

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM ÁLTALÁNOS  
ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

**Ph.D. értekezés**

**Neurotenzinerger mechanizmusok szerepe magatartási  
folyamatok szabályozásában**

**Dr. László Kristóf**

**Elméleti Orvostudományok Doktoriskola iskolavezetője:**

**Prof. Dr. Lénárd László**

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

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

**Pécs, 2010**

# Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék .....	1
Bevezetés .....	3
Neurotenzin: .....	4
A neurotenzin felfedezése: .....	4
A neurotenzin szöveti megoszlása: .....	5
A neurotenzin hatásai: .....	6
Neurotenzin receptorok, előfordulásuk és antagonistái: .....	6
A neurotenzin szerepe központi idegrendszeri betegségekben: .....	8
Amygdala: .....	11
Az amygdala anatómiája és központi idegrendszeri kapcsolatai: .....	11
Az amygdala szerepe magatartási folyamatok szabályozásában: .....	12
Célkitűzések: .....	13
Anyagok és módszerek: .....	14
Kísérleti állatok: .....	14
Műtétek: .....	15
Anyagbeadás: .....	17
Magatartási tesztek: .....	19
Helypreferencia teszt: .....	20
Emelt keresztpalló teszt (Elevated plus-maze): .....	23
Morris-féle úsztatási teszt (Morris water maze): .....	24
Passzív elhárító teszt: .....	26
Open field teszt: .....	28
Adatok kiértékelése: .....	28
Szövektan: .....	28
Statisztika: .....	28
Eredmények: .....	29
Szövektan kiértékelése: .....	29
Helypreferencia teszt: .....	30
Emelt keresztpalló teszt (Elevated plus-maze): .....	34

Morris-féle úsztatási teszt (Morris water maze): .....	35
Passzív elhárító teszt: .....	38
Open field teszt: .....	42
Eredmények megbeszélése: .....	48
Helypreferencia teszt: .....	48
Emelt keresztpalló teszt: .....	52
Morris-féle úsztatási teszt: .....	54
Passzív elhárító teszt: .....	56
Open field teszt: .....	59
Eredményeink összefoglalása: .....	60
Rövidítések jegyzéke: .....	62
Köszönetnyilvánítás: .....	63
Publikációs jegyzék: .....	64
A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk: .....	64
Egyéb publikációk és citálható absztraktok: .....	64
Konferencia absztraktok: .....	66
Irodalomjegyzék: .....	70

## Bevezetés

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

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

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

## Neurotenzin:

### A neurotenzin felefedezése:

A neurotenzin (NT) tizenhárom aminosavból álló neuropeptid, melyet borjú hypothalamusból izolált először Carraway és Leeman 1973-ban [41]. Elnevezését egyrészt idegszövetből történt izolálásáról, másrészt vérnyomást csökkentő hatásáról kapta, mely i.v. adása után tapasztalható [41,78]. Az említett kutatók munkacsoportja a későbbiekben megállapította a peptid aminosav sorrendjét, majd 1975-ben kifejlesztették szintézisének módszerét [39,43].

### **pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH**

#### 1. ábra A neurotenzin aminosav sorrendje [39].

Az NT aminosav szekvenciája alapján egy családba tartozik olyan peptidekkel, mint például a neuromedin N vagy a xenopsin. Ezen peptidek rokonságának alapja a nagy mértékű hasonlóság a C terminális régióban (1. táblázat) [60].

Peptid	Aminosav sorrend
NT (borjú, kutya, patkány, ember)	Glu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu
NT ( <i>Gallus</i> )	Glu-Leu-His-Val-Asn-Lys-Ala-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu
NMN (sertés)	Lys-Ile-Pro-Tyr-Ile-Leu
LANT-6 ( <i>Gallus</i> )	Lys-Asn-Pro-Tyr-Ile-Leu
XP ( <i>Xenopus</i> )	Glu-Gly-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu
XP (kutya, pulyka)	Phe-His-Pro-Lys-Arg-Pro-Trp-Ile-Leu

1. táblázat A neurotenzin családba tartozó peptidek; NT: neurotenzin; NMN: neuromedin N; LANT-6: [Lys8, Asn9]-neurotenzin 8-13; XP: xenopsin. [60].

Bean és munkatársai kimutatták, hogy a humán NT génje a 12. kromoszómán található [12]. Ezen génről átíródott fehérjét pedig egy peptidáz hasít NT-re (13 aminosav) és neuromedin N-re (6 aminosav) [136].

### **A neurotensin szöveti megoszlása:**

Az NT szöveti eloszlását immunhisztokémiai és radioimmunassay technikával határozták meg, mely szerint gerincesekben, beleértve az embert is, a legnagyobb neurotensin-szerű immunoreaktivitást a központi idegrendszer (~10%) és a gasztrointesztinális traktus (~85%) mutatja [40,42]. Ezek alapján a brain-gut peptidek közé sorolható.

Számos kutatócsoport foglalkozott az NT központi idegrendszeri megoszlásával patkányban, borjában és majmokban. Azt találták, hogy legmagasabb koncentrációban a gerincvelő substantia gelatinosa állományában, a nervus trigeminus magjában, a nucleus accumbensben, a hypothalamusban, a substantia nigrában, lateralis septumban, a stria terminalis magjában, a preopticus area területén, a mesencephalon szürkeállományában, így pl. a ventralis tegmentalis areában, valamint az entorhinalis kéregben, a habenuában és az *amygdalában* található [40,116,126,138,281,283]. Manberg és munkatársai humán vizsgálatait az állatkísérleti eredményekhez hasonló eloszlást írtak le: magas koncentrációban detektálták emberben a substantia nigrában, a periaqueductális szürkeállományban, az *amygdalában*, a nucleus accumbensben és a hypothalamikus magvakban. Közepes koncentrációban találták a nucleus caudatusban, a hippocampusban és a globus pallidusban, viszonylag alacsony koncentrációban pedig az agykéregben és a cerebellumban [167].

A gasztrointesztinális traktusban legmagasabb koncentrációban a vékonybélben található meg, kisebb mennyiségben a nyelőcső, gyomor, vastagbél, valamint a hasnyálmirigy területén. Leírták továbbá jelenlétét szívben, tüdőben, májban, lépben, pajzsmirigyben, vesében, mellékvesében, herében, plazmában és a liquorban is [40,55,68,78,231].

## **A neurotenzin hatásai:**

Az NT az ún. brain-gut peptidek családjába tartozik. A gasztrointesztinális rendszerben hatásait parakrin és endokrin úton fejt ki, csökkenti a bélmotilitást és a gyomorsósav-szekréciót [151,290]. Perifériás hatásai közül még említést érdemel a kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt hatása. Intravénás alkalmazásakor hypotenziót tapasztaltak, melyet főként az NT értágító hatásának tulajdonítanak [18,290]. Az NT intravénás alkalmazását követően átmeneti hyperglycaemia is kialakul, melynek kiváltásában több mechanizmus is szerepet játszik, így a fokozott glukagon szekréció és a csökkent inzulin elválasztás, valamint az NT direkt májra gyakorolt hatása [194]. Ezek mellett említést érdemel gyulladásban játszott szerepe, ugyanis kemotaktikus hatású az emberi fehérvérsejtekre, továbbá serkenti a kortikoszteroid elválasztást [18,152]. Gyulladásos folyamatokban való részvételét alátámasztja az is, hogy kimutatták a radioaktív jelölt NT specifikus kötődését patkány hízósejt preparátumokban [18].

A központi idegrendszerben az NT neurotranszmitterként és neuromodulátorként funkcionál [23,56,68,69,190,290]. Irodalmi adatok szerint az NT szerepet játszik az agyi jutalmazási folyamatokban [90]. Az NT ventralis tegmentalis areaba történő mikroinjekciója pozitív megerősítő hatásúnak bizonyult [89]. Intracerebroventrikuláris (i.c.v.) vagy intraciszternális (i.c.) adásakor az NT potenciózza a barbiturát és alkohol indukálta szedációt [199], hypothermiát [17] és izomrelaxációt vált ki [212], továbbá megelőzi a stressz által kiváltott gyomorfekély kialakulását [201]. Mindemellett ilyen módon adva antinociceptív hatású [52-54,212], csökkenti a táplálékfogyasztást [110,163], és változásokat okoz a lokomotoros aktivitásban [117,119].

## **Neurotenzin receptorok, előfordulásuk és antagonistáik:**

Az elsőként izolált NT receptor (NTS) az *NTS1* volt, amit 1990-ben klónozott Tanaka és munkatársai patkány agyból [272]. Vita és Watson munkája nyomán 1993-ban már a humán *NTS1* gén DNS szekvenciája is ismertté vált [291,295]. Ezen receptor szubtypusról kimutatták, hogy nagy affinitású ( $K_d = 0,2$  nM), a G proteinhez kötött receptorok (GPCR) családjába tartozik, mérete pedig 50-60 kDa [103]. Humán

vizsgálatokban kimutatták, hogy az NTS1 génje a 20. kromoszóma hosszú karján található [291]. Az ismert szelektív hisztamin (H1) receptor antagonistá levocabastinra nem találtak érzékenynek [272]. Később humán colon carcinomából is sikerült azonosítani a patkányéval 84%-ban azonos NTS1-t. Nem sokkal ezt követően a szelektív NTS1 antagonistá SR48692 [99], valamint a második generációs (nem-szelektív) NTS1 antagonistá SR142948 [100] kifejlesztésével lehetővé vált a receptor pontos szerepének felderítése mind a periférián, mind a központi idegrendszerben. In vivo és in vitro vizsgálati eredmények számolnak be arról, hogy az NTS1 aktivációja számos G protein mediált változást idéz elő, megemeli a cAMP, cGMP és inozitol-trifoszfát szintet, továbbá az intracelluláris kalcium koncentrációt [72,91,158,257,261,262].

A nagy affinitású NTS1-t másik két NT receptor klónozása követte. Először a szintén GPCR családba tartozó, de alacsony affinitású ( $K_d = 3 \text{ nM}$ ), levocabastinra érzékeny NTS2-t klónozták [46], majd a nem GPCR NTS3 (legújabb nevén gp95/sortilin) következett [172]. Annak ellenére, hogy mindhárom receptor szubtípus ugyanazt a C terminális (8-13) aminosavat ismeri fel, mégis az NT különböző hatásainak közvetítésében vesznek részt [290,307]. Az NTS2 más G proteinekhez kapcsolódik, mint az NTS1, továbbá aktivációjának hatását az is befolyásolja, hogy milyen fajon illetve milyen sejtvonalon expresszálódik [233,248,303]. Az NTS2 elsősorban a testhőmérséklet- és a fájdalom-transzmisszó szabályozásában vesz részt [158,159,164]. Az NTS3 génje az 1. humán kromoszóma rövid karján lokalizálódik [218]. Az NTS3-nak szerepet tulajdonítanak a fehérjék intracelluláris rendszerezésében [198,207], hatásait főként az inozitol-trifoszfát koncentráció változtatása és a MAPK aktivációja révén fejti ki [169].

