciókkal azonos térfogatban. A második EPM kísérletben a NT-nel kezelt csoport (n=8) veh2-t, majd 100 ng NT-t kapott. Az antagonistával kezelt csoport (n=9) SR 48692-t, majd veh1-et kapott. Az antagonista előkezelést követően NT-nel kezelt csoport (n=8) 35 ng SR 48692-t, majd 100 ng NT-t kapott. A kontrollcsoport (n=9) két alkalommal kapott vivőanyagot (veh2 + veh1). Az antagonistát vagy a veh2-t a CPP teszthez hasonlóan mindig 15 perccel a NT vagy a veh1 előtt adtuk be. A harmadik EPM kísérletben a NT-nel kezelt csoport (n=6) veh3-t, majd 100 ng NT-t kapott. A sulpiriddel kezelt csoport (n=9) 4 µg sulpiridet, majd veh1-et kapott. A sulpirid előkezelést követően NT-nel kezelt csoport (n=10) 4 µg sulpiridet, majd 100 ng NT-t kapott. A kontrollcsoport (n=11) két alkalommal kapott vivőanyagot (veh3 +

veh1). A sulpiridet vagy a veh3-t a CPP teszthez hasonlóan mindig 15 perccel a NT vagy a veh1 előtt adtuk be.

3.4. Magatartási vizsgálatok

Mindegyik kísérletet hangszigetelt, klimatizált helyiségben végeztük el. Az állatok mozgását az apparátus fölé elhelyezett kamera segítségével rögzítettük, az adatokat a Noldus EthoVision Basic software (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, Hollandia) segítségével tároltuk és elemeztük.

3.4.1. Open field (OPF) teszt

Az OPF teszt apparátusa egy 50×50 cm alapterületű, 50 cm falmagasságú, szürke színű, fából készült dobozból állt. A doboz alja 16 azonos méretű négyzetre volt osztva. A kísérlet során mértük az állatok által megtett utat, illetve a keresztezések számát. Minden ülés 5 percig tartott. A 4 napos kísérlet első napján történt a habituáció, a 2. és a 3. napon mértük az állatok aktivitását (mikroinjekció nélkül). A 2. és 3-napon mért adatok átlagát tekintettük az állatok motoros alapaktivitásának (bazális aktivitás). A 4. napon (teszt) az állatokat az anyagok bilaterális mikroinjekcióját követően az apparátusba helyeztük, és ezt követően is regisztráltuk az aktivitásukat.

3.4.2. Kondicionált helypreferencia- (conditioned place preference, CPP) teszt

A CPP teszt anyagok jutalmazó, pozitív megerősítő, illetve averzív hatásának mérésére használható [30, 31]. A CPP teszt apparátusa egy kör alakú, 85 cm átmérőjű és 40 cm magas doboz volt. Az apparátus falai és padlója műanyagból készültek, szürke színűek voltak. A padlót vékony fekete vonalak segítségével 4 kvadránsra osztottuk, melyek a kondicionálás során kivehető, átlátszó plexi lapokkal fizikailag is elválaszthatók voltak egymástól. A környezetben található külső jeleket, ún. vizuális cue-kat helyeztünk el, hogy segítsék az egyes kvadránsok megkülönböztetését, illetve az állatok tájékozódását az apparátusban [30]. A terem megvilágításhoz szükséges szórt fényt 40 W-os izzó segítségével biztosítottuk.

A CPP paradigma egy habituációból (1. nap), három kondicionálási ülésből (2-4. nap) és egy tesztből (5. nap) áll. Az ülések mindegyike 900 sec (15 min) hosszúságú. A habituáció (1. nap) során az állatokat az apparátus közepére helyeztük, ezután 900 sec-ig szabadon hozzáférhettek mind a négy kvadránshoz. Mértük az egyes kvadránsokban eltöltött időt, és azt a kvadránst választottuk ki kezelőkvadránsnak, ahol az állat a habituáció során nem a legtöbb, de nem is a legkevesebb időt töltötte. A kondicionálások (2-4. nap) során a plexilapok behelyezésével a kvadránsokat fizikailag elválasztottuk egymástól. Az állatokat közvetlenül a bilaterális mikroinjekció(ka)t követően a kezelőkvadránsba helyeztük. Ezután a patkányok 15 percet tartózkodtak a kezelőkvadránsban. Az 5. napon (teszt) az elválasztó lapokat eltávolítottuk, így az állatok újra az apparátus teljes területén mozoghattak. Mértük az egyes kvadránsokban töltött időt, valamint az állatok által megtett utat.

3.4.3. Emelt keresztpalló (elevated plus maze, EPM) teszt

A szorongást az EPM teszt segítségével mértük [32]. Az apparátus szürke színű, kereszt alakú pallókból, azaz két, egymással szemben elhelyezkedő nyitott karból és két, ezekre merőlegesen elhelyezkedő zárt karból állt. A karok alapterülete egyenként 50 cm × 10 cm, a közepén lévő centrális platform 10 cm × 10 cm területű volt. A zárt karokat 40 cm magas, szürke színű fal veszi körül, a teteje nyitott volt. A pallók 100 cm-rel a talaj szintje fölé voltak emelve. Az anyagok mikroinjekcióját követően az állatokat az apparátus közepére (centrális platform) helyeztük, úgy, hogy orruk valamelyik zárt kar felé nézzen. Minden állaton egy alkalommal végeztük el a tesztet, amely 5 percig tartott. Az apparátus egyes részein (zárt karok, nyitott karok, illetve azok végei) töltött időt, valamint a megtett utat mértük.

3.5. Az eredmények értékelése

3.5.1. Szövettan

A kísérletek végeztével a patkányokat uretán segítségével túlaltattuk (20%-os uretánoldat i. p. injekciója, 1,4 g /tkg) és izotóniás sóoldattal transcárdialisan

perfundáltuk, ezt 10%-os formaldehid-oldat infúziója követte. Ezután az állatok agyát eltávolítottuk.

Egy héttel a fixáció után az agyakat lefagyasztottuk, 40 µm-es szeleteket készítettünk, amelyeket krezil-ibolyával megfestettünk. A mikroinjekciók helyét Paxinos és Watson sztereotaxikus atlasza alapján rekonstruáltuk [23]. Az elemzésnél csak azon állatok adatait vettük figyelembe, amelyeknél a beadások a megfelelő agyterületre történtek.

3.5.2. Statisztikai módszerek

Shapiro-Wilk-teszt segítségével meggyőződünk az adatok normális eloszlásáról, majd az adatokat két vagy egy szempontos varianciaanalízissel (ANOVA) értékeltük „SPSS 20.0 for Windows” programcsomag segítségével. A minták homogenitásának vizsgálatára F-tesztet alkalmaztunk. A csoportonkénti összehasonlítást Tukey-féle post hoc teszttel végeztük el. A szignifikanciaszintet minden esetben $p < 0,05$ -nek tekintettük.

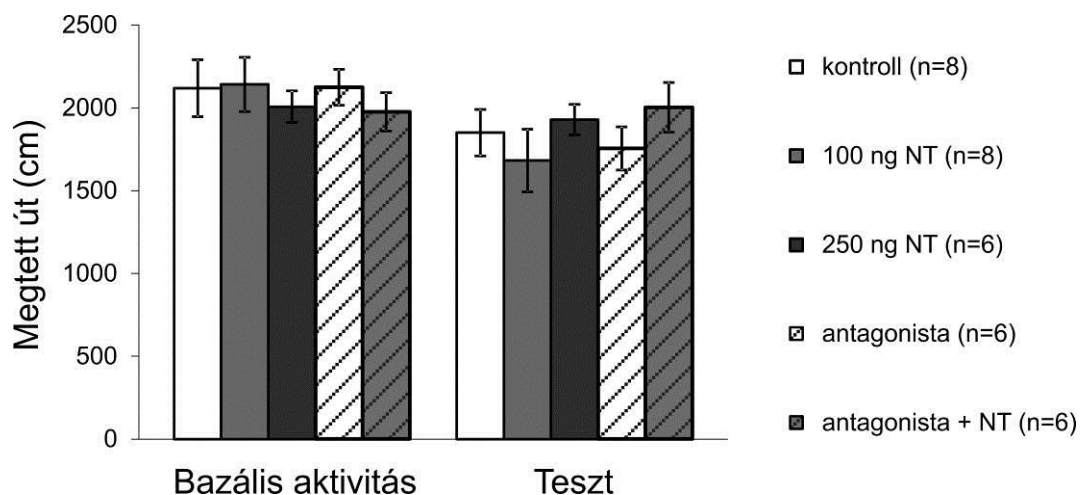
4. Eredmények

4.1. Szöveti leletek

A kanülszatórnák és a kanülvégék elhelyezkedését Paxinos és Watson sztereotaxikus agyatlasza alapján határoztuk meg [23]. A szövettani vizsgálat azt mutatta, hogy a kanülvégék szimmetrikusan a célterületen helyezkedtek el a 279 állat közül 243 esetben. Négy patkányt esetében az akrilát „koronájuk” károsodott vagy leesett, így a mikroinjekciókat nem lehetett beadni; a többi 32 állatnál a kanülvégék nem a megfelelő helyre kerültek, ezen állatok adatait kizártuk a további analízisből. Az említett 32 közül 12 patkánynál a kanülvégék a VP-től medialisán vagy lateralisan helyezkedtek el, így a mikroinjekciók az egyik oldalon a commissura anterior hátsó ajkának interstitialis magjába, a másik oldalon a stria terminalis beágyazott magjának fusiformis részébe kerültek. 19 esetben a kanülvégék 1 mm-rel a VP alá kerültek, így a mikroinjekciók mindkét oldalon a diagonális köteg horizontalis ajkának magjába, illetve a nucleus preopticus magnocellularisba történtek, 1 esetben a kanülvégék vége a VP fölött volt, így az anyagbeadás

a commissura anterior hátsó ajkának interstitialis magjába történt. A kanülpozíciók nagy heterogenitása és az alacsony állatszám miatt a VP-tól eltérő helyre beadott anyagok magatartási hatásairól messzemenő következtetéseket levonni nem tudtunk.