Ami az NTS-k eloszlását illeti, a gasztrointesztinális traktusban jellemzően az NTS1 található meg, így ezen hatások közvetítésében is ez a szubtípus játszik főként szerepet [29,44,307]. Mind az NTS1, mind az NTS2 elsősorban az agyban található meg [7,76,250,291]. Az NTS1 előfordulása különösen jellemző az olfaktórikus régióban, a laterális septumban, a hippocampusban, a nucleus suprachiasmaticusban, a thalamus anterodorsalis magjában, emellett néhány felszálló modulátoros kolinerg és dopaminerg pálya végződési területén [76,88]. Az NTS1 viszonylag magas koncentrációban található meg a centrális amygdalában, továbbá a substantia nigra pars compactájában és a



ventralis mesencephalon dopaminerg neuronjain, így a ventralis tegmentalis areaban is, illetve prefrontalis és suprarhinalis kéregben, az insulaban, a stria terminalis magjában és a cingulumban [23,24,27,72,76,91,158,204,205,257,261]. Az NT legtöbb hatásának közvetítéséért ez a receptor szubtypus felelős a periférián és a központi idegrendszerben egyaránt [290]. Az NTS2 minden szenzoros rendszerben expresszálódik a központi idegrendszerben, különösen jellemző az olfaktórikus kéregben [247,250,292]. Szintén nagy számban van jelen a cerebellumban, a hippocampus területén (CA1, CA2, CA3 sejteken), a bulbus olfactoriusban, a raphe magokban, a substantia nigrában, a ventralis tegmentalis areaban az amygdala basolaterális, basomedialis, medialis, posterior corticalis nucleusaiban, míg a centrális magjában csak nagyon alacsony sűrűségben [171,247,250,292]. Nagy jelentőségű továbbá az NTS2 szubtypus jelenléte a periaqueductális szürkeállományban és más fájdalommal kapcsolatos területeken, ugyanis ezen receptor közvetítésével az NT morfin-independens analgéziát képes kiváltani ezekre a területekre injektálva [14]. Az NTS2-re jellemző még, hogy neuronokon és glia sejteken egyaránt megtalálható [209]. Az NTS3 (sortilin), főként a pyramis sejteken, a hippocampus CA régiójában, a kisagyi Purkinje sejteken, valamint az NTS2-höz hasonlóan a szenzoros rendszerben expresszálódik [249]. Leírták jelenlétét a frontális kéregben, a thalamus több magjában is, illetve a nucleus subthalamicusban, a medialis és lateralis septum magokban, a hippocampusban, a nucleus supraopticusban és a substantia nigrában [170,249]. Az NTS3-nak csupán 5-10 % -a helyezkedik el a sejt felszínén, kimutatták, hogy dominánsan intracelluláris vezikulákban (Golgi apparátus, endoplazmatikus reticulum) található meg neuronokban, glia sejtekben és adipocytákban [170,172,187,209]. Ez összhangban áll feltételezett funkciójával, a molekulák intracelluláris rendszerezésével [170].

### **A neurotenzin szerepe központi idegrendszeri betegségekben:**

A mezolimbikus-mezokortikális dopamin rendszerrel való szoros anatómiai és funkcionális összefüggése kapcsán kezdődtek el azok a vizsgálatok, melyek az NT szerepét kívánták felderíteni az egyes neurológiai és pszichiátriai betegségek pathogenezisében. Az NT neurotranszmisszió diszregulációjáról – amely főként a

mezolimbikus dopamin rendszer működését érinti - feltételezik, hogy szerepe van a **skizofrénia** kialakulásában. Jelenleg ezen pszichiátriai betegség háttérében a monoamin rendszerek közötti egyensúly megbomlását, ezek közül kiemelten a mezolimbikus dopamin rendszer túlműködését feltételezik [38,94,296]. Fontos kiemelni a glutamát-, GABA-, szerotonin-, noradrenalin-, acetilkolin- és neuropeptid rendszerek szerepét, amelyek a mezolimbikus dopamin rendszer modulálása révén is részt vesznek a skizofrénia patogenezisében [37]. Számos tanulmány arról számol be, hogy gyógyszert nem szedő skizofrénias betegek liquorjában alacsony NT koncentráció volt mérhető, és egyúttal a koncentráció mértékének csökkenése korrelált a betegség súlyosságával [25,87,161,200,255,297]. Fontos kiemelni, hogy a liquorban mért NT koncentráció a központi idegrendszer extracelluláris terében lévő NT koncentrációval korrelál, nem pedig a plazmában mért NT koncentrációval [87,161,200,255,297]. A legtöbb tanulmány arról számol be, hogy a klinikailag hatékony antipszichotikus kezelés normalizálta az NT szintjét [25,87,161,255]. A normalizált NT koncentráció pedig szignifikánsan csökkentette a skizofrénia negatív tüneteit (érzelmeik és a kommunikáció elszegényesedése, gondolati elakadások, a motiváció hiánya, apátia, anhedónia, a szociális és szexuális aktivitás csökkenése, a figyelem zavara) [25,255]. A liquorban mért NT koncentráció csökkenés viszonylag specifikus skizofrénia, mivel Alzheimer-kórban, anorexia nervosában és depresszióban nem találtak NT koncentráció abnormalitást [202]. Post mortem végzett vizsgálatok arról számolnak be, hogy az entorhinalis kéregben, a nucleus caudatusban, a cingulumban és a prefrontalis kéregben szignifikánsan csökkent az NT kötőhelyek száma [145,298]. Uhl és munkatársai pedig kimutatták, hogy hatékony antipszichotikus kezelés után (humán) post mortem végzett vizsgálatokban emelkedett NTS sűrűség található a striatumban, illetve krónikusan haloperidollal kezelt patkányoknál is kimutatható az NTS koncentráció növekedés [282]. Atípusos antipszichotikumok akut és/vagy krónikus adása is növelte az NT mRNS szintet, NT koncentrációt és az NT felszabadulását a nucleus accumbensben. Ezzel szemben a típusos antipszichotikumok a striatumban is emelték az NT koncentrációt és NT mRNS szintet, amiből arra következtetnek, hogy ezen hatás felelős részben az antipszichotikumok extrapyramidális mellékhatásaiért és a tardív diszkinéziáért [2,269]. Krónikus haloperidol kezelés hatására a substantia nigraiban magasabb NTS1 mRNS

szintet mérték, illetve az NT kötőhelyek száma is megemelkedett, ugyanakkor krónikus clozapin kezelést követően ezek a változások nem jöttek létre [21,282]. Az NT tartalmú pályákról tehát bebizonyították, hogy az antipszichotikumok hatásmechanizmusának, csakúgy, mint a drog abúzus megerősítő és szenzitizáló hatásainak bizonyos lépéseit mediálják [15,16,31,32]. Az NT-nek így szerepe lehet mind az antipszichotikumok, mind a pszichostimulánsok farmakológiai hatásainak kialakulásában [37,59]. Az pedig, hogy éppen milyen hatást vált ki, nagyban függ az alkalmazása helyétől [37,59]. Elsőként a peptidet i.c.v. alkalmazva, majd később helyspecifikusabban a nucleus accumbensbe adva antipszichotikus határról számoltak be [77,135]. Ezzel ellentétben a ventralis tegmentalis areába injektálva a pszichostimulánsokéhoz hasonló változásokat észleltek [89,90]. Öningerléses és kondicionált helypreferencia tesztben azt találták, hogy az NT aktiválja az agyi jutalmazó mechanizmusokat [89,90]. Ezen adatok egyrészt szintén alátámasztják a dopamin-rendszerrel való összefüggését, másrészt felhívják a figyelmet arra, hogy a NTS-k új célpontjai lehetnek a pszichózisok, valamint a drog függőség terápiájának [15,16,31,32,59].

Kimutatták, hogy a **Parkinson-kór** patofiziológiájában szerepet játszik az NT rendszer abnormális működése. A Parkinson-kór hátterében kiemelkedően a nigrostriatalis dopamin rendszer diszfunkciója áll. Parkinson-kórban szenvedő páciensek substantia nigrájában és striatumában szignifikánsan alacsonyabb az NTS sűrűség [50,243,284,304]. A betegség állatkísérletes modelljében is az NTS koncentráció csökkenését mérték [93,229,273,294], Emson és munkatársai ugyanakkor az NT koncentráció emelkedéséről számoltak be, melyet Parkinson-kórban szenvedő páciensek liquorjában mérték [70]. Schimpff és munkatársai kimutatták, hogy kezeletlen Parkinson-kóros betegek NT szintje szignifikánsan magasabb a plazmában, mint az L-DOPA kezelésben részesült pácienseké, illetve az egészséges kontrolloké [251]. A betegség állatkísérletes modelljében i.c.v. adott NT megszüntette az izommerevséget és a tremort, míg a hipokinéziára nem volt hatással [118,234]. Mivel az NT-ről kimutatták, hogy képes acetilkolin felszabadulást okozni a striatumban, feltételezik szerepét a Parkinson-kórban kialakuló kolinerg tónusfokozódásban is [275].

## **Amygdala:**

### **Az amygdala anatómiája és központi idegrendszeri kapcsolatai:**

Az amygdala (AMY) az agy temporális lebenyében található mandula alakú szürkeállomány, melyet a XIX. század elején Burdach azonosított. Az AMY nem egységes struktúra, több magból és magcsoportból épül fel. Kezdetben a kutatók két nagy magcsoportját különítették el: a filogenetikailag régebbi corticomediale rész, mely az olfaktoros rendszerrel áll szoros kapcsolatban és a filogenetikailag újabb basolaterális rész. Jelenlegi ismereteink szerint az AMY több mint 10 magból áll, így tulajdonképpen amygdala-komplexumról beszélhetünk [130,131,141,142,183,184,191,213-215,222,223,227,240,241,244,270]. Az amygdala-komplexum további csoportosítás szerint három részre osztható: mély, felszínes és az előbbi kettőhöz nem sorolható, de az AMY-hoz tartozó magok különíthetők el [222].

Az AMY számos kétirányú kapcsolattal rendelkezik a kéreg és a kéreg alatti területek felé [156,182,214,227]. Számos területéről kap szenzoros bemenetet, így olyan kérgi területekről, melyek kapcsolatban állnak a vizuális, akkusztikus, olfaktoros, gusztatoros, szomatoszenzoros, viscerális és polimodális információk feldolgozásával, továbbá összeköttetésben van a thalamus szenzoros információ-feldolgozásában szerepet játszó magjaival is [148,174,175,221,288,289,305].

Az AMY közvetlenül vagy közvetve a limbikus rendszer minden egyes struktúrájával és az asszociációs kéreggel is kapcsolatban áll. Információt kap a prelimbikus, infralimbikus, insularis, anterior cingularis, entorhinalis, perirhinalis, orbitofrontalis és a medialis prefrontalis kéreg területéről [288]. Kapcsolatban áll továbbá a hippocampus-szal, a septummal és a nucleus accumbens-szel [3,289]. Az AMY dopaminerg beidegézést kap a ventralis tegmentalis areából, kolinerg rostok érkezik a ventralis pallidumból, a bazális előagyból és a laterodorsalis tegmentalis areából. Az AMY továbbá szerotoninerget beidegézést kap a raphe magokból és noradrenerget rostok érkezik ide a locus coeruleus-ból [162,219,289]. Az AMY-n belül kiterjedt kapcsolatrendszer azonosítható. A CeA-ba érkezik rostok a basolaterális-, a medialis- és a laterális AMY magból, ugyanakkor a CeA nem küld rostokat a többi AMY magba [222]. Az AMY-ból efferens rostok erednek

a formatio reticularis-, a nucleus ambiguus- és a nucleus tractus solitarii felé [141]. A stria terminalis révén, amely főként a CeA-ból ered, információt küld a ventromedialis és lateralis hypothalamusba, a thalamusba, a középagy tegmentumba, a stria terminalis magjába és a periaqueductális szürkeállományba [141,143]. A ventralis amygdalofugalis pálya rostjai főként a hypothalamus-szal hoz létre összeköttetést [141]. A CeA-nak a fentiekén kívül nagyon fontos projekciós kapcsolata van a ventralis tegmentalis areával, a nucleus accumbens-szel a substantia nigral, a parabrachialis maggal és a locus coeruleus-szal [133,185,235,293].