4.2. Open field teszt

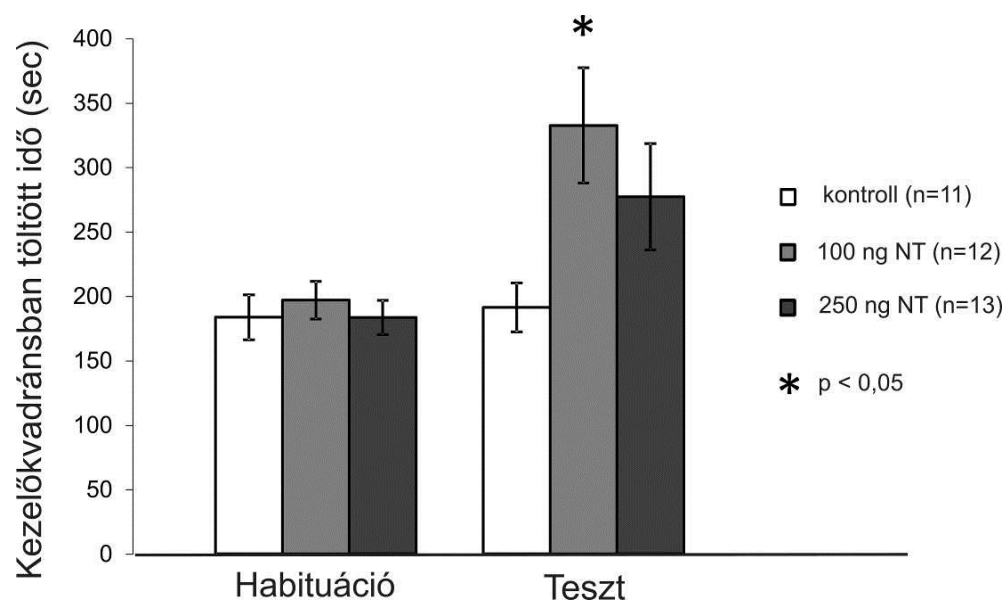


1. ábra: Bilateralis NT mikroinjekciók, valamint az NTS1-antagonista előkezelés hatása open field (OPF) tesztben. Az oszlopok az állatok által megtett út átlagát (\pm SEM) mutatják mikroinjekció nélkül (bazális aktivitás), illetve a teszt során. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh2 + veh1; n = 8). 100 ng NT: 100 ng NT-nel kezelt állatok (n = 8). 250 ng NT: 250 ng NT-nel kezelt állatok (n = 6). Antagonista: 35 ng NTS1-antagonista SR 48692-vel kezelt állatok (n = 6). Antagonista + NT: 100 ng NT mikroinjekciójának hatása 35 ng NTS1-antagonista előkezelést követően (n = 6). Részletesebb magyarázatot ld. a szövegben.

Az OPF teszt eredménye az 1. ábrán látható. Két szempontos ANOVA segítségével kimutattuk, hogy a megtett út szignifikánsan különbözött az ülések között ($F [1;58] = 5,838$; $p < 0,05$), ennek legvalószínűbb oka, hogy a teszt során a habituáció miatt valamennyi állat kevesebbet mozgott. A kezelések között nem volt szignifikáns különbség ($F [4;58] = 0,104$; $p > 0,05$), az ülések és kezelések közti interakció szintén nem volt szignifikáns ($F [4;58] = 0,895$; $p > 0,05$).

A keresztezések számát tekintve nem volt szignifikáns különbség sem az ülések ($F [1;58] = 0,764; p > 0,05$), sem a kezelések között ($F [4;58] = 0,298; p > 0,05$), az ülések és kezelések közötti interakció szintén nem volt szignifikáns ($F [4;58] = 0,164; p > 0,05$).

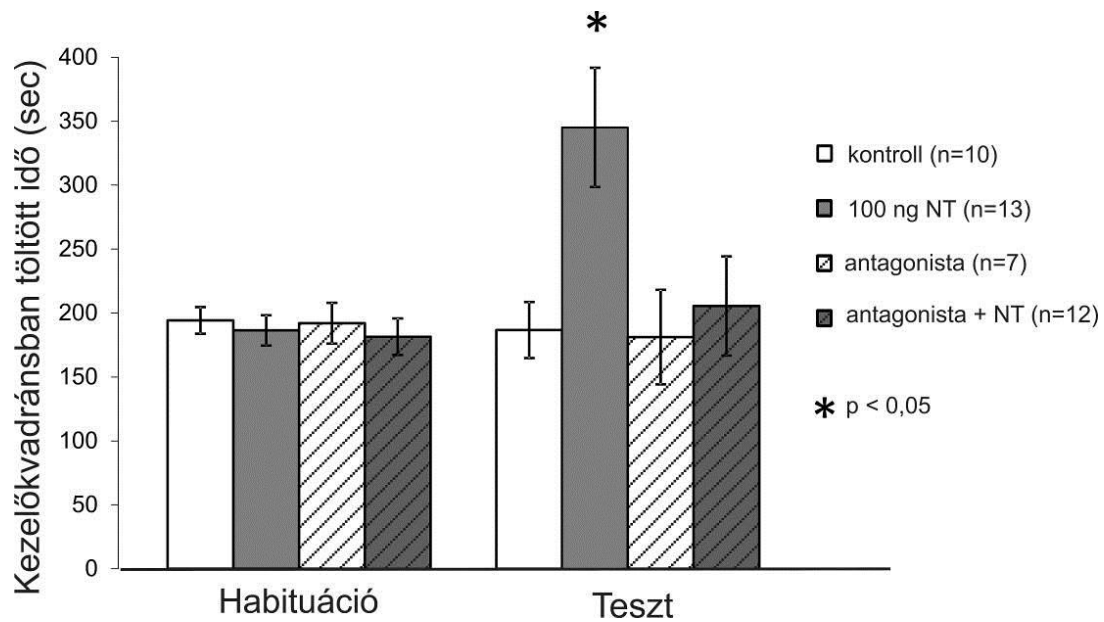
4.3. Kondicionált helypreferencia-teszt



2. ábra. Bilateralis NT mikroinjekciók hatása a VP-ban CPP paradigmában. Az oszlopok a kezelőkvadránsban töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják a habituáció, illetve a teszt során. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh1, $n = 11$). 100 ng NT: 100 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 12$). 250 ng NT: 250 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 13$) *: $p < 0,05$.

Két szempontos ANOVA segítségével összehasonlítottuk az egyes csoportok célkvadránsban töltött idejét a habituáció, illetve a teszt során (2. ábra). Szignifikáns különbség volt az ülések közt ($F [1;66] = 11,189; p < 0,05$) és a kezelések közt ($F [2;66] = 3,431; p < 0,05$), a kettő közti interakció azonban nem volt szignifikáns ($F [2;66] = 2,426; p > 0,05$). A Tukey-féle post hoc teszt alapján a kezelőkvadránsban töltött idő nem változott a kontrollcsoportban ($n = 11$), de szignifikánsan megemelkedett a 100 ng NT-nel kezelt csoportban ($n = 12; p < 0,05$). A 250 ng NT-nel kezelt csoportban ($n = 13$) szintén növekedett a kezelőkvadránsban töltött idő, ez azonban nem volt szignifikáns. A különböző kezeléseket kapott csoportok (kontroll, 100 ng NT, 250 ng NT) által megtett utat egy szempontos ANOVA segítségével hasonlítottuk össze az egyes kísérleti üléseken belül

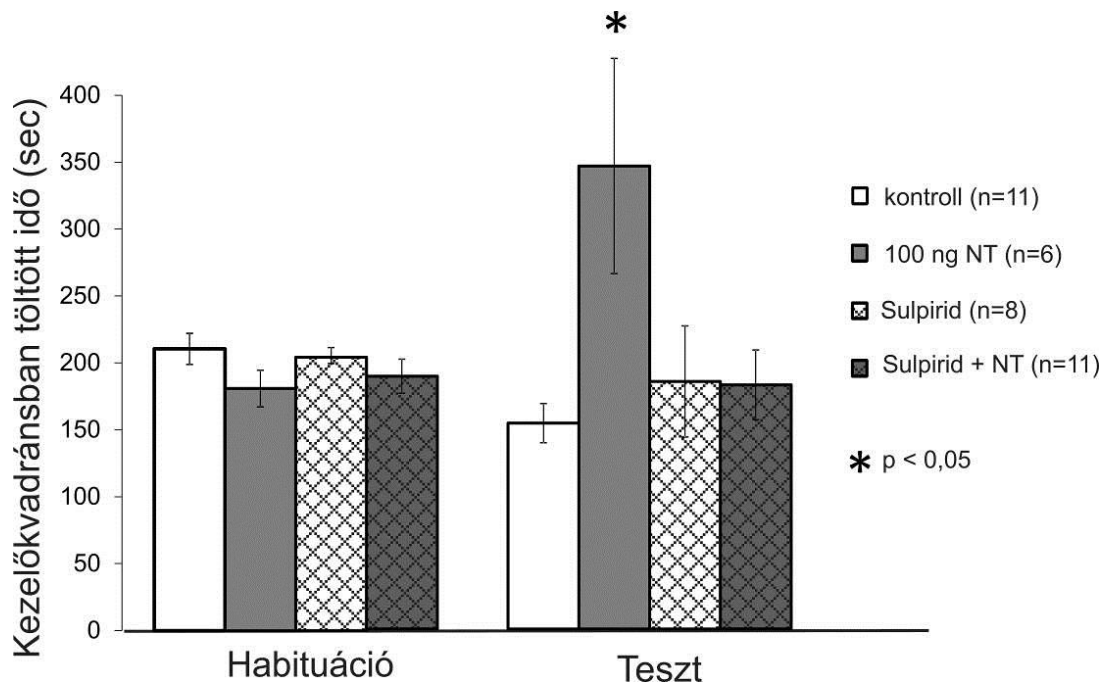
(habituáció, kondicionálások, teszt). Az ülések (habituáció, kondicionálások, teszt) nem hasonlíthatók össze statisztikailag, mivel a habituáció és a teszt során az állatok a teljes apparátuson belül mozoghattak, míg a kondicionálások során csak a kezelőkvaránsban. Az ANOVA nem mutatott ki szignifikáns különbséget a csoportok között sem a habituáció ($F [2;33] = 1,736; p > 0,05$), sem a kondicionálások ($F [2;33] = 0,842; p > 0,05$), sem pedig a teszt során ($F [2;33] = 0,677; p > 0,05$). A kondicionálások alatt valamennyi csoport állatai kevesebbet mozogtak, ez a kisebb területnek tudható be.



3. ábra. NTS1 antagonist előkezelés hatása a VP-ban CPP tesztben. Az oszlopok a kezelőkvaránsban töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják a habituáció, illetve a teszt során. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh2 + veh1; $n = 10$). 100 ng NT: veh2-vel, majd 100 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 13$). Antagonista: 35 ng NTS1-antagonista SR 48692-vel, majd veh1-gyel kezelt állatok ($n = 7$). Antagonista + NT: 100 ng NT mikroinjekciójának hatása 35 ng NTS1-antagonista előkezelést követően ($n = 12$). Részletesebb magyarázatot ld. a szövegben. *: $p < 0,05$.

A második CPP kísérletben megvizsgáltuk, hogy a 100 ng NT helypreferenciát indukáló hatása a NTS1-receptorokon keresztül valósul-e meg (3. ábra). Az állatok a habituáció során az előző kísérlethez hasonló időtartamig tartózkodtak a kezelőkvaránsban. Két szempontos ANOVA alapján nem volt szignifikáns különbség az ülések között ($F [1;76] = 3,620; p > 0,05$), viszont szignifikáns különbség volt a kezeléseik között ($F [3;76] = 3,637;$

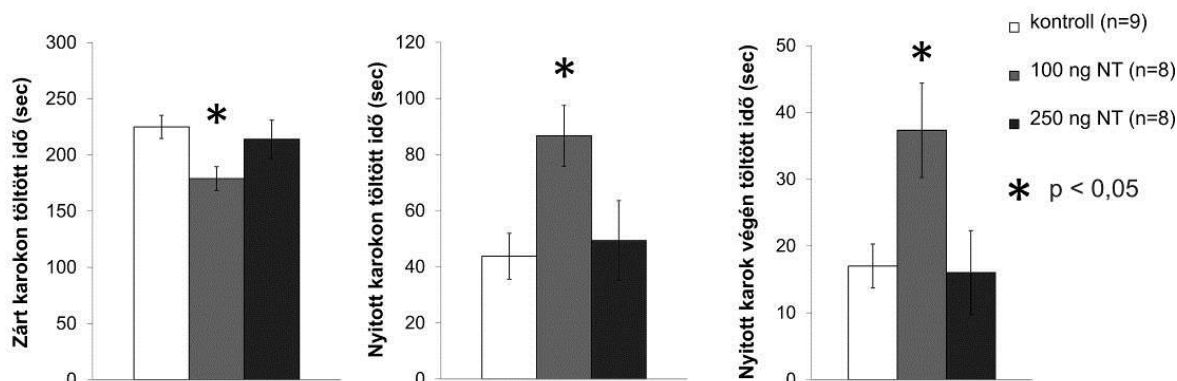
$p < 0,05$), továbbá az ülések és kezelések közti interakció szintén szignifikánsan különbözött ($F [3;76] = 3,955; p < 0,05$). Tukey-féle post hoc teszt alapján az előző kísérlet eredményéhez hasonlóan a 100 ng NT-nel kezelt csoportban ($n=13$) megemelkedett a kezelőkvadránsban töltött idő a kontrollcsoportéhoz ($n=10$) képest ($p < 0,05$). Az NTS1-receptor antagonistá SR 48692 előkezelés hatékonyan blokkolta a NT hatását ($n = 12; p < 0,05$). Az antagonistá önmagában ($n = 7$) nem befolyásolta a kezelőkvadránsban töltött időt: az eredmény nem különbözött a kontrollcsoportétól, viszont szignifikánsan alacsonyabb volt a 100 ng NT-nel kezelt csoport eredményénél ($p < 0,05$). Az egy szempontos ANOVA nem mutatott ki szignifikáns különbséget az egyes kísérleti fázisokon belül az egyes csoportok által megtett út tekintetében (a habituáció során: $F [3;38] = 0,232; p > 0,05$; a kondicionálások során: $F [3;38] = 0,222; p > 0,05$; a teszt során: $F [3;38] = 2,033; p > 0,05$).



4. ábra. Sulpirid előkezelés hatása a VP-ban CPP tesztben. Az oszlopok a kezelőkvadránsban töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják a habituáció, illetve a teszt során. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh3 + veh1; $n = 11$). 100 ng NT: veh3-mal, majd 100 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 6$). Sulpirid: 4 μ g D2 DA-receptor antagonistá sulpiriddel, majd veh1-gyel kezelt állatok ($n = 8$). Sulpirid + NT: 100 ng NT mikroinjekciójának hatása 4 μ g sulpirid előkezelést követően ($n = 11$). Részletesebb magyarázatot ld. a szövegben. *: $p < 0,05$.

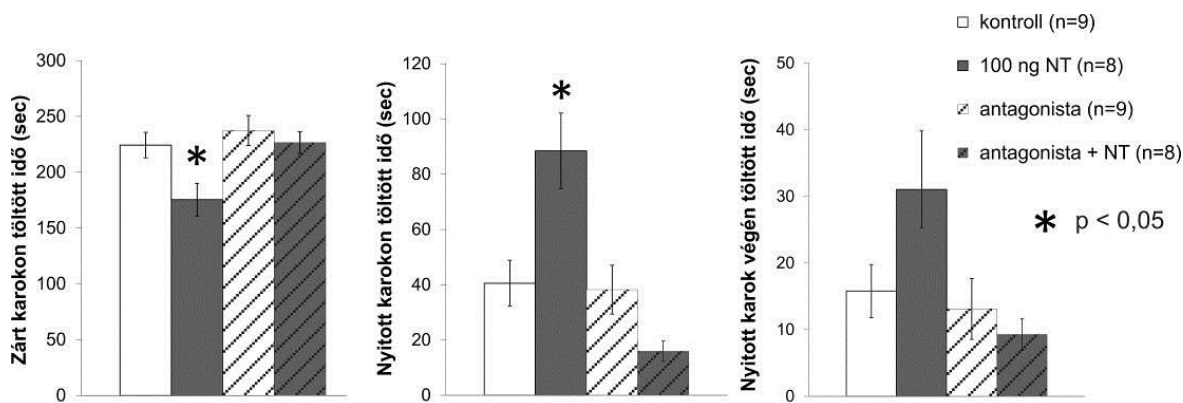
A harmadik (sulpiriddel végzett) CPP kísérletben megvizsgáltuk, hogy a 100 ng NT helypreferenciát indukáló hatásában szerepet játszik-e a D2 DA-receptorokkal való interakció (4. ábra). Az állatok a habituáció során az előző két kísérlethez hasonló időtartamot tartózkodtak a kezelőkvadránsban. Két szempontos ANOVA alapján nem volt szignifikáns különbség az ülések között ($F [1;64] = 1,064, p > 0,05$), viszont a kezelések között ($F [3;64] = 3,002, p < 0,05$), továbbá az ülések és kezelések közti interakció tekintetében ($F [3;64] = 5,022, p < 0,05$) is szignifikáns különbséget mutatott ki a teszt. Tukey-féle post hoc teszt alapján az előző kísérletek eredményéhez hasonlóan a 100 ng NT-nel kezelt csoportban ($n=6$) megemelkedett a kezelőkvadránsban töltött idő a kontrollcsoporthoz ($n=11$) képest ($p < 0,05$). A sulpirid előkezelés hatékonyan blokkolta a NT hatását ($n = 11, p < 0,05$). A sulpirid önmagában ($n = 8$) nem befolyásolta a kezelőkvadránsban töltött időt, azaz az eredmény nem különbözött a kontrollcsoportétól. A megtett útban az egy szempontos ANOVA teszt alapján nem volt szignifikáns különbség a csoportok között a habituáció során ($F [3;32] = 1,370; p > 0,05$). A kondicionálások során megtett út átlaga ($F [3;32] = 12,032; p < 0,05$), valamint a teszt során megtett út ($F [3;32] = 12,848; p < 0,05$) tekintetében viszont szignifikáns különbséget mutatott ki az analízis. Tukey-féle post hoc teszt alapján a sulpiriddel, illetve a sulpirid előkezelést követően NT-nel kezelt állatok szignifikánsan kevesebb utat tesznek meg a kondicionálások során, mint a kontrollcsoport állatai, továbbá ugyanezek a csoportok a teszt során is szignifikánsan kevesebb utat tettek meg, mint a kontrollcsoport, illetve a NT-nel kezelt csoport tagjai.

4.4. Emelt keresztpalló teszt



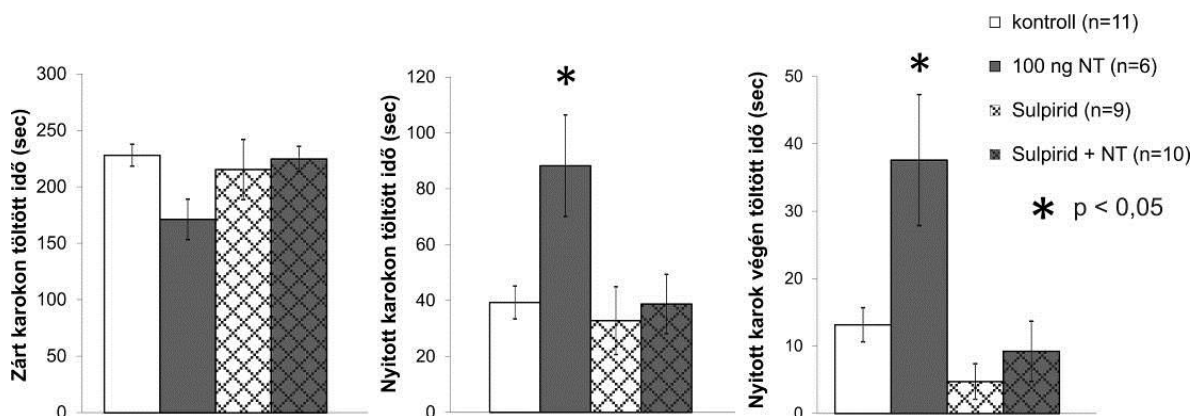
5. ábra. Bilateralis NT mikroinjekciók hatása a VP-ban EPM paradigmában. Az oszlopok a zárt karokon, a nyitott karokon, illetve a nyitott karok végein töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh1, $n = 9$). 100 ng NT: 100 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 8$). 250 ng NT: 250 ng NT-nel kezelt állatok ($n = 8$) *: $p < 0,05$.

Az első EPM kísérletben 100 ng és 250 ng NT VP-ba történő bilaterális mikroinjekcióinak a hatását vizsgáltuk (5. ábra). Egy szempontos ANOVA alapján szignifikáns különbség volt a zárt karokon töltött idő ($F [2;22] = 3,513$, $p < 0,05$), a nyitott karokon töltött idő ($F [2;22] = 4,329$, $p < 0,05$), valamint a nyitott karok végein töltött idő tekintetében is ($F [2;22] = 4,479$, $p < 0,05$). Tukey-féle post hoc teszt azt igazolta, hogy a 100 ng NT-nel kezelt állatok szignifikánsan több időt töltöttek a nyitott karokon és azok végein, illetve szignifikánsan kevesebb időt a zárt karokon, mint a kontrollcsoport állatai. Ezen eredmények alapján a NT 100 ng-os dózisban anxiolitikus hatású. A 250 ng NT-nel kezelt csoport eredménye nem különbözött szignifikánsan a kontrollcsoporttól egyik mért paraméter tekintetében sem. Az állatok által az apparátus teljes területén megtett út egy szempontos ANOVA teszt alapján nem különbözött szignifikánsan az egyes csoportok között ($F [2;22] = 0,403$; $p > 0,05$).