### **Az amygdala szerepe magatartási folyamatok szabályozásában:**

Az AMY a limbikus rendszer részeként szerepet játszik az emocionális folyamatok és az ösztönös magatartási formák szabályozásában, többek között a táplálékfelvétel szabályozásában, a félelem-, düh-, támadás-, védekezés-, agresszió- és a szexuális magatartás szabályozásában. Az AMY-nak szerepet tulajdonítanak a szenzoros információk érzelmi feldolgozásában, a figyelem fenntartásában és az alvás-ébrenléti folyamatok szervezésében is. Az AMY részt vesz a tanulási- és memória-folyamatok szabályozásában, továbbá fontos szerepet játszik a motiváció és a jutalmazási- illetve megerősítési folyamatok koordinálásában [10,58,125,132,137,149,153-155,177,180,252]. A CeA-nak szerepet tulajdonítanak a kondicionált asszociatív tanulásban és az instrumentális tanulási folyamatok szabályozásában [102,211]. Leírták, hogy lézióját követően zavart szenved az új információk megtanulásának képessége [34,134]. Kimutatták, hogy a CeA szelektív léziója vagy az AMY eltávolítása rontja az averzív szituációhoz kötött memória konszolidációt [97,127,160,195]. Kimble és munkatársai főként a társításos tanulásban tulajdonítanak fontos szerepet az AMY-nak [134].

Az AMY megerősítésben, tanulásban és memória konszolidációban való szerepét számos neurotranszmitter-neuropeptid rendszer vizsgálatok is bizonyították már. Igazolták a CeA-ba injektált substance P pozitív megerősítő hatását helypreferencia tesztben és memóriát fokozó hatását passzív elhárító szituációban [128,129]. Leírták, hogy az AMY-ban található DA receptorok fontos szerepet játszanak különböző drogok jutalmazó hatásainak közvetítésében [36,232,237,306]. Ezen struktúra léziója ugyanakkor gátolta a

kokain-indukálta helypreferencia kialakulását [28]. Az AMY szerepét a megerősítési folyamatok regulálásában további irodalmi adatok erősítik, melyek szerint két különböző munkacsoportnak is sikerült az AMY bizonyos területein elektromos öningerlést kiépíteni [278,301]. Munkacsoportunk igazolta, hogy ghrelin intraamygdaloid mikroinjekcióját követően az állatok szignifikánsan jobban teljesítettek passzív elhárító tesztben és a helytanulást vizsgáló Morris-féle úsztatási tesztben [276,277]. Az AMY memória retenciót és helytanulást fokozó hatását igazolták ezen agyterületre injektált d-amphetamin és kortikoszteroid kezelés kapcsán [176,239]. Az AMY tanulásban és memóriában betöltött szerepének tárgyalásakor fontos továbbá megemlíteni a dopaminerg rendszer mellett, a vazopresszinerg, kolinerg és noradrenerg rendszerek szerepét [64,66,67,144].

Irodalmi adatok szerint az NT egyes agystruktúrákba injektálva pozitív megerősítő hatásának bizonyult. A CeA fontos szerepet játszik jutalmazó-pozitív megerősítő folyamatokban és viszonylag gazdag NTS1-ben. Eddig azonban az NT hatását nem vizsgálták a CeA-ban.

## **Célkitűzések:**

1. A CeA-ba mikroinjektált NT pozitív vagy negatív megerősítő hatásának vizsgálata **Helypreferencia tesztben**, választ keresünk arra is, hogy az NTS1 szerepet játszik-e ezen hatás közvetítésében.
2. Helypreferencia tesztben az állatok az apparátus egy adott térrészében több időt töltenek. Ez akár következménye is lehetne az adott anyag szorongást keltő hatásának. Ezért megvizsgáljuk, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT hatással van-e az állatok szorongására **Emelt keresztpalló tesztben**.
3. Ismert, hogy az AMY szerepet játszik a tanulási folyamatok szabályozásában, leírták továbbá azt is, hogy más agystruktúrában a neurotenzinerg rendszer blokkolása helytanulási nehézséget okoz. Ezért megvizsgáljuk a CeA-ba mikroinjektált NT hatását **Morris-féle úsztatási tesztben**, továbbá választ keresünk arra, hogy az NTS1 szerepet játszik-e ezen hatás közvetítésében.

4. Az AMY-nak fontos szerepet tulajdonítanak a félelem-kondicionált tanulás kialakításában. Más agystruktúrákba injektálva már bizonyították, hogy az NT fokozza a memóriát 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.
5. Számos bizonyíték van arra vonatkozólag, hogy az NT kapcsolatban áll a dopamin rendszerrel mind anatómiai, mind funkcionális szempontból. Továbbá a mezolimbikus-mezokortikális dopamin 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 dopamin pályarendszer modulálásával fejti ki helytanulást, memóriát és helypreferenciát fokozó hatását. Mindezt **Helypreferencia teszt**ben, **Morris-féle úsztatási teszt**ben és **Passzív elhárító szituáció**ban is vizsgáljuk az NT-DA interakció hatását, oly módon, hogy DA D2 antagonistát előkezelést alkalmazunk az NT beadása előtt.
6. 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.

## **Anyagok és módszerek:**

### **Kísérleti állatok:**

Kísérleteinkben 440 hím Wistar patkányt használtunk (LATI, Gödöllő), melyek testsúlya 280-300 g volt. A műtétek előtt 6-8 nappal kerültek át a tenyészetből klimatizált állatházunkba (a hőmérséklet  $22 \pm 1$  °C, a relatív páratartalom 65-70 %-os volt), ahol külön ketrecekben helyeztük el az állatokat. A természetes napszaknak megfelelő mesterséges megvilágítást alkalmaztunk, 12 óra sötét és 12 óra világos periódust

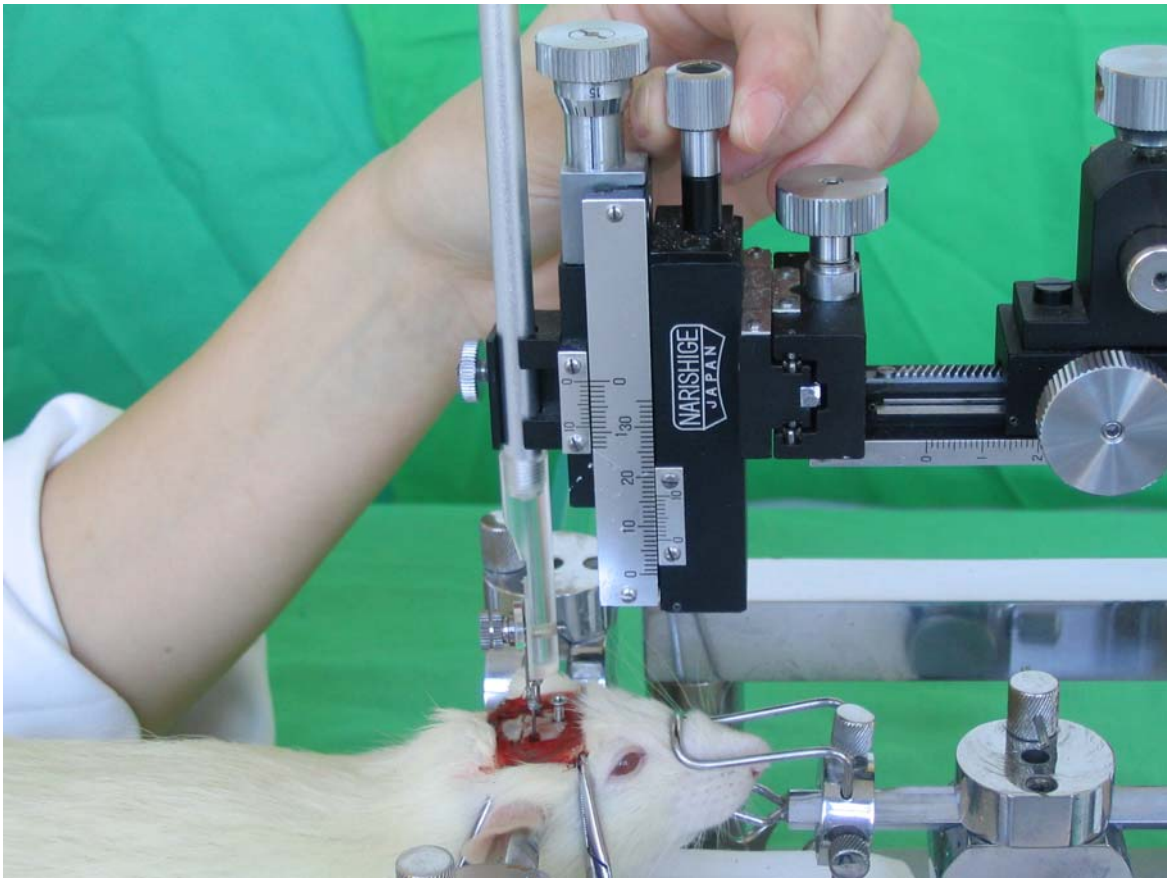
biztosítottunk. A világos periódus reggel 7 órakor kezdődött. Az állatok standard laboratóriumi tápot (Charles River Magyarország Kft., Budapest) és csapvizet ad libitum fogyaszthattak, kivéve a tesztek ideje alatt. A patkányokat a műtéteket megelőzően a kísérletet végzők kezéhez szoktattuk (ún. „handling”). Erre azért volt szükség, mert a mikroinjekciókat kézben tartott éber állatoknak adtuk be (4. ábra). Az állatok tartásánál és a kísérletek során az állatetikai kódex szabályait betartva jártunk el (European Community Council Directive - 1986. November 24. 86-609-EEC).

### **Műtétek:**

A műtéteket altatásban végeztük, ehhez ketamin (80mg/testtömeg kg, Calypsol Richter Gedeon) és diazepam (20mg/testtömeg kg, Seduxen Richter Gedeon) 4:1 arányú keverékét használtuk, melyet i.p. alkalmaztunk.

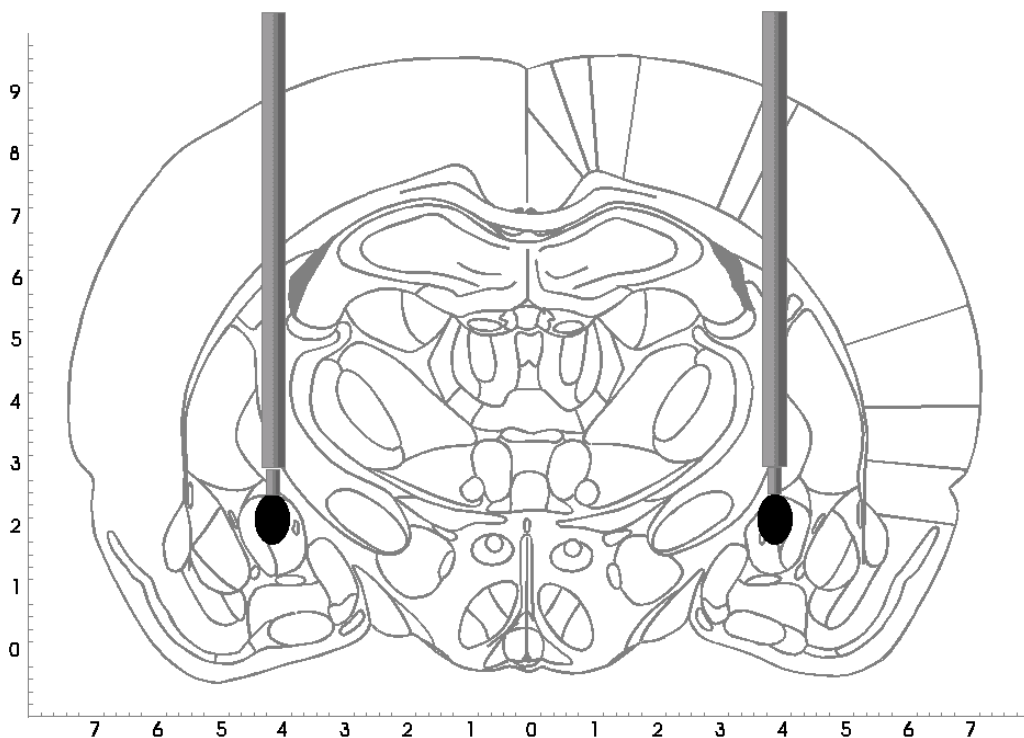
Sztereotaxikus technikával végzett műtét során rozsdamentes fém vezetőkanülöket vezettünk be a CeA fölé bilaterálisan (2.ábra). A kanülök átmérője 22 gauge (0,7 mm) volt és belső vége 1 mm-rel a célzott struktúra fölött helyezkedett el (3.ábra). A célzott terület koordinátáit Paxinos és Watson atlasza szerint határoztuk meg. A kanül belső végének koordinátái a következők voltak DV: -6,5 mm a durához képest, AP: -2,3 mm, L:  $\pm 4,1$  mm a bregmához viszonyítva.