6. ábra. Bilateralis NT mikroinjekciók hatása a VP-ban EPM paradigmában. Az oszlopok a zárt karokon, a nyitott karokon, illetve a nyitott karok végein töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják. Kontroll: vivőanyaggal kezelt állatok (veh2 + veh1; n = 9). 100 ng NT: veh2-vel, majd 100 ng NT-nel kezelt állatok (n = 8). Antagonista: 35 ng NTS1-antagonista SR 48692-vel, majd veh1-gyel kezelt állatok (n = 9). Antagonista + NT: 100 ng NT mikroinjekciójának hatása 35 ng NTS1-antagonista előkezelést követően (n = 8). Részletesebb magyarázatot ld. a szövegben. *: $p < 0,05$.

A második EPM kísérlet célja az volt, hogy megvizsgáljuk, hogy az NT hatása az EPM tesztben NTS1-receptorokon keresztül valósul-e meg (6. ábra). Egy szempontos ANOVA szignifikáns különbséget mutatott ki a zárt karokon töltött idő ($F [3;30] = 4,734$, $p < 0,05$), a nyitott karokon töltött idő ($F [3;30] = 10,311$, $p < 0,05$), illetve a nyitott karok végén töltött idő ($F [3;30] = 3,729$, $p < 0,05$) tekintetében is. A Tukey-féle post hoc teszt kimutatta, hogy az antagonisták önmagában nem befolyásolták az egyes karokon töltött időt, az állatok értékei a kontrollcsoportéhoz hasonlóak voltak. Az első EPM teszthez hasonlóan, a 100 ng NT-nel kezelt állatok szignifikánsan kevesebb időt töltöttek a zárt, és szignifikánsan több időt a nyitott karokon, mint a kontrollcsoport. Az antagonisták előkezelést követően NT-nel kezelt csoport eredményei nem különböztek szignifikánsan a kontrollcsoport eredményeitől, viszont szignifikánsan több időt töltöttek a zárt, és szignifikánsan kevesebb időt a nyitott karokon, mint a 100 ng NT-nel kezelt állatok, tehát az antagonisták előkezelés kivédte az NT hatását. Az egy szempontos ANOVA teszt az egyes csoportok által megtett út terén nem mutatott ki szignifikáns különbséget ($F [3;30] = 1,331$; $p > 0,05$).



7. ábra. Sulpirid előkezelés hatása a VP-ban EPM tesztben. Az oszlopok a zárt karokon, a nyitott karokon, illetve a nyitott karok végein töltött idő átlagát (\pm SEM) mutatják. Kontroll: csak vivőanyaggal kezelt állatok (veh3 + veh1; n = 11). 100 ng NT: veh3-mal, majd 100 ng NT-nel kezelt állatok (n = 6). Sulpirid: 4 μ g D2 DA-receptor antagonistá sulpiriddel, majd veh1-gyel kezelt állatok (n = 9). Sulpirid + NT: 100 ng NT mikroinjekciójának hatása 4 μ g sulpirid előkezelést követően (n = 10). Részletesebb magyarázatot ld. a szövegben. *: $p < 0,05$.

A harmadik EPM kísérlet célja az volt, hogy megvizsgáljuk, a NT anxiolitikus hatásában szerepet játszik-e a D2 DA-receptorokkal való interakció (7. ábra). Egy szempontos ANOVA nem mutatott ki szignifikáns különbséget a zárt karokon töltött idő ($F [3;32] = 1,864$; $p > 0,05$) tekintetében. Szignifikáns különbség volt viszont a nyitott karokon töltött idő ($F [3;32] = 4,121$; $p < 0,05$), illetve a nyitott karok végein töltött idő ($F [3;32] = 7,978$; $p < 0,05$) tekintetében. A Tukey-féle post hoc teszt kimutatta, hogy a sulpirid az alkalmazott dózisban önmagában nem befolyásolta az egyes karokon töltött időt. Habár a nyitott karok végein töltött idő átlaga a sulpiriddel kezelt csoportban alacsonyabb volt, az apparátus egyes részein töltött idők egyike sem tért el szignifikánsan a kontrollcsoportétól. A 100 ng NT-nel kezelt állatok szignifikánsan több időt töltöttek a nyitott karokon, illetve azok végein, mint a kontrollcsoport (hasonlóan az első és a második EPM kísérlethez), illetve a sulpiriddel kezelt csoport. A sulpirid előkezelést követően a NT-nel kezelt csoport eredményei nem különböztek szignifikánsan a kontrollcsoport eredményeitől, viszont szignifikánsan kevesebb időt töltöttek nyitott karokon és azok végein, mint a 100 ng NT-nel kezelt állatok. A sulpirid előkezelés tehát kivédte a NT hatását. Az egy szempontos

ANOVA szignifikáns különbséget mutatott ki az egyes csoportok között a megtett út tekintetében ($F [3;32] = 15,572; p < 0,05$). Tukey-féle post hoc teszt alapján a sulpiriddel, illetve a sulpirid előkezelést követően NT-nel kezelt állatok szignifikánsan kevesebb utat tettek meg a kísérlet során, mint a kontrollcsoport, illetve a NT-nel kezelt csoport.

5. Diskusszió

5.1. A ventralis pallidum NTS1-receptorainak szerepe a lokomotoros aktivitás szabályozásában

Az OPF teszt kimutatta, hogy a VP-ba injektált NT, illetve a NTS1-antagonista SR 48692 egyik általunk alkalmazott dózisban sem befolyásolja a lokomotoros aktivitást. Habár valamennyi csoportot figyelembe véve az állatok által megtett út szignifikánsan alacsonyabb volt a teszt során, mint a mikroinjekció nélküli, ún. bazális aktivitás, valamint a keresztezések száma is némileg (bár nem szignifikánsan) csökkent, az egyes csoportok átlagai egymástól nem különböztek sem a kezeletlen állapotban, sem a teszt során. Ez a jelenség nagy valószínűséggel a kísérleti környezethez való adaptációnak (további habituációnak) tudható be. Az OPF teszt eredményei megfelelnek Torregrossa és Kalivas korábbi kísérletének [7], melyben kimutatták, hogy a NT(8-13) mikroinjekciója a VP-ban nem befolyásolja a spontán lokomotoros aktivitást.

5.2. A ventralis pallidum NTS1-receptorainak szerepe a jutalmazásban

A CPP paradigmát széles körben alkalmazzák különféle kémiai anyagok jutalmazó, illetve pozitív megerősítő hatásának mérésére [30, 31]. A CPP kísérletben a kondicionálások során mikroinjektált anyag hatása és az adott hely (jelen esetben a kezelőkvadráns) között kondicionált asszociáció jön létre. A helypreferencia kialakulásának tehát legalább két feltétele van: az egyik az anyag jutalmazó, illetve pozitív megerősítő hatása, a másik pedig a memória kialakulása [31]. A tesztek kezeletlen állapotban történnek, ennek nagy előnye, hogy az eredményeket az anyagok esetleges akut hatásai, illetve mellékhatásai (a lokomócióra, a fájdalomérzésre, a szorongásra, ill. egyéb

funkciókra) nem befolyásolják. A teszt során az állatok magatartását a környezeti vizuális jelekhez („cue”-khoz) kapcsolódó memóriafolyamatok irányítják.

Ismert, hogy a VP fontos szerepet játszik a helypreferenciában: pszichostimulánsok, mint pl. kokain és amfetamin CPP-t váltanak ki [33]. A VP opioidreceptorainak blokádjá kondicionált helyaverziót okoz [34], a VP laesiója esetén pedig nem alakítható ki kokain, amfetamin, illetve szukróz indukálta helypreferencia [35-37]. A NT-ről más agyterületeken már kimutatták, hogy jutalmazó hatású: kémiai öningerlés építhető ki vele a VTA-ban, a NAC-ben és a subiculumban, de a medialis előagygi kötegben nem [38, 39]. Emellett a NT helypreferenciát vált ki a VTA-ban [40] és az amygdala centralis magjában [25].

Eredményeink azt mutatják, hogy a VP-ba injektált NT jutalmazó, illetve pozitív megerősítő hatású. Kimutattuk továbbá, hogy a NT a CPP paradigmában sincs hatással az állatok motoros aktivitására. A CPP teszt eredményét az egyes anyagok lokomócióra gyakorolt esetleges akut hatásai nem befolyásolhatják, mivel a teszt drogmentes állapotban történik. Viszont ha a neurokémiai anyag a kondicionálások során hatással lenne a lokomócióra, ez a tesztben is megjelenhetne az ún. kondicionált droghatás következtében [31, 41], hiszen a kondicionálások során a lokomotoros hatás is asszociálódhat a kezelőkvadránssal. Jelen kísérletben a NT sem a kondicionálások, sem a teszt során nem befolyásolta az állatok által megtett utat, ez egybevág az OPF teszt eredményeivel.

A jutalmazó hatás receptorspecifitását a NTS1-specifikus antagonistá SR 48692 segítségével vizsgáltuk, mivel a NT receptorai közül a VP-ban ez található meg a legmagasabb koncentrációban [17]. A második kísérletben a 100 ng NT-nel kezelt csoport az első kísérlethez hasonlóan több időt töltött a kezelőkvadránsban, tehát sikerült ismét kimutatni a NT 100 ng-os dózisének helypreferenciát indukáló hatását. Ezt a hatást ekvimoláris NTS1-specifikus antagonistá előkezeléssel sikerült kivédeni. A CPP paradigma során az állatok által megtett utat sem a NT, sem az SR 48692 nem befolyásolta, az egyes állatcsoportok által megtett út átlaga nem különbözött az egyes kísérleti szakaszokon belül.