**2. ábra:** *A műtéthez használt sztereotaxikus készülékbe fogott állat.*

A vezető kanülöket a koponyacsontba erősített csavarok segítségével fogászati akriláttal rögzítettük. A krónikusan bent lévő vezető kanülökbe 27 gauge (0,4 mm) átmérőjű mandrinokat helyeztünk az eltömődés és a következményes anyagbeadás megfiúsulásának megelőzésére. Csak az anyagbeadás, azaz a beadó kanül behelyezésének idejére távolítottuk el a mandrinokat.



**3. ábra:** *Sematikus ábra a patkány agy CeA síkjának megfelelő frontális szeletéről, valamint a vezető és beadó kanülökről.*

### **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) dózisát alkalmaztuk. Az antagonistát 2% dimetil-szulfoxidot (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 antagonistista + Veh1 kezelt állatok, ANT+NT: 35 ng antagonistista 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 antagonistista vagy a Veh2 beadás mindig 15 perccel az NT vagy Veh1 beadás előtt történt. A dózisok minden esetben az egyik oldalra történt mikroinjekciók dóziséját 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 antagonistista injekciókkal azonos térfogatban. A DA D2 antagonistával végzett kísérletek során a következő négy csoportba osztottuk a patkányokat: Sulpirid: 5 µg sulpirid + Veh1 kezelt állatok, Sulpirid+NT: 5 µg sulpirid előkezelés után 100 ng NT kezelésben részesült állatok. 100 ng NT: Veh3 előkezelés után 100 ng NT-t kapott állatok. Kontroll: kontroll állatok, melyek két vehiculum injekciót kaptak (Veh1 és Veh3). A Sulpirid vagy a Veh3 beadás mindig 15 perccel az NT vagy Veh1 beadás előtt történt.

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 egy 20 cm hosszú 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

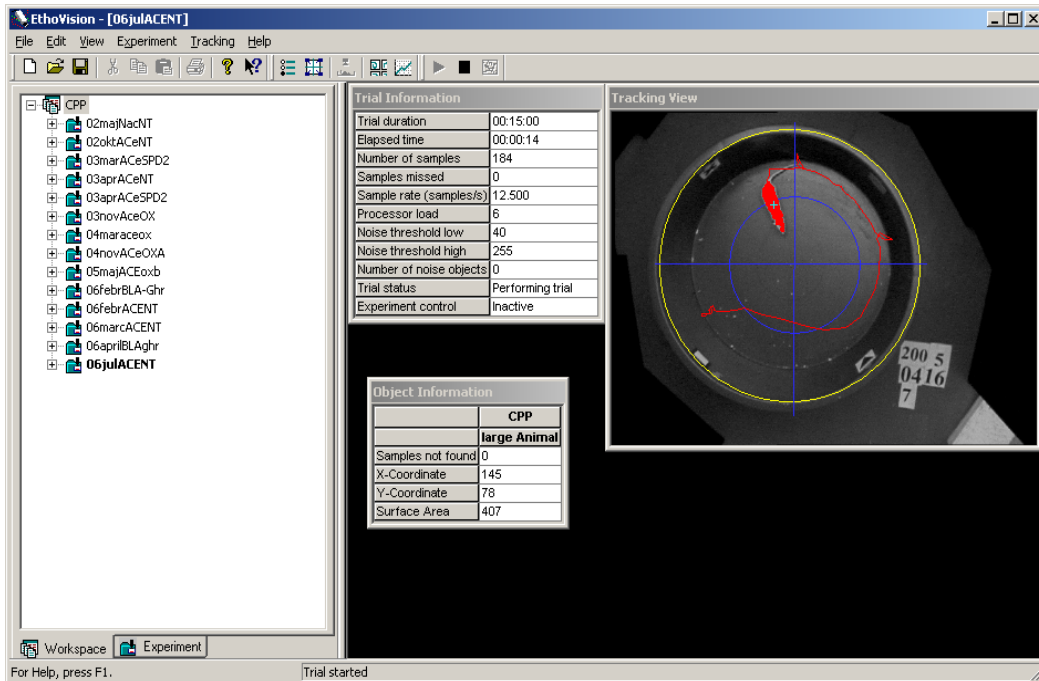
mandrinnal zártuk a kanülöket. Az egész műveletet kézben tartott, éber állatokon végeztük (4. ábra).



**4. ábra:** *Neurokémiai anyagok beadása Cole-Parmer pumpával - kézben tartott éber állatnak*

### **Magatartási tesztek:**

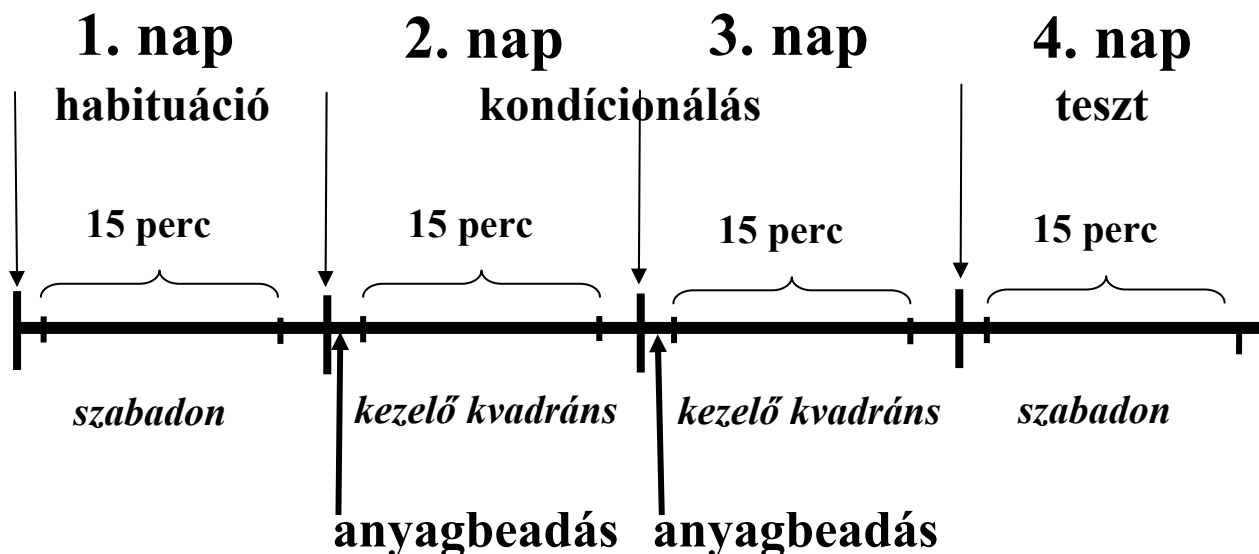
A magatartási tesztek minden esetben hangszigetelt és klimatizált (hőmérséklet:  $23\pm 1$  °C) kísérleti szobákban végeztük. A patkányok viselkedését az apparátusok fölé helyezett videokamerákkal rögzítettük és 'Noldus EthoVisison Basic' program segítségével értékeltük ki (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, Hollandia). Ez a program az általunk kijelölt területen és módon digitálisan követi az állatok mozgását, lehetővé téve ezáltal számos paraméter kiszámolását (megtett út, idő, sebesség, belépések száma és latenciája stb.) (5. ábra). A kísérleteket videomagnóval is rögzítettük, az off-line adat analízis érdekében.



5. ábra: A Noldus EthoVision program által rögzített adatok.

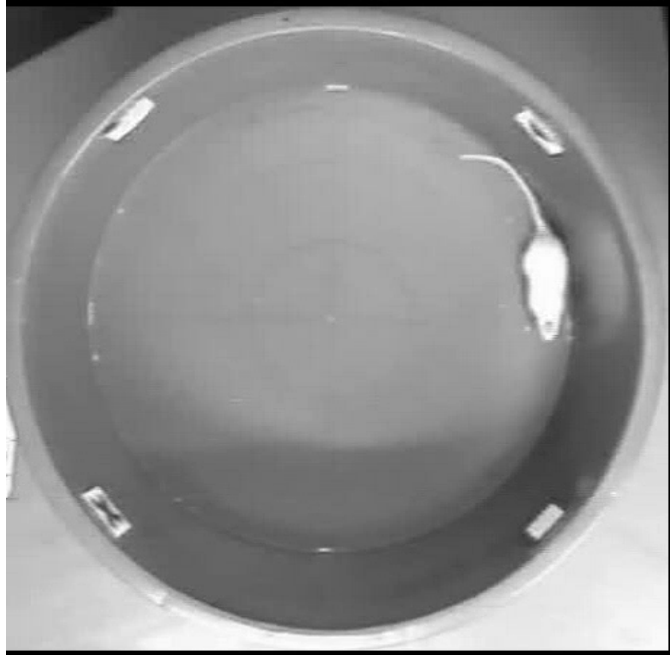
### *Helypreferencia teszt:*

A helypreferencia 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 kísérleti körülmények (apparatus méretei, megvilágítás stb.) megfeleltek a Huston és munkatársai által bevezetett módszernek [103].



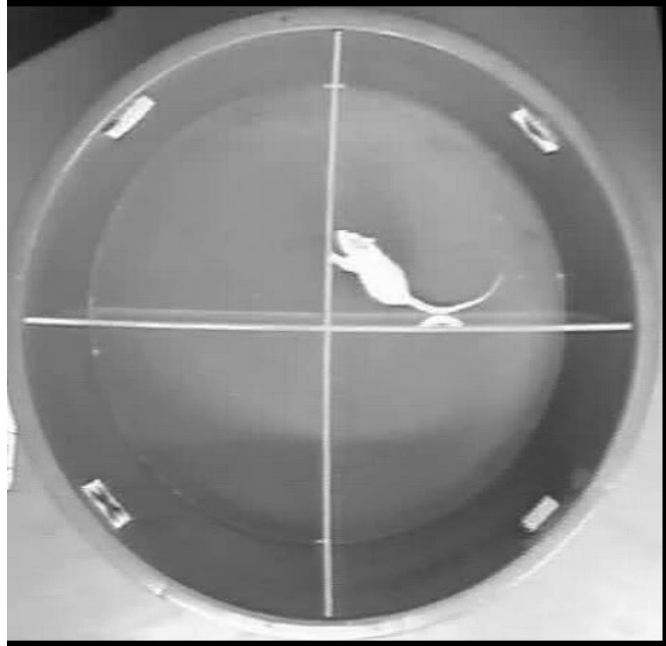
**6. ábra:** *A helypreferencia teszt folyamatábrája.*

A helypreferencia tesztet négy egymást követő napon végeztük (6. ábra). A kísérlet első napján az állatokat habituáltuk, minden állatot konstans pozícióban az apparatus közepére helyeztünk (7. ábra). 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. Az anyagok beadása előtt az állatoknál nem alakult ki helypreferencia, tehát nem volt szignifikáns különbség az egyes kvadránsokban töltött idők között.



**7. ábra** *A habituáció során készült felvétel.*

A vizsgálat második és harmadik napján történt az állatok kondicionálása (8. ábra). 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. Mindkét nap ugyanazt az eljárást alkalmaztuk.



**8. ábra** *A kondicionálás során készült felvétel.*

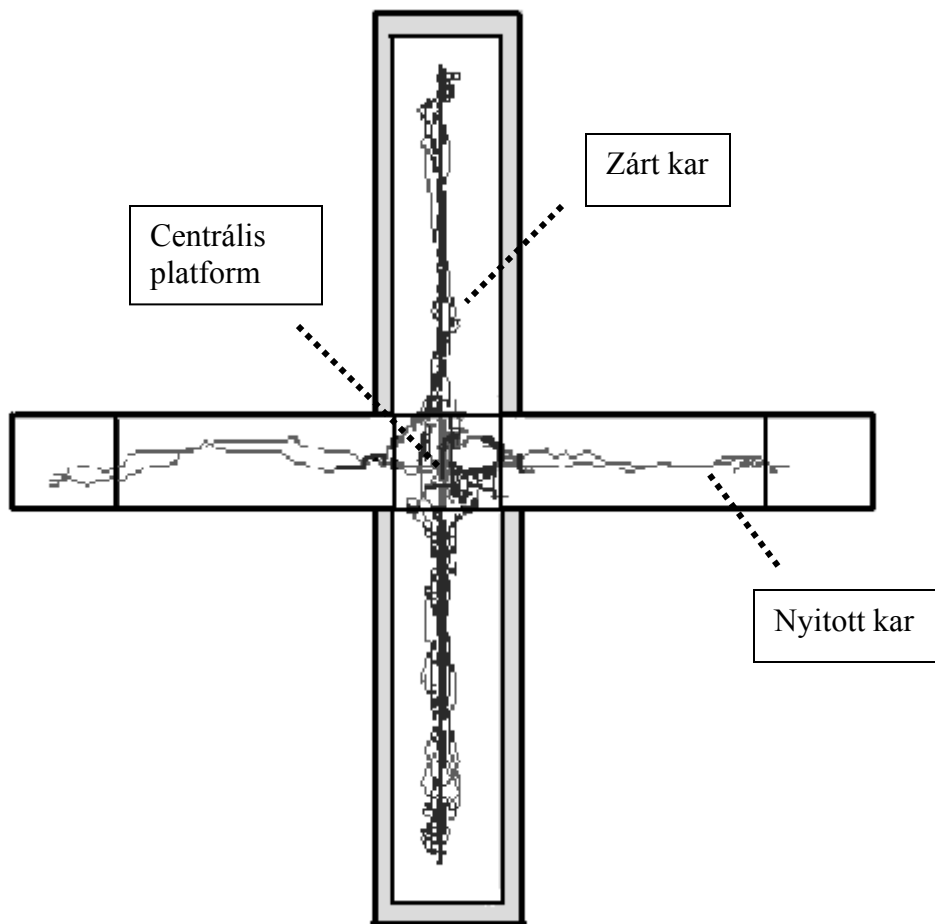
Teszt során – a negyedik napon eltávolítottuk a plexi térelválasztót, majd a patkányokat anyagbeadás nélkül az apparatus közepére helyeztük konstans pozícióban. Ezt követően 15 percen keresztül szabadon mozoghattak az egész apparatus területén. Teszt során ismét mértük, hogy mennyi időt töltenek az egyes kvadránsok 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.

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

Az Emelt keresztpalló tesztet egyes anyagok anxiogén vagy anxiolitikus hatásának kimutatására használják [112]. 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 (9.ábra). A Zárt kar oldalfala 40 cm magas, teteje nyitott volt. A megvilágítást egy 40 W-os piros égő szolgáltatta. Az apparátust minden egyes ülést követően kimostuk és megszáritottuk. Öt perccel a mikroinjekciót



követően a kísérleti állatot az apparátus közepére helyeztük, orral az egyik Zárt kar irányába. Ezt követően 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. Mértük továbbá az állatok által 5 perc alatt megtett út teljes hosszát. E paraméterrel, valamint az Összes belépések számával az állatok általános aktivitását jellemeztük.

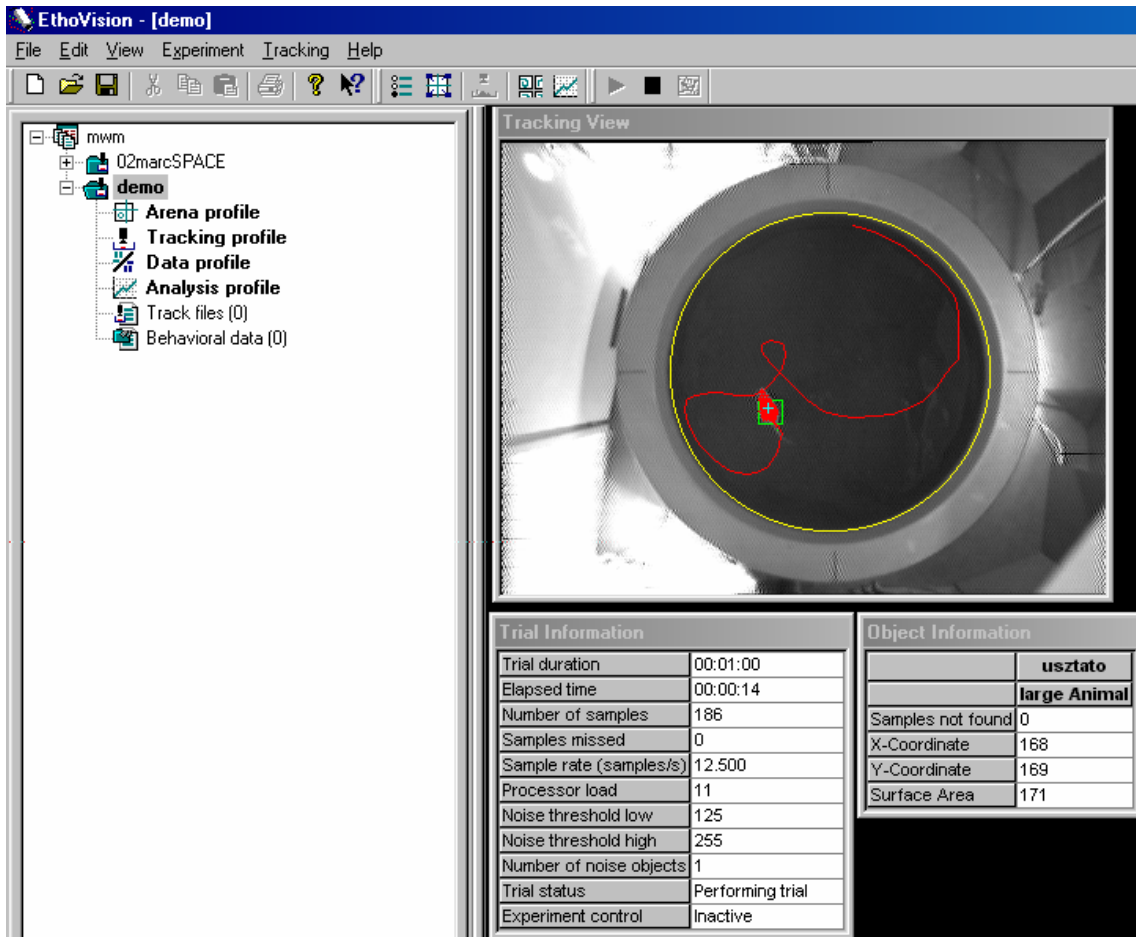


**9. ábra** A Noldus Ethovision rendszer által regisztrált emelt keresztállón megtett út.

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

Kísérleteinkhez egy 150 cm átmérőjű, 60 cm magas, kör alakú medencét használtunk, melyet vízzel töltöttünk meg. Lámpák elhelyezésével egyenlő megvilágítást biztosítottunk az egész apparátus területén. A vizet szintelen, szagtalan ételfestékkel

festettük meg, hogy az állatok ne láthassanak le a víz szintje alá. A medence körül jól látható, a tájékozódást segítő tárgyakat helyeztünk el (cue-k). A medencét virtuálisan 4 negyedre osztottuk. Az egyikben (célkvadráns) egy 10x10 cm alapterületű platformot helyeztünk el úgy, hogy annak felszíne a víz szintje alatt 1-2 cm-el helyezkedjen el, és ezáltal a patkányok azt ne láthassák. Kísérletünket egy nappal megelőzően az állatokat habituáltuk az úsztatási teszthez, ami abból állt, hogy 90 s-ig úsztak a platform nélküli apparátusban. Figyelemmel követtük a motoros aktivitásukat és a további kísérletből kizártuk azokat, amelyeknek “úszási nehézségeik adódtak”. 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) (10. ábra). 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.

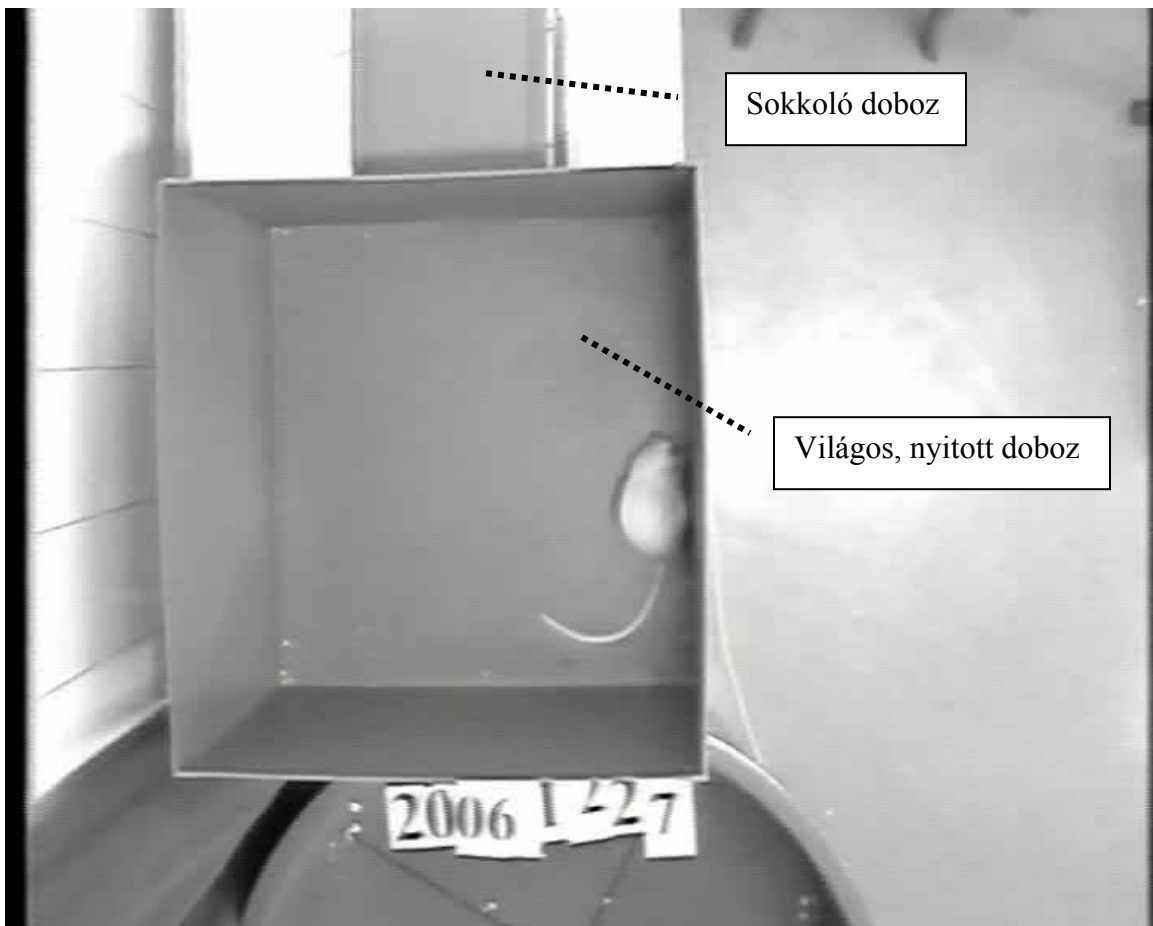


**10. ábra:** A Noldus EthoVision program által rögzített adatok Morris-féle úsztatási tesztben.

**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 (11.ábra). 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, Habitúáció, Kondicionálás és Teszt ülésekből állt. Az egyes ülések maximum 3 percig tartottak. A Habitúció (első nap) 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 Teszteket (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. A Teszt 1 és Teszt 2 során az állatok a sötét dobozba való belépést követően nem kaptak áramütést.