Az antagonistával végzett kísérletben a kondicionálás során (az első kísérlettől eltérően) az állatok nem egy, hanem két mikroinjekciót kaptak (minden csoportban). A másik lehetséges kísérleti elrendezés az lett volna, hogy az egyféle anyaggal (vivóanyag, NT vagy SR 48692) kezelt állatok csak egy, míg az antagonistával előkezelt csoport állatai két mikroinjekciót kapnak a kondicionálások során. Ebben az esetben felmerülhetett volna, hogy az antagonistával előkezelt csoportban az összességében nagyobb mikroinjekciós

térfogat befolyásolhatná a kísérletek eredményét. Ennek a lehetőségnek a kizárása céljából (illetve azért, hogy az egyes csoportok eredményei a kísérleten belül összehasonlíthatóak legyenek) a kontrollcsoport állatai is 2-2 mikroinjekciót kaptak, illetve a 100 ng NT-nel kezelt csoport is megkapta az antagonista vivőanyagát 15 perccel a NT-mikroinjekciók előtt. A 100 ng NT-nel kezelt csoport, illetve a kontrollcsoport eredményei azonban hasonlóak voltak az első kísérletben kapottakhoz. Ez alapján kimondható, hogy a kísérlet eredményét nem befolyásolta a kétszeres mikroinjekciós térfogat. Emellett a második kísérlet segítségével meg is erősítettük, hogy a NT 100 ng-os dózisban jutalmazó hatása a VP-ban, mivel az első kísérlet eredményét reprodukálni tudtuk. A NTS1-antagonista SR 48692 önmagában nem volt hatásos az alkalmazott dózisban, az antagonista előkezelés viszont kivédte a NT hatását, ezzel sikerült demonstrálni a hatás NTS1-receptorspecifitását. A CPP teszt segítségével igazoltuk, hogy a VP NTS1-receptorainak jelentősége van a jutalmazó folyamatokban.

5.3. A ventralis pallidum NTS1-receptorainak szerepe a szorongás szabályozásában

A CPP teszt eredményeinek értelmezése kapcsán felmerülhet, hogy az állatok akár amiatt is több időt tölthetnek egy adott kvadránsban (mozdulatlanul), ha az anyag anxiogén hatású. Továbbá az sem ritka, hogy a jutalmazó hatású anyagok egyben anxiolitikus hatással is rendelkeznek. A fenti okok miatt megvizsgáltuk a NT szorongásra gyakorolt hatását is. Az EPM teszt széles körben elfogadott módszer a szorongás vizsgálatára [32]. A paradigma az állatok nyílt terektől és magasságtól való természetes félelmén alapul [32], így a nyitott karokon vagy azok végein töltött több idő jól jelzi az anxiolitikus hatást.

Jelen kísérleteink során a NT 100 ng-os dózisa a VP-ban anxiolitikus hatásának bizonyult: a NT szignifikánsan csökkentette a zárt karokon, illetve növelte a nyitott karokon és az azok végein töltött időt. A második kísérletben a NTS1-antagonista SR 48692 önmagában nem befolyásolta a szorongást az alkalmazott dózisban, viszont kivédte a NT szorongásoldó hatását. Tehát a NT anxiolitikus hatása a VP-ban szintén NTS1-receptorokon valósul meg. Emellett a második kísérletben sikerült újra kimutatni a NT 100 ng-os dózisának anxiolitikus hatását. A NTS1-receptorok szorongás szabályozásában betöltött szerepét szelektív NTS1-agonista PD 149163 szisztémás injekciójának anxiolitikus hatása szintén igazolja [42, 43]. Más agyterületeken viszont a NTS2-

receptoroknak is szerepe lehet a szorongás szabályozásában [3]. A kétszeres mikroinjekciós térfogat az EPM kísérletben sem befolyásolta az eredményt, mivel a CPP teszthez hasonlóan ebben a paradigmában is sikeresen reprodukáltuk az első kísérlet eredményeit.

Ha csak az apparátus egyes területein eltöltött időt mérjük, nem zárható ki, hogy az eredmények részben a NT lokomotoros aktivitására gyakorolt potenciális hatásának következményei, tehát ha a NT fokozná a lokomotoros aktivitást, akkor emiatt is több időt tölthetnének az EPM tesztben a nyitott karokon. Az állatok által az EPM paradigma során megtett út azonban nem különbözött az egyes állatcsoportok között, tehát ebben a kísérletben is sikerült demonstrálni, hogy sem a NT, sem az SR 48692 nem befolyásolja a lokomotoros aktivitást. Ezen felül az egyes csoportok által megtett út átlaga hasonló a szintén 5 perces időtartamú OPF teszt során kapott eredményekhez.

Eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy a VP NTS1-receptorainak aktivációja következtében kialakuló anxiolitikus hatás pozitív motivációs-emocionális állapotot vált ki, amelyet az állat a CPP paradigmában a kezelőkvadránshoz köt. Ugyanez figyelhető meg a P-anyag esetében is, amely helypreferenciát indukál, illetve szorongásoldó hatású a nucleus basalisba [14, 44], a globus pallidusba [45, 46], valamint az amygdala centralis magjába [46, 47] injektálva. Ellenben a NT az amygdala centralis magjában a VP-hez hasonlóan helypreferenciát vált ki, a szorongást azonban nem befolyásolja [25].

5.4. A neurotensin lehetséges hatásmechanizmusa a ventralis pallidumban

A VP-ban a NT-receptorok szinte kizárólag a VPvm alrégióban találhatóak, míg a VPdl-ban vagy más alrégiókban nem [11, 15]. Kimondhatjuk tehát, hogy a VP-ba mikroinjektált NT jutalmazó, illetve anxiolitikus hatásáért ez az alrégió felelős.

A VPvm efferenseinek egyik fő célpontja a VTA [21, 48, 49]. A VPvm GABA-erg neuronjai gátolják a VTA neuronjainak tüzelését [50], ezáltal a VP befolyásolja a VTA DA-erg neuronjainak populációs aktivitását [51]. Ismert, hogy a NT(8-13) VPvm-ba történő mikroinjekciója megnöveli az extracellularis GABA-szintet [7]. A legújabb kutatások alapján a VPvm mesterséges (ún. „designer-„) receptorokkal való inaktivációja (melynek során a VTA felszabadul a GABA-erg gátlás alól) is gátolja a cue-alapú drogkeresést [20]. A fentiek alapján nagy valószínűséggel kijelenthetjük, hogy a NT VP-ba történő direkt mikroinjekciója a VPvm inaktivációján keresztül aktiválja a VTA-t, és így

fejt ki jutalmazó, valamint szorongásoldó hatását is. A VTA megnövekedett aktivitása a NAC-ben mérhető extracelluláris DA-szint növekedésével jár együtt [51]. A megnövekedett DA-szint a VTA-ban és a NAC-ben összekapcsolható a jutalommal és a pozitív megerősítéssel [52-54].

5.5. A dopamin szerepe a neurotenzin hatásmechanizmusában

Az eddigiek alapján a NT magatartási hatásaiban a GABA-erg rendszer modulációjának minden bizonnyal szerepe van [7]. Tudjuk viszont, hogy a GABA_A-antagonista picrotoxin a VP-ban semmilyen hatással nem rendelkezik CPP paradigmában [55], így a helypreferenciában a GABA-erg rendszer szerepe valószínűleg nem meghatározó. A fentiek alapján feltételeztük, hogy a NT magatartási hatásai (így a helypreferencia és a szorongásoldó hatás is) legalábbis részben a GABA-erg rendszertől függetlenül valósulnak meg. Az egyik legvalószínűbb ilyen mechanizmus a DA-erg rendszerrel való interakció [5, 22]. A koncepciót támogatja, hogy a VP_{vm}-ban NTS1- és DA-receptorokat is azonosítottak [11, 48, 56, 57], valamint az i.v. beadott NT-receptor antagonisták és DA-receptor antagonisták hasonlóan hatnak a VP neuronjainak aktivitására [19]. A fentiek alapján feltételeztük, hogy a NT magatartási hatásai a DA-erg rendszer modulációján keresztül is megvalósulhatnak a VP-ban, amelyet a mezolimbikus rendszer rostjai is beidegeznek [58].

Jelen kísérleteink során a CPP paradigmában a D2 DA-receptor antagonistául szulpirid alkalmazott dózisban nem okozott sem helypreferenciát, sem averziót. Ismételt reprodukálni tudtuk a NT 100 ng-os dózisának helypreferenciát okozó hatását, amit a szulpirid előkezelés kivédett. Emellett a szulpirid önmagában is, valamint a szulpirid előkezelés is szignifikánsan csökkentette az állatok által megtett utat a kondicionálások, illetve a teszt során. A kezeletlen állapotban végzett teszt során nem beszélhetünk akut neurokémiai hatásról, a kapott eredmény lehetséges magyarázata a kondicionált droghatás [31], azaz a kondicionálások során az akut droghatás miatt az állat kevesebbet mozog, és ez asszociálódik a kísérleti apparátussal. Ez ellen szól azonban, hogy a szulpirid memóriakonzolidációt gátló hatásának [28] a kondicionált droghatást is gyengítenie kellene. A szulpirid által okozott esetleges hosszú távú motoros deficit szintén szóba jöhetne, azonban Morris-féle úsztatási tesztben a korábban szulpiriddel kezelt állatoknál nem

tapasztalható eltérés az állatok úszási sebességét tekintve a többi csoporthoz képest [28], így a motoros deficit szerepe is kizárható.

Az EPM paradigmában a sulpirid előkezelés kivédte a NT szorongásoldó hatását. A sulpiriddel kezelt állatoknál ugyan tendencia volt megfigyelhető, hogy kevesebb időt ($4,73 \pm 2,73$ sec) töltenek a nyitott karok végein, mint a kontrollcsoport ($13,16 \pm 2,52$ sec), ez azonban nem volt szignifikáns. Ennek ellenére nem zárható ki a sulpirid anxiogén hatása, mivel a kontrollcsoport állatai is viszonylag kevés időt töltenek a nyitott karokon, és ehhez képest nehezebb szignifikáns anxiogén hatást kimutatni.

Tehát három különböző kísérlet során is kimutattuk a NT helypreferenciát okozó, illetve szorongásoldó hatását. Figyelemre méltó, hogy a 100 ng NT-nel kezelt állatok eredményeinek átlagai mindhárom CPP teszt során hasonlóak, függetlenül attól, hogy ezek a kísérletek különböző állatcsoportokon, különböző időpontokban (bár standardizált körülmények között) történtek. A három EPM teszt során szintén jól összevethetők egymással az egyes kísérletek kontrollcsoportjainak, illetve az egyes kísérletek NT-nel kezelt csoportjainak átlagai is. A sulpirid előkezelés segítségével igazoltuk, hogy a VP-ban a NTS1-receptorok jutalmazó, illetve szorongásoldó hatása is a D2 DA-receptorokkal interakcióban valósul meg. A D2 DA-receptorok működése mindkét paradigmában szükséges feltétele a NT hatásának, hiszen a sulpirid előkezelés kivédi a NT hatásait, viszont a D2 DA-receptorok aktiválása (legalábbis a CPP tesztben) önmagában nem elegendő a hatás kialakításához [28]. Ráadásul, mivel a VP NT-receptorai posztszinaptikusan helyezkednek el [16], nem pedig a DA-erg axonterminálisokon, így a NT direkt nem modulálhatja a DA-erg bemeneti neuronok működését (habár a posztszinaptikus DA- és NT-receptorok közti funkcionális interakció szóba jöhet). Igen valószínű, hogy a NT hatásmechanizmusában a VP-ban a D2-receptorokon kívül további mechanizmusok is szerepet játszanak, ennek a hatásnak azonban feltétele az endogén DA-aktivitás.

6. Összefoglalás

A célkitűzések során feltett kérdésekre az alábbi válaszokat kaptuk:

1. A VP-ba injektált NT nem befolyásolja a lokomotoros aktivitást.
2. A VP-ba injektált NT 100 ng-os dózisban jutalmazó hatásúnak bizonyult CPP tesztben.
3. A NT jutalmazó hatása NTS1-receptorokon valósul meg, mivel NTS1-specifikus antagonistá SR 48692-vel e hatás kivédhető.
4. A VP-ba injektált NT 100 ng-os dózisban anxiolitikus hatású.
5. A NT anxiolitikus hatása is NTS1-receptorokon valósul meg (a jutalmazó hatáshoz hasonlóan), mivel NTS1-specifikus antagonistá SR 48692-vel ez a hatás is kivédhető.
6. A D2 DA-receptorok aktivitása a NT jutalmazó, valamint anxiolitikus hatásának is szükséges feltétele, mivel D2 DA-receptor antagonistá sulpiriddel mindkét hatás kivédhető.

7. Publikációs jegyzék

A teljes publikációs lista a következő címen megtalálható:

<https://vm.mtmt.hu/search/slist.php?lang=0&AuthorID=10020537>

7.1. A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk

Ollmann T, Péczely L, László K, Kovács A, Gálosi R, Berente E, Karádi Z, Lénárd L. Positive reinforcing effect of neurotensin microinjection into the ventral pallidum in conditioned place preference test. *Behavioural Brain Research*. 2015;278:470-5. [IF: 3.028]

Ollmann T, Péczely L, László K, Kovács A, Gálosi R, Kertes E, Kállai V, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. Anxiolytic effect of neurotensin microinjection into the ventral pallidum. *Behavioural Brain Research*. 2015;294:208-14. [IF: 3.028]

7.2. Egyéb impaktfaktoros publikációk

László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, **Ollmann T**, Lénárd L. Effects of neurotensin in amygdaloid spatial learning mechanisms. *Behavioural Brain Research*. 2010;210:280-3. [IF: 3.327]

László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, **Ollmann T**, Madarassy-Szűcs A, Lénárd L. The role of neurotensin in passive avoidance learning in the rat central nucleus of amygdala. *Behavioural Brain Research*. 2012;226:597-600. [IF: 3.327]

Kovács A, László K, Gálosi R, Tóth K, **Ollmann T**, Péczely L, Lénárd L. Microinjection of RFRP-1 in the central nucleus of amygdala decreases food intake in the rat. *Brain Research Bulletin*. 2012;88:589-95. [IF: 2.935]

Kovács A, László K, Gálosi R, **Ollmann T**, Péczely L, Zagoracz O, Bencze N, Lénárd L. Intraamygdaloid microinjection of RFamide-related peptide-3 decreases food intake in rats. *Brain Research Bulletin*. 2014;107:61-8. [IF: 2.974]

Péczely L, **Ollmann T**, László K, Kovács A, Gálosi R, Szabó Á, Karádi Z, Lénárd L. Role of D1 dopamine receptors of the ventral pallidum in inhibitory avoidance learning. *Behavioural Brain Research*. 2014;270:131-6. [IF: 3.391]

Péczely L, **Ollmann T**, László K, Kovács A, Gálosi R, Szabó Á, Karádi Z, Lénárd L. Effects of ventral pallidal D1 dopamine receptor activation on memory consolidation in morris water maze test. *Behavioural Brain Research*. 2014;274:211-8. [IF: 3.391]

Lénárd L, Kovács A, **Ollmann T**, Péczely L, Zagoracz O, Gálosi R, László K. Positive reinforcing effects of RFamide-related peptide-1 in the rat central nucleus of amygdala. *Behavioural Brain Research*. 2014;275:101-6. [IF: 3.391]

Zagoracz O, Kovács A, László K, **Ollmann T**, Péczely L, Lénárd L. Effects of direct QRFP-26 administration into the medial hypothalamic area on food intake in rats. *Brain Research Bulletin*. 2015;118:58-64. [IF: 2.718]

László K, Kovács A, Zagoracz O, **Ollmann T**, Péczely L, Kertes E, Lacy DG, Lénárd L. Positive reinforcing effect of oxytocin microinjection in the rat central nucleus of amygdala. *Behavioural Brain Research*. 2016;296:279-85. [IF: 3.028]

7.3. Egyéb publikációk és citálható absztraktok

Ollmann T, Kovács K:

Pacemaker ingerlés szerepe a kardiális disszinkroniában és reszinkronizációban.

In: Rab V (szerk). VI. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia tanulmánykötete, Pécs, 2009. pp. 163-169.

László K, Tenk J, Tóth K, Kertes E, **Ollmann T**, Péczely L, Lénárd L:

The role of intra-amygdaloid neurotensin receptor 1 and dopamine D2 receptor in spatial learning mechanism. *Acta Physiologica Hungarica*, 97(4): p. 454, 2010.

Konferencia helye, ideje: Szeged, 2010. június 16-18. (Magyar Élettani Társaság LXXIV. Vándorgyűlése)

László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, **Ollmann T**, Lénárd L:

The role of intraamygdaloid neurotensin receptor1 in Morris water maze paradigm.

Frontiers in Neuroscience. Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010. P6-21.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2010. január 21-23. (IBRO International Workshop)

Péczely L, **Ollmann T**, László K, Oláh-Várady K, Lénárd L:

Role of D1 dopaminergic receptors in the ventral pallidum in passive avoidance learning.

Frontiers in Neuroscience. Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010. P6-25.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2010. január 21-23. (IBRO International Workshop)

Ollmann T, Péczely L, László K, Kovács A, Lénárd L:

Role of neurotensin injected into the ventral pallidum in open field and in conditioned place preference test. *Frontiers in Neuroscience*. P6-24.

Konferencia helye, ideje: Budapest, 2011. január 22-24. (13th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society)

László K, Madarassy-Sz. A, Kiss Á, Tóth K, **Ollmann T**, Péczely L, Kertes E, Lénárd L:
The role of neurotensin and dopamine interaction in conditioned place preference. 13th

Meeting of the Hungarian Neuroscience Society. *Frontiers in Neuroscience*. P.6-6.

Konferencia helye, ideje: Budapest, 2011. január 22-24. (13th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society)

Kovács A, Tóth K, László K, Gálosi R, **Ollmann T**, Lénárd L:
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP-1 on liquid food intake of rats.
Frontiers in Neuroscience. 6-12.
Konferencia helye, ideje: Budapest, 2011. január 22-24. (13th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society)

Kovács A, Tóth K, László K, Gálosi R, **Ollmann T**, Lénárd L:
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP-3 on liquid food intake of rats. Acta Physiologica, 202(Suppl 684) pp. 59-60.
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2011. június 08-11. (Magyar Élettani Társaság LXXV. Vándorgyűlése)

Péczezy L, Szabó Á, **Ollmann T**, László K, Kovács A, Lénárd L:
The role of D2 dopamine receptors of the ventral pallidum and nucleus accumbens in passive avoidance learning mechanisms. Acta Physiologica 202:(Suppl684) p. 97.
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2011. június 08-11. (Magyar Élettani Társaság LXXV. Vándorgyűlése)

Ollmann T, Péczezy L, László K, Kovács A, Lénárd L:
Effects of neurotensin and neurotensin receptor conditioned place preference test. Acta Physiologica, 202(Suppl 684): p. 89, P63, 2011.
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2011. június 08-11. (Magyar Élettani Társaság LXXV. Vándorgyűlése)

László K, Madarassy-Sz A, Tóth K, **Ollmann T**, Péczezy L, Kertes E, Lénárd L:
The role of intraamygdaloid neurotensin in conditioned place preference test and in elevated plus maze test. Acta Physiologica, 202(Suppl 684): pp. 68-69, P53, 2011.
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2011. június 08-11. (Magyar Élettani Társaság LXXV. Vándorgyűlése)

László K, Madarassy-Szücs A, Kupó P, Oroszlány A, Tóth K, **Ollmann T**, Péczezy L, Kertes E, Lénárd L:
The role of neurotensin and dopamine interaction in passive avoidance learning mechanisms.
Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience 65:(Suppl1) pp. 40-41.
Konferencia helye, ideje: Szeged, 2012. január19-21. (IBRO International Workshop 2012)

Kovács A, László K, **Ollmann T**, Péczezy L, Zhizhina O, Lénárd L:
Intraamygdaloid RFRP-3 results in food intake decrease in rats. Ideggyógyászati Szemle/Clinical Neuroscience 65:(Suppl1) p. 38.
Konferencia helye, ideje: Szeged, 2012. január19-21. (IBRO International Workshop 2012)

László K, Kovács A, Lacy GD, **Ollmann T**, Péczezy L, Kertes E, Karádi Z, Lénárd L:
The role of intraamygdaloid oxytocin in reinforcing mechanisms
Acta Physiologica, 211:(697) pp. 147-148. (2014). Joint meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society.
Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország: 2014.08.27 -2014.08.30.

Kovács A, László K, **Ollmann T**, Péczely L, Zagorác O, Gálosi R, Bencze N, Lénárd L:
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP-1 on anxiety and positive reinforcement

Acta Physiologica, 211:(697) p. 142. (2014). Joint meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society. Budapest, Magyarország: 2014.08.27 -2014.08.30.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország: 2014.08.27 -2014.08.30

Lénárd L, Zagoracz O, László K, **Ollmann T**, Péczely L, Gálosi R, Kovács A
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFamide-related peptides (RFRPs) on food intake in rats.

Obesitologia Hungarica, 14:(Suppl2) p. 44. (2015)

5th Central European Congress on Obesity.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország: 2015.10.01 -2015.10.03.

Kovács A, Zagoracz O, László K, **Ollmann T**, Péczely L, Gálosi R, Lénárd L
Learning related effects of satiety inducing RFamide-related peptides (RFRPs) in the amygdaloid body of rats.

Obesitologia Hungarica, 14:(Suppl2) p. 44. (2015)

5th Central European Congress on Obesity.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország: 2015.10.01 -2015.10.03.

7.4. Előadások és konferenciaabsztraktok

Kovács K, Ollmann T:

A disszinkrónia szívultrahangos vizsgálata pacemaker-kezelt betegeknél.

VI. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia absztrakgyűjteménye, 2008. p. 33.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2008. március 26-28.