**11. ábra: Passzív elhárító teszt során készült felvétel.**

### ***Open field teszt:***

Öt perccel 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. A megvilágítást egy 40 W-os piros égő szolgáltatta.

### **Adatok kiértékelése:**

#### ***Szövettan:***

A kísérletek befejezését követően i.p. uretán (20%) oldattal az állatokat elaltattuk, és először fiziológias sóoldattal, majd ezt követően 10%-os formaldehid oldattal transzkardiálisan perfundáltuk. Az eltávolított és fixált agyakból mikrotommal 40 µm vastagságú metszeteket készítettünk, melyeket krezil ibolyával festettünk meg. Az értékelés fénymikroszkóppal történt, a Paxinos és Watson-féle sztereotaxikus atlasz segítségével rekonstruáltuk a kanülok valós helyét [217]. A statisztikai analízisből kizártuk azon állatokat, amelyek esetében a kanül nem a célterületen volt.

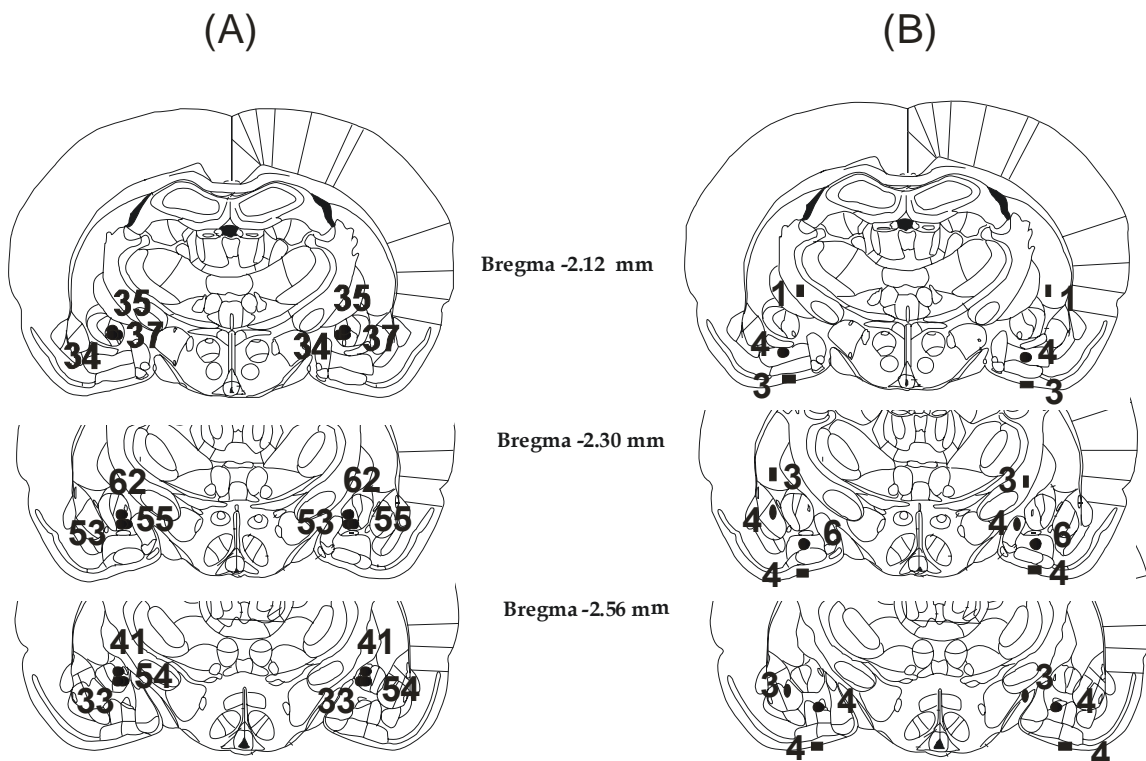
#### ***Statisztika:***

A mérési adatok statisztikai analízisét az 'SPSS 13.0 for Windows' programmal végeztük el. 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 minden esetben  $p < 0,05$ -nek tekintettük, a szignifikáns értékeket a grafikonokon csillaggal és kettős kereszttel jelöltük.

## **Eredmények:**

### **Szövetten kiértékelése:**

Az állatok agyának szövettani feldolgozása igazolta, hogy a kísérletekben résztvett 440 db Wistar patkány közül 404 esetben a bilaterális kanülok szimmetrikusan, a célterületnek, azaz a CeA-nak megfelelően helyezkedtek el, a fennmaradó 36 patkánynál a kanülok pozíciója a célterületen kívül esett. A 36 célterületen kívüli célzásból 11 esetben a kanülok az agyalapon a liquor térbe értek, további 14 esetben a kanülok vége 1 mm-rel a célterület alatt végződött a basomedialis AMY területén. Hét esetben aszimmetrikusan, a célterülettől medialisán illetve lateralisan végződtek, ami a lateralis/basolateralis AMY-nak illetve a medialis AMY-nak megfelelő. Végül 4 esetben a kanülok vége 1 mm-rel a célterület felett és attól lateralisan illetve medialisán helyezkedett el a caudatum-putamen illetve a capsula interna területén. A statisztikai analízisből kizártuk azokat az állatokat, amelyek esetében a kanül nem a célterületen volt. Azon állatok viselkedésében, amelyeknél “hibás” mikroinjektálás történt nem tapasztaltunk jellegzetes változást. Külön statisztikai kiértékeléshez azonban az egyes kísérleteket illetően, alacsony azon patkányok száma, amelyeknél a kanül pozíciója a célterületen kívül helyezkedett el.

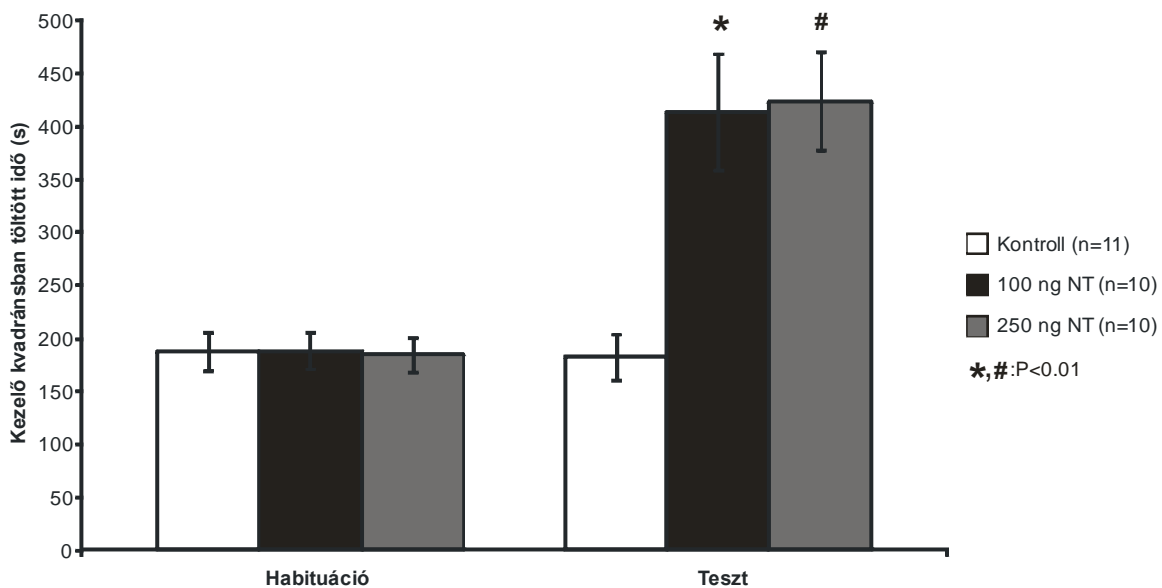


**12. ábra:** Mikroinjekciók helyeinek sematikus ábrázolása. A diagram közepén látható számok a bregmától mért anterior-posterior távolságot mutatják mm-ben a Paxinos és Watson atlasznak megfelelően. **A** panel: a körök a célterületnek megfelelő bilaterális mikroinjekciók helyeit mutatják (n=404). **B** panel: az azonos szimbólumok a nem megfelelő pozícióban lévő bilaterális kanülök végének helyeit jelölik (n=36). A szimbólumok melletti számok az állatok számát jelölik, amelyek esetében a mikroinjekció a megjelölt helyekre történt.

### Helypreferencia teszt:

A helypreferencia teszt kémiai anyagok jutalmazó-megerősítő hatásának vizsgálatára szolgál. A 100 ng NT és 250 ng NT kezelés helypreferenciára gyakorolt hatását a 13. ábrán mutatjuk be. A két-szemponos ANOVA analízis alapján szignifikáns különbséget találtunk a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,31)=33,922$   $p<0,001$ ], a különféle kezelésekben részesült csoportok között [ $F(2,22)=9,148$   $p<0,01$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakcióban [ $F(2,62)=9,272$   $p<0,01$ ]. A Habitáció során nem volt

különbség az egyes csoportok között, ami a kezelő kvadránsban töltött időt illeti. A két-szemponos ANOVA analízis eredménye azt mutatta, hogy nem alakult ki előzetes preferencia. A habituációhoz képest a Teszt során mind a 100 ng NT-t ( $q=7,496$ ,  $p<0,001$ ), mind a 250 ng NT-t ( $q=7,969$ ,  $p<0,001$ ) kapott állatok szignifikánsan több időt töltöttek a kezelő kvadráns területén. Ez a kontroll állatokról nem mondható el ( $q=0,1422$ ,  $p>0,05$  N.S.). Teszt során, a 100 ng NT ( $q=7,678$ ,  $p<0,001$ ) és 250 ng NT ( $q=8,026$ ,  $p<0,001$ ) kezelésben részesült állatok szignifikánsan több ideig tartózkodtak a kezelő kvadráns területén, mint a Kontroll csoport tagjai.

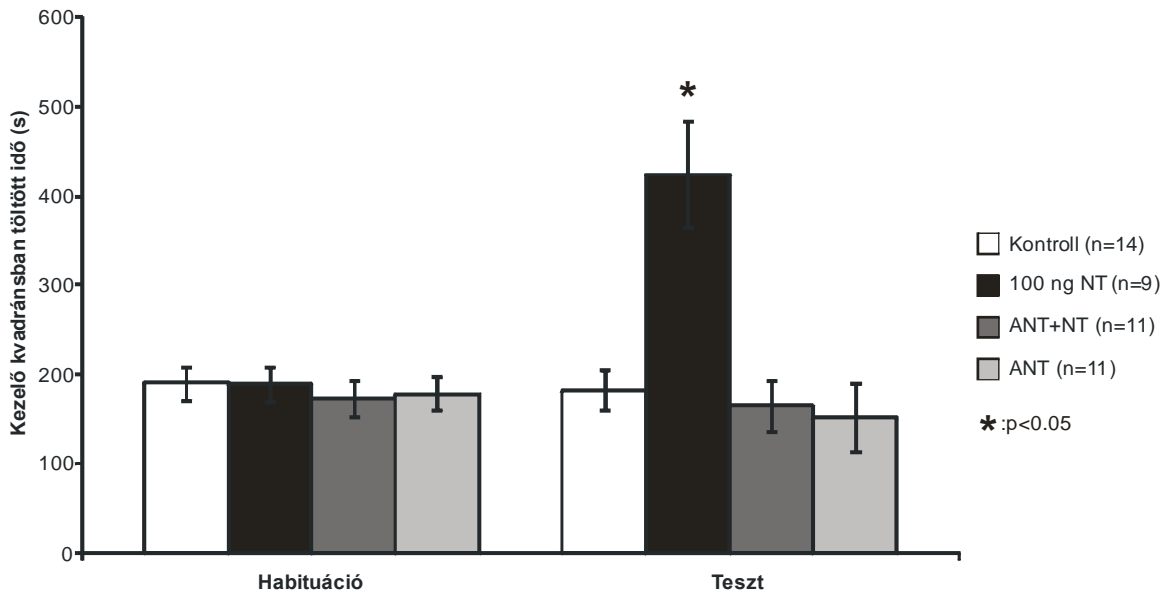


13. ábra: A CeA-ba mikroinjektált NT pozitív megerősítő hatásának vizsgálata helypreferencia tesztben. Az oszlopok a kezelő kvadránsban töltött idő átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják habituáció és teszt során. A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint:  $p<0,01$ .

A következő kísérletben az NTS1 antagonistá hatását vizsgáltuk helypreferencia tesztben (14. ábra). A két-szemponos ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,45)=5,322$ ,  $p<0,05$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,45)=9,104$ ,  $p<0,001$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,90)=7,891$ ,  $p<0,01$ ]. Nem találtunk eltérést a Habitáció során a kezelő kvadránsban töltött időkben. A Habitációhoz képest a Teszt



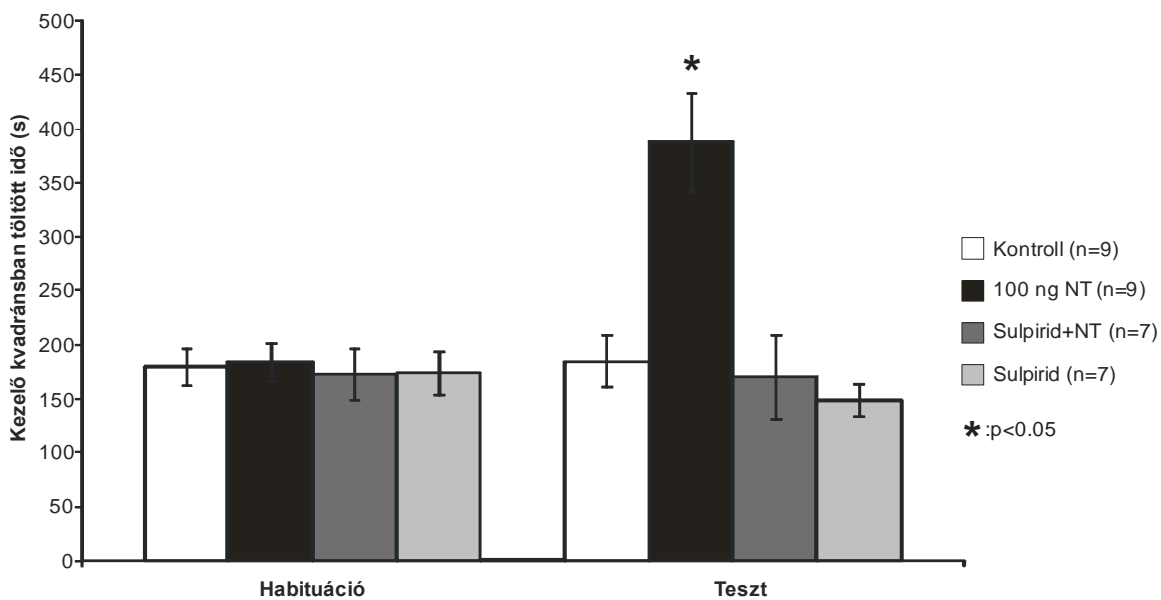
során a 100 ng NT-t ( $q=7,242$ ,  $p<0,001$ ) kapott állatok szignifikánsan több időt töltöttek a kezelő kvadráns területén. Az NT pozitív megerősítő hatását az antagonistá előkezelés kivédte: [ANT+NT: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,2876$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Helypreferencia a Kontroll és az NTS1 antagonistá kezelt állatoknál sem alakult ki [Kontroll: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,2971$ ,  $p>0,05$  N.S.)] és [ANT: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,9235$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Teszt során a 100 ng NT kezelésben részesült állatok szignifikánsan több időt töltöttek a kezelő kvadránsban mint bármelyik más kezelésben részesült állatcsoport: [Teszt: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=8,227$ ,  $p<0,001$ )], [Teszt: 100 ng NT vs. ANT+NT ( $q=8,393$ ,  $p<0,001$ )], [Teszt: 100 ng NT vs. ANT ( $q=8,818$ ,  $p<0,001$ )].



14. ábra: Az NTS1 antagonistá hatása helypreferencia tesztben. Az oszlopok a kezelő kvadránsban töltött idő átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják habituáció és teszt során. A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint:  $p<0,05$ .

Feltevéseink szerint az NT pozitív megerősítő hatását a dopaminerg rendszer modulálása révén fejtí ki. A következő kísérletben a DA D2 antagonistá -Sulpirid- hatását vizsgáltuk helypreferencia tesztben (15. ábra). A két-szemponos ANOVA szignifikáns különbséget

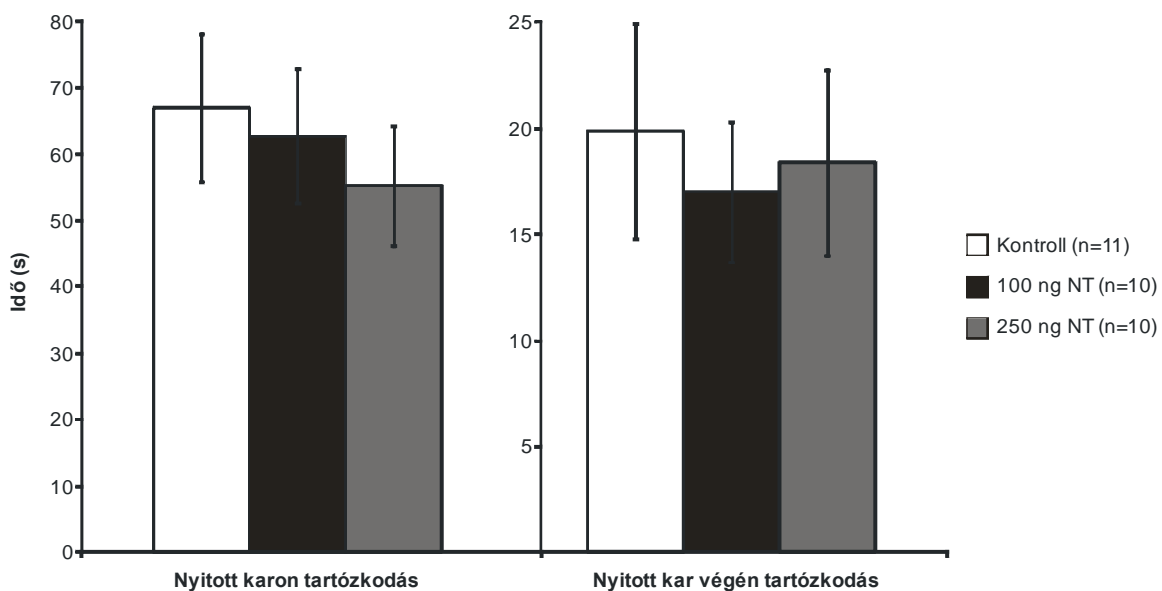
mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,32)=5,091$ ,  $p<0,05$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,18)=9,098$   $p<0,001$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,64)=7,719$ ,  $p<0,001$ ]. Nem találtunk eltérést a Habitáció során a kezelő kvadránsban töltött időben. A Habitációhoz képest a Teszt során a 100 ng NT-t ( $q=7,719$ ,  $p<0,001$ ) kapott állatok szignifikánsan több időt töltöttek a kezelő kvadráns területén. Az NT pozitív megerősítő hatását a DA D2 antagonisták előkezelés kivédte: [Sulpirid+NT: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,105$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Helypreferencia a Kontroll és a Sulpirid kezelt állatoknál sem alakult ki [Kontroll: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,1811$ ,  $p>0,05$  N.S.)] és [Sulpirid: Habitáció vs. Teszt ( $q=0,8452$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Teszt során a 100 ng NT kezelésben részesült állatok szignifikánsan több időt töltöttek a kezelő kvadránsban mint bármelyik más kezelésben részesült állatcsoport: [Teszt: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=7,706$ ,  $p<0,001$ )], [Teszt: 100 ng NT vs. Sulpirid+NT ( $q=7,745$ ,  $p<0,001$ )], [Teszt: 100 ng NT vs. Sulpirid ( $q=8,495$ ,  $p<0,001$ )].



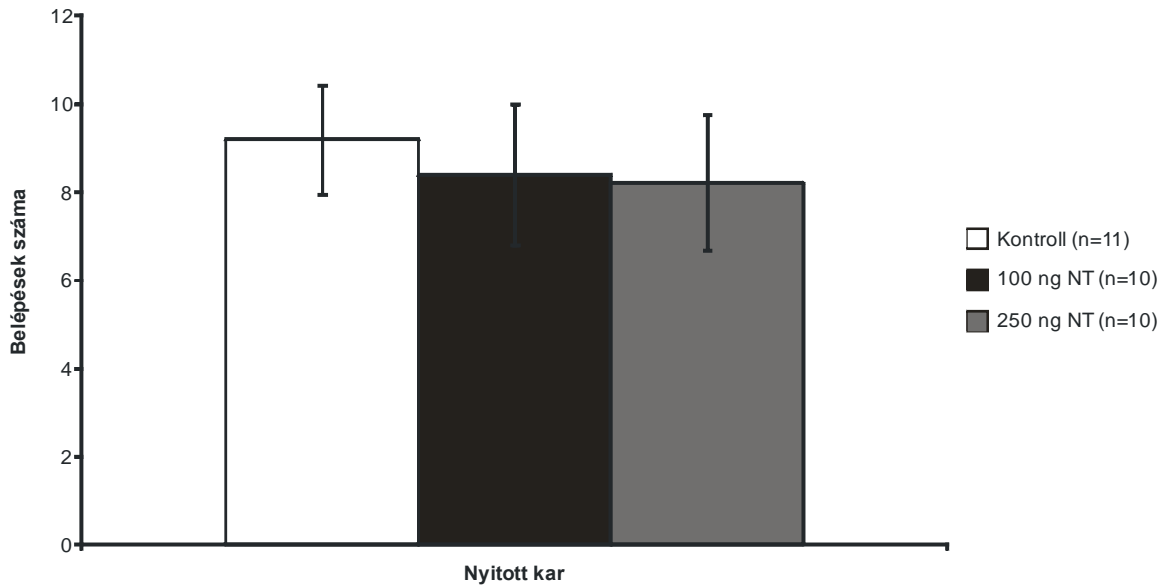
15. ábra: A DA D2 antagonisták hatása NT által indukált helypreferenciára. Az oszlopok a kezelő kvadránsban töltött idő átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják habituáció és teszt során. A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint:  $p<0,05$ .

## Emelt keresztpalló teszt (Elevated plus-maze):

Az emelt keresztpalló teszt kémiai anyagok anxiolitikus-anxiogén hatásának vizsgálatára szolgál. Eredményeinket a 16. és a 17. ábrán ábrázoltuk. Az egy-szemponos ANOVA analízis nem mutatott szignifikáns különbséget a nyitott karon- [F(2,28)=0,338, p=0,716], illetve a nyitott kar végén töltött idők között [F(2,28)=0,107, p=0,899]. Nem találtunk továbbá szignifikáns különbséget a nyitott karra történő belépések számában sem [F(2,28)=0,747, p=0,655].