Ollmann T, Kovács K:

Pacemaker ingerlés szerepe a kardiális disszinkroniában és reszinkronizációban.

VI. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia absztrakgyűjteménye, 2008. p. 43.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2008. március 26-28.

Kovács K, Ollmann T:

Disszinkrónia echokardiográfiás vizsgálata.

PTE-ÁOK TDK Konferencia absztrakgyűjteménye, 2008. p. 21.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2008. április 3-5.

Ollmann T, Kovács K:

Biventricularis pacemakerrel rendelkező betegek echokardiográfiás követése.

PTE-ÁOK TDK Konferencia absztrakgyűjteménye, 2008. p. 26.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2008. április 3-5.

Ollmann T, Péczely L, László K:

The role of D1 and D2 dopaminergic receptors of the ventral pallidum in spatial learning. VII. Országos Interdiszciplinális Grastyán Konferencia absztraktgyűjteménye, 2009. p. 77. Konferencia helye, ideje: Pécs, 2009. március 23-25.

Ollmann T, Péczely L:

Role of D1 dopaminergic receptors in the ventral pallidum in learning and memory processes. Nemzetközi Tudományos Konferencia absztraktgyűjteménye, Izsevszk, Udmurt Köztársaság, 2009. pp. 328-329. Konferencia helye, ideje: Izsevszk, Udmurt Köztársaság, 2009. április 20-23.

Ollmann T, Berente E, Szabó Á, Gubik Á, Péczely L, László K, Kovács A, Lénárd L:

A ventralis pallidum neurotensin 1 receptorainak szerepe a pozitív megerősítési folyamatokban. Magyar Anatómus Társaság, a Magyar Biofizikai Társaság, a Magyar Élettani Társaság, és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Vándorgyűlése, Debrecen, p. 162, 2012.

Konferencia helye, ideje: Debrecen, 2012. június 10-13. (FAMÉ)

László K, Madarassy-Szűcs A, Tóth K, **Ollmann T**, Péczely L, Kertes E, Lénárd L:

Intraamygdaloid neurotensin-1 receptor és dopamin D1 receptor szerepe megerősítési folyamatok szabályozásában. Magyar Anatómus Társaság, a Magyar Biofizikai Társaság, a Magyar Élettani Társaság, és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Vándorgyűlése, Debrecen, p. 137, 2012.

Konferencia helye, ideje: Debrecen, 2012. június 10-13. (FAMÉ)

Kovács A, László K, Bencze N, Zhizhina O, **Ollmann T**, Péczely L, Lénárd L

Az amygdala centrális magjába injektált RFRP-1 hatása helypreferencia tesztben és emelt keresztpalló tesztben. A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongresszusa: Absztraktfüzet. p. 132.

Konferencia helye, ideje: Debrecen, 2012. június 10-13. (FAMÉ)

Kovács A, László K, Bencze N, Zhizhina O, **Ollmann T**, Péczely L, Lénárd L:

Intraamygdaloid RFRP-1 microinjections results in food intake decrease in rats. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, p. 513, 2012.

Konferencia helye, ideje: Barcelona, Spanyolország, 2012. június 14-18. (8th FENS Forum of Neuroscience)

Ollmann T, Szabó Á, Berente E, Péczely L, László K, Kovács A, Lénárd L:

Neurotensin injected into the ventral pallidum results in conditioned place preference. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, p. 518, 2012.

Konferencia helye, ideje: Barcelona, Spanyolország, 2012. június 14-18. (8th FENS Forum of Neuroscience)

Péczy L, Szabó Á, Gubik Á, **Ollmann T**, László K, Kovács A, Lénárd L:
D2 dopamine receptors of the basal forebrain are involved in passive avoidance learning mechanisms. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, p. 518, 2012.
Konferencia helye, ideje: Barcelona, Spanyolország, 2012. június 14-18. (8th FENS Forum of Neuroscience)

László K, Madarassy-Szűcs A, Kupó P, Oroszlány A, Tóth K, **Ollmann T**, Péczy L, Kertes E, Lénárd L:
The role of neurotensin and dopamine interaction in spatial learning mechanisms. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, p. 527, 2012.
Konferencia helye, ideje: Barcelona, Spanyolország, 2012. június 14-18. (8th FENS Forum of Neuroscience)

Borbély É, Hajna Zs, Nabi L, Tékus V, László K, **Ollmann T**, Karádi Z, Lénárd L, Quinn JP, Berger A, Paige CJ, Keeble J, Szolcsányi J, Pintér E, Helyes Zs
Role of hemokinin-1 and NK1 receptors in anxiety, stress and depression-like behaviour in mice.
14th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society.
Konferencia helye, ideje: Budapest, 2013. Január 17-19.

Kovács A, László K, Bencze N, **Ollmann T**, Péczy L, Zhizhina O, Lénárd L.:
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP peptides in conditioned place preference test.
14th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society.
Konferencia helye, ideje: Budapest, 2013. Január 17-19.

Ollmann T, Péczy L, László K, Kovács A, Gálosi R, Lénárd L: A ventralis pallidumba injektált neurotensin magatartási hatásainak vizsgálata. II. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktgyűjteménye, Pécs, p. 238,
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2013. május 15-17.

Kovács A, László K, Bencze N, Zagoracz O, **Ollmann T**, Péczy L, Lénárd L:
Effects of RFRP peptide microinjections into the central nucleus of amygdala in conditioned place preference test. II. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktgyűjteménye, Pécs, p. 237,
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2013. május 15-17.

Péczy L, **Ollmann T**, Kovács A, László K, Gálosi R, Lénárd L:
A ventralis pallidum dopamin receptorainak szerepe a tanulási folyamatokban. II. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet, p. 133.
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2013. május 15-17.

Kovács A, László K, Zagoracz O, Bencze N, **Ollmann T**, Péczy L, Lénárd L:
Intraamygdaloid microinjection of RFRP-1 influences passive avoidance learning. A Magyar Élettani, Farmakológiai és Mikrocirkulációs Társaságok 2013. évi közös Tudományos Kongresszusa.
Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2013. június 05-08.

Péczy L, **Ollmann T**, Kovács A, László K, Gálosi R, Lénárd L:
Role of ventral pallidal dopamine receptors in conditioned place preference. 2nd International Doctoral Workshop on Natural Sciences absztraktgyűjteménye, Pécs, pp. 42-43.

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2013. szeptember 11-12.

Ollmann T, Berente E, Péczy L, László K, Kovács A, Gálosi R, Karádi Z, Lénárd L:
Effects of neurotensin microinjection in the ventral pallidum on anxiety. IBRO Workshop. Konferencia helye, ideje: Debrecen, Magyarország, 2014.01.16-2014.01.17. Paper P87.

Péczy L, Szabó Á, **Ollmann T**, László K, Kovács A, Gálosi R, Karádi Z, Lénárd L:
The role of D2 dopamine receptors of the ventral pallidum in motivational and learning processes. IBRO Workshop. Konferencia helye, ideje: Debrecen, Magyarország, 2014.01.16-2014.01.17. Paper P88.

Kovács A, László K, Zagoracz O, **Ollmann T**, Péczy L, Lénárd L:
Effects of intraamygdaloid microinjections of RFRP peptides on passive avoidance learning in rats. IBRO Workshop. Konferencia helye, ideje: Debrecen, Magyarország, 2014.01.16-2014.01.17. Paper P81.

Kállai V, Gálosi R, Tóth A, Petykó Z, **Ollmann T**, Péczy L, Kovács A, Kállai J, Szabó I, Lénárd L:
The MAM-E17 rat model of schizophrenia: Behavioral examinations. IBRO Workshop. Konferencia helye, ideje: Debrecen, Magyarország, 2014.01.16-2014.01.17. Paper P77.

Ollmann T, Péczy L, László K, Kállai V, Kovács A, Lénárd L:
A ventralis pallidum neurotensin-1-receptorainak szerepe a pozitív megerősítésben és a szorongásban
III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet, p. 17
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2014. április 15-17.

Péczy L, **Ollmann T**, László K, Kállai V, Kovács A, Lénárd L:
A ventralis pallidum D2 dopamin receptorainak szerepe a memóriakonszolidációban
III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet, p. 18
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2014. április 15-17.

Kovács A, László K, **Ollmann T**, Péczy L, Zagoracz O, Gálosi R, Bencze N, Lénárd L:
Effects of RFRP-3 administration into the central amygdala on food intake in rats.
III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet, p. 236
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2014. április 15-17.

Kállai V, Gálosi R, Tóth A, Petykó Z, **Ollmann T**, Péczy L, Kovács A, Karádi Z, Kállai J, Szabó I, Lénárd L:
Magatartási vizsgálatok MAM-E17 skizofrén állatmodellen
III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet, p. 249
Konferencia helye, ideje: Pécs, 2014. április 15-17.

Ollmann T:

A neurotensin pozitív megerősítésre és a szorongásra gyakorolt hatásainak vizsgálata a ventralis pallidumban

Pécsi Tudományegyetem Idegtudományi Centrum és Szentágotthai János Kutatóközpont
PhD és TDK konferencia

Konferencia helye, ideje: Pécs, 2014. november 13-14.

László K, Kovács A, Csaba G, Lacy GD, **Ollmann T**, Péczely L, Kertes E, Karádi Z, Lénárd L

The role of oxytocin in positive reinforcement in the rat central nucleus of amygdala.

In: XV. Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society Hungarian Academy of Sciences.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2015.01.22-2015.01.23.p. 65.

Kovács A, László K, **Ollmann T**, Péczely L, Zagorác O, Gálosi R, Lénárd L: Effects of RFRP peptides on anxiety and passive avoidance learning in the amygdala. A Magyar Élettani Társaság 79. Vándorgyűlése

Konferencia helye, ideje: Szeged, 2015. Május 27-30. Előadás összefoglalók, P2.16, 71. O., 2015.

8. Irodalomjegyzék

- [1] Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*. 2001;24:97-129.
- [2] Durant C, Christmas D, Nutt D. The pharmacology of anxiety. *Curr Top Behav Neurosci*. 2010;2:303-30.
- [3] Hou IC, Suzuki C, Kanegawa N, Oda A, Yamada A, Yoshikawa M, Yamada D, Sekiguchi M, Wada E, Wada K, Ohinata K. beta-Lactotensin derived from bovine beta-lactoglobulin exhibits anxiolytic-like activity as an agonist for neurotensin NTS(2) receptor via activation of dopamine D(1) receptor in mice. *J Neurochem*. 2011;119:785-90.
- [4] Ferraro L, Tiozzo Fasiolo L, Beggiato S, Borelli AC, Pomierny-Chamiolo L, Frankowska M, Antonelli T, Tomasini MC, Fuxe K, Filip M. Neurotensin: A role in substance use disorder? *J Psychopharmacol*. 2016;30:112-27.
- [5] Binder EB, Kinkead B, Owens MJ, Nemeroff CB. Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacol Rev*. 2001;53:453-86.
- [6] Tanganelli S, O'Connor WT, Ferraro L, Bianchi C, Beani L, Ungerstedt U, Fuxe K. Facilitation of GABA release by neurotensin is associated with a reduction of dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*. 1994;60:649-57.
- [7] Torregrossa MM, Kalivas PW. Neurotensin in the ventral pallidum increases extracellular gamma-aminobutyric acid and differentially affects cue- and cocaine-primed reinstatement. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;325:556-66.
- [8] Ferraro L, Tomasini MC, Mazza R, Fuxe K, Fournier J, Tanganelli S, Antonelli T. Neurotensin receptors as modulators of glutamatergic transmission. *Brain Res Rev*. 2008;58:365-73.
- [9] Drumheller AD, Gagné MA, St-Pierre S, Jolicoeur FB. Effects of neurotensin on regional brain concentrations of dopamine, serotonin and their main metabolites. *Neuropeptides*. 1990;15:169-78.
- [10] St-Gelais F, Jomphe C, Trudeau LE. The role of neurotensin in central nervous system pathophysiology: what is the evidence? *J Psychiatry Neurosci*. 2006;31:229-45.
- [11] Zahm DS, Heimer L. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat: I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distributions of neurotensin and substance P immunoreactivity. *J Comp Neurol*. 1988;272:516-35.
- [12] Kretschmer BD. Functional aspects of the ventral pallidum. *Amino acids*. 2000;19:201-10.
- [13] Smith KS, Tindell AJ, Aldridge JW, Berridge KC. Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behav Brain Res*. 2009;196:155-67.
- [14] Nikolaus S, Huston JP, Hasenöhl RU. Anxiolytic-like effects in rats produced by ventral pallidal injection of both N- and C-terminal fragments of substance P. *Neurosci Lett*. 2000;283:37-40.

- [15] Root DH, Melendez RI, Záborszky L, Napier TC. The ventral pallidum: Subregion-specific functional anatomy and roles in motivated behaviors. *Prog Neurobiol.* 2015;130:29-70.
- [16] Fassio A, Evans G, Grisshammer R, Bolam JP, Mimmack M, Emson PC. Distribution of the neurotensin receptor NTS1 in the rat CNS studied using an amino-terminal directed antibody. *Neuropharmacology.* 2000;39:1430-42.
- [17] Sarret P, Beaudet A. Chapter VI Neurotensin receptors in the central nervous system. In: Björklund A, Hökfelt T, editors. *Handbook of Chemical Neuroanatomy*: Elsevier; 2002. p. 323-400.
- [18] Sarret P, Perron A, Stroh T, Beaudet A. Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol.* 2003;461:520-38.
- [19] Michaud JC, Gueudet C, Soubrié P. Effects of neurotensin receptor antagonists on the firing rate of rat ventral pallidum neurons. *Neuroreport.* 2000;11:1437-41.
- [20] Mahler SV, Vazey EM, Beckley JT, Keistler CR, McGlinchey EM, Kaufling J, Wilson SP, Deisseroth K, Woodward JJ, Aston-Jones G. Designer receptors show role for ventral pallidum input to ventral tegmental area in cocaine seeking. *Nat Neurosci.* 2014;17:577-85.
- [21] Zahm DS, Heimer L. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol.* 1990;302:437-46.
- [22] Ferraro L, Tomasini MC, Fuxe K, Agnati LF, Mazza R, Tanganelli S, Antonelli T. Mesolimbic dopamine and cortico-accumbens glutamate afferents as major targets for the regulation of the ventral striato-pallidal GABA pathways by neurotensin peptides. *Brain Res Rev.* 2007;55:144-54.
- [23] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York: Academic Press; 1986.
- [24] Shibata K, Furukawa T. The mammillary body, a potential site of action of neurotensin in passive avoidance behavior in rats. *Brain Res.* 1988;443:117-24.
- [25] László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, Lénárd L. The role of neurotensin in positive reinforcement in the rat central nucleus of amygdala. *Behav Brain Res.* 2010;208:430-5.
- [26] László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, Ollmann T, Lénárd L. Effects of neurotensin in amygdaloid spatial learning mechanisms. *Behav Brain Res.* 2010;210:280-3.
- [27] László K, Tóth K, Kertes E, Péczely L, Ollmann T, Madarassy-Szűcs A, Lénárd L. The role of neurotensin in passive avoidance learning in the rat central nucleus of amygdala. *Behav Brain Res.* 2012;226:597-600.
- [28] Péczely L. A központi idegrendszer dopamin receptorainak szerepe a memóriakonzolidációs folyamatokban, doktori (PhD) értekezés. Pécs: Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar; 2014.
- [29] Gully D, Canton M, Boigegrain R, Jeanjean F, Molimard JC, Poncelet M, Gueudet C, Heaulme M, Leyris R, Brouard A, et al. Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:65-9.

- [30] Hasenöhrl RU, Oitzl MS, Huston JP. Conditioned place preference in the corral: a procedure for measuring reinforcing properties of drugs. *Journal of neuroscience methods*. 1989;30:141-6.
- [31] Huston JP, Silva MA, Topic B, Müller CP. What's conditioned in conditioned place preference? *Trends Pharmacol Sci*. 2013;34:162-6.
- [32] Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2:322-8.
- [33] Gong W, Neill D, Justice JB, Jr. Conditioned place preference and locomotor activation produced by injection of psychostimulants into ventral pallidum. *Brain Res*. 1996;707:64-74.
- [34] Skoubis PD, Maidment NT. Blockade of ventral pallidal opioid receptors induces a conditioned place aversion and attenuates acquisition of cocaine place preference in the rat. *Neuroscience*. 2003;119:241-9.
- [35] Hiroi N, White NM. The ventral pallidum area is involved in the acquisition but not expression of the amphetamine conditioned place preference. *Neurosci Lett*. 1993;156:9-12.
- [36] McAlonan GM, Robbins TW, Everitt BJ. Effects of medial dorsal thalamic and ventral pallidal lesions on the acquisition of a conditioned place preference: further evidence for the involvement of the ventral striatopallidal system in reward-related processes. *Neuroscience*. 1993;52:605-20.
- [37] Gong W, Neill D, Justice JB, Jr. 6-Hydroxydopamine lesion of ventral pallidum blocks acquisition of place preference conditioning to cocaine. *Brain Res*. 1997;754:103-12.
- [38] Glimcher PW, Giovino AA, Hoebel BG. Neurotensin self-injection in the ventral tegmental area. *Brain Res*. 1987;403:147-50.
- [39] Heidbreder C, Gewiss M, De Mot B, Mertens I, De Witte P. Balance of glutamate and dopamine in the nucleus accumbens modulates self-stimulation behavior after injection of cholecystinin and neurotensin in the rat brain. *Peptides*. 1992;13:441-9.
- [40] Glimcher PW, Margolin DH, Giovino AA, Hoebel BG. Neurotensin: a new 'reward peptide'. *Brain Res*. 1984;291:119-24.
- [41] Carey RJ, Damianopoulos EN. Opponent-process theory and drug conditioning: an assessment for conditioned stimulant-induced movement. *Behav Brain Res*. 1992;51:139-47.
- [42] Shilling PD, Feifel D. The neurotensin-1 receptor agonist PD149163 blocks fear-potentiated startle. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008;90:748-52.
- [43] Prus AJ, Hillhouse TM, LaCrosse AL. Acute, but not repeated, administration of the neurotensin NTS1 receptor agonist PD149163 decreases conditioned footshock-induced ultrasonic vocalizations in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014;49:78-84.
- [44] Nikolaus S, Huston JP, Hasenöhrl RU. Reinforcing effects of neurokinin substance P in the ventral pallidum: mediation by the tachykinin NK1 receptor. *Eur J Pharmacol*. 1999;370:93-9.

- [45] Kertes E, László K, Berta B, Lénárd L. Positive reinforcing effects of substance P in the rat globus pallidus revealed by conditioned place preference. *Behav Brain Res.* 2010;215:152-5.
- [46] Kertes E, László K, Sándor P, Lénárd L. Influence of learning and anxiety by substance P in the globus pallidus and amygdala. *Acta Neurobiologiae Experimentalis.* 2003;63:56, F9.
- [47] Kertes E, László K, Berta B, Lénárd L. Positive reinforcing effects of substance P in the rat central nucleus of amygdala. *Behav Brain Res.* 2009;205:307-10.
- [48] Zahm DS. The ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat--II. Compartmentation of ventral pallidal efferents. *Neuroscience.* 1989;30:33-50.
- [49] Groenewegen HJ, Berendse HW, Haber SN. Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents. *Neuroscience.* 1993;57:113-42.
- [50] Hjelmstad GO, Xia Y, Margolis EB, Fields HL. Opioid modulation of ventral pallidal afferents to ventral tegmental area neurons. *J Neurosci.* 2013;33:6454-9.
- [51] Floresco SB, West AR, Ash B, Moore H, Grace AA. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci.* 2003;6:968-73.
- [52] Fibiger HC, LePiane FG, Jakubovic A, Phillips AG. The role of dopamine in intracranial self-stimulation of the ventral tegmental area. *J Neurosci.* 1987;7:3888-96.
- [53] Salamone JD, Cousins MS, Snyder BJ. Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev.* 1997;21:341-59.
- [54] Tsai HC, Zhang F, Adamantidis A, Stuber GD, Bonci A, de Lecea L, Deisseroth K. Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science.* 2009;324:1080-4.
- [55] Gong W, Justice JB, Jr., Neill D. Dissociation of locomotor and conditioned place preference responses following manipulation of GABA-A and AMPA receptors in ventral pallidum. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1997;21:839-52.
- [56] Boyson SJ, McGonigle P, Molinoff PB. Quantitative autoradiographic localization of the D1 and D2 subtypes of dopamine receptors in rat brain. *J Neurosci.* 1986;6:3177-88.
- [57] Mengod G, Villaró MT, Landwehrmeyer GB, Martínez-Mir MI, Niznik HB, Sunahara RK, Seeman P, O'Dowd BF, Probst A, Palacios JM. Visualization of dopamine D1, D2 and D3 receptor mRNAs in human and rat brain. *Neurochem Int.* 1992;20 Suppl:33S-43S.
- [58] Klitenick MA, Deutch AY, Churchill L, Kalivas PW. Topography and functional role of dopaminergic projections from the ventral mesencephalic tegmentum to the ventral pallidum. *Neuroscience.* 1992;50:371-86.