16. ábra: A CeA-ba mikroinjektált NT hatásának vizsgálata emelt keresztpalló tesztben. Az oszlopok a nyitott karon és a nyitott kar végén töltött idő átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják. A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

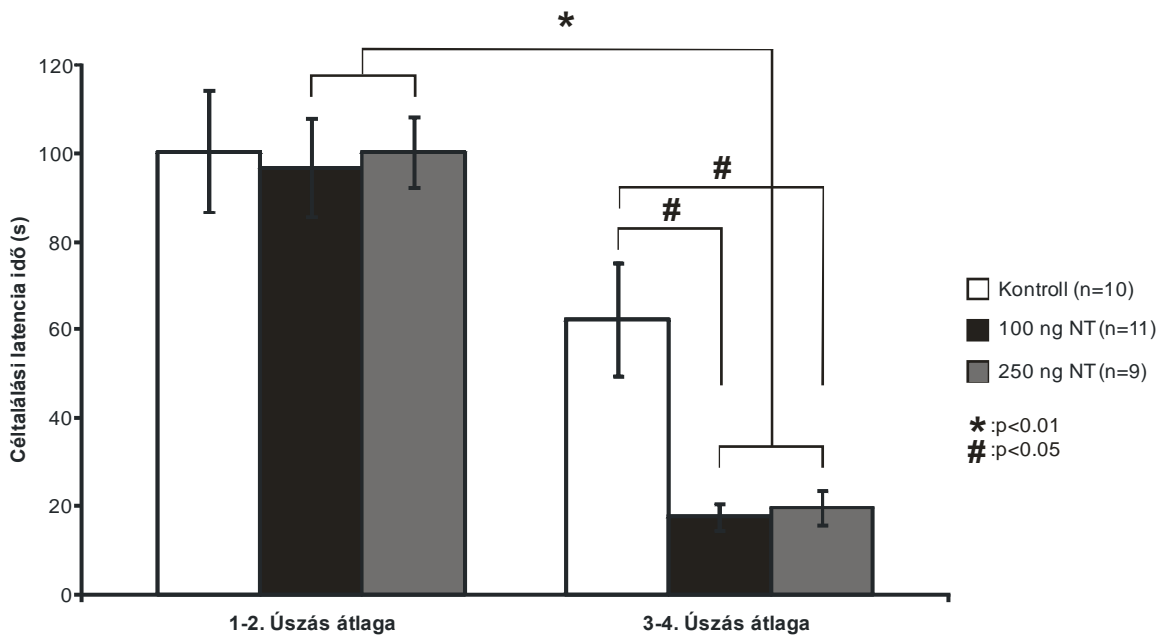


17. ábra: A CeA-ba mikroinjektált NT hatásának vizsgálata emelt keresztpalló tesztben. Az oszlopok a nyitott karra történő belépések számát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják. A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

### **Morris-féle úsztatási teszt (Morris water maze):**

A Morris-féle úsztatási teszt kémiai anyagok helytanulásra gyakorolt hatásának vizsgálatára szolgál. A 100 ng NT és 250 ng NT kezelés hatását a 18. ábrán mutatjuk be. A két-szemponos ANOVA analízis alapján szignifikáns különbséget találtunk a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,30)=66,55$   $p<0,001$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(2,22)=3,652$   $p<0,05$ ] és a különféle kezelések és a kísérlet egyes ülései közötti interakcióban [ $F(2,60)=4,07$   $p<0,05$ ]. Post hoc analízis fényében világossá vált, hogy a 100 ng NT-nel kezelt állatok a második nap során szignifikánsan hamarabb rátaláltak a platformra, mint azt az első nap tették tették [100 ng NT: 1-2. úszás vs. 3-4. úszás ( $q=8,404$ ,  $p<0,01$ )]. Ugyanez igaz a 250 ng NT kezelésben részesült állatokra is [250 ng NT: 1-2. úszás vs. 3-4. úszás ( $q=7,765$ ,  $p<0,01$ )]. Ha a 3-4. úszások átlagát hasonlítjuk össze, akkor a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan hamarabb találnak rá a platformra a 100 ng NT [3-4. úszás: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=4,463$ ,  $p<0,05$ )] és a 250

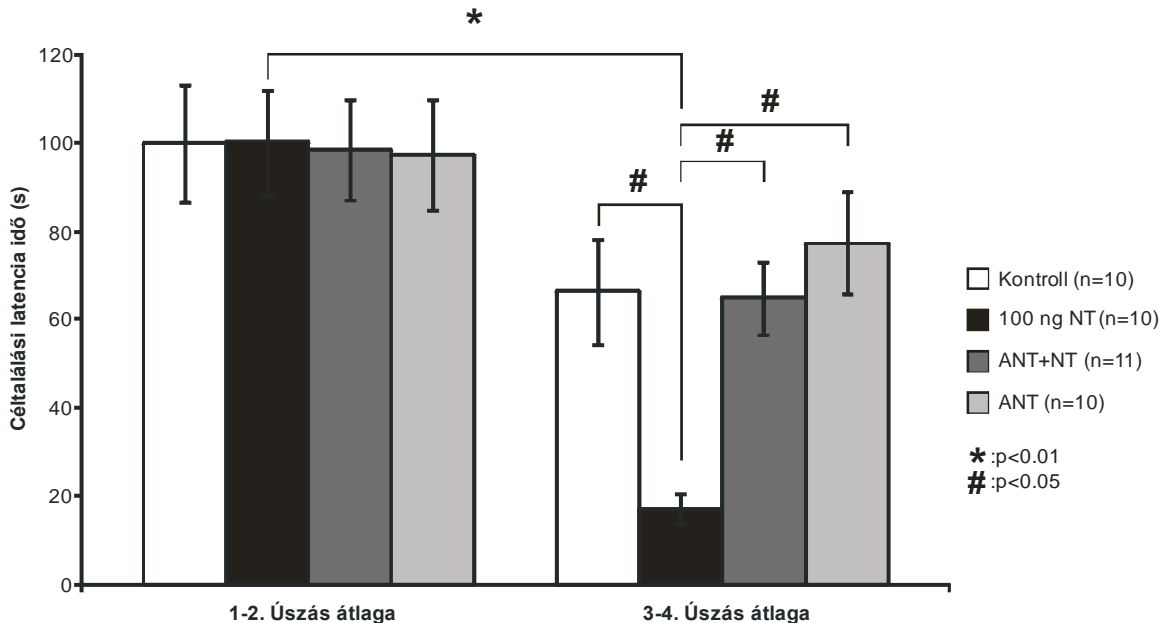
ng NT [3-4. úszás: 250 ng NT vs. Kontroll ( $q=4,226$ ,  $p<0,05$ )] kezelésben részesült patkányok.



18. ábra: A CeA-ba mikroinjektált NT helytanulásra gyakorolt hatásának vizsgálata Morris-féle úszatási tesztben. Az oszlopok az 1-2. és 3-4. úszás céltalálási latenciájának átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják. A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* : $p<0,01$  és #: $p<0,05$ .

A következő kísérletben az NTS1 antagonistá hatását vizsgáltuk Morris-féle úszatási tesztben (19. ábra). A két-szemponos ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,41)=30,73$ ,  $p<0,01$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,22)=2,776$ ,  $p<0,05$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,82)=3,195$ ,  $p<0,05$ ]. Post hoc teszt elvégzése után kiderült, hogy a 100 ng NT kezelésben részesült állatok a 3-4. úszás során szignifikánsan hamarabb rátaláltak a platformra, mint az 1-2. úszás során [100 ng NT: 1-2. úszás vs. 3-4. úszás ( $q=7,558$ ,  $p<0,05$ )]. A 3-4. úszások átlagait összehasonlítva, azt kaptuk, hogy a 100 ng NT kezelt csoport tagjai szignifikánsan hamarabb megtalálták a platformot, mint a Kontroll és az ANT csoport tagjai [3-4. úszás: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=4,48$ ,  $p<0,05$ )] és [3-4. úszás: 100 ng NT vs. ANT ( $q=5,481$ ,  $p<0,05$ )]. Az

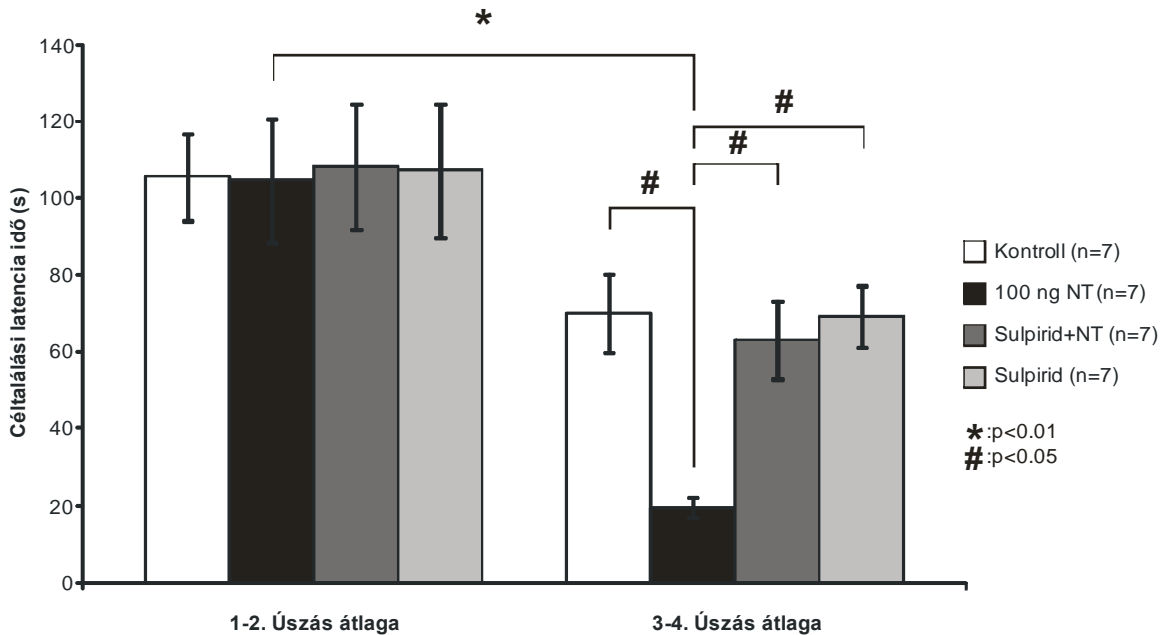
NTS1 antagonist előkezelés kivédte az NT helytanulást fokozó hatását, mert az ANT+NT csoport tagjainak szignifikánsan hosszabb volt a céltalálási latenciája, mint a 100 ng NT kezelt csoportnak [3-4. úszás: 100 ng NT vs. ANT+NT ( $q=4,438$ ,  $p<0,05$ )].



19. ábra: Az NTS1 antagonist hatása Morris-féle úsztatási tesztben. Az oszlopok az 1-2. és 3-4. úszás céltalálási latenciájának átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják. A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* : $p<0,01$  és #: $p<0,05$ .

Feltevéseink szerint az NT helytanulást fokozó hatását a dopaminerg rendszer modulálása révén fejt ki. A kísérletet új állatcsoportokon oly módon ismételtük meg, hogy az NT és a DA D2 antagonist –Sulpirid- helytanulásra kifejtett hatását tanulmányoztuk (20. ábra). A két-szemponos ANOVA analízis szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=33,839$ ,  $p<0,001$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=2,078$   $p<0,05$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,56)=1,756$ ,  $p<0,05$ ]. A post hoc teszt igazolta, hogy a 100 ng NT kezelésben részesült állatok a 3-4. úszás során szignifikánsan hamarabb rátaláltak a platformra, mint az 1-2. úszás során [100 ng NT: 1-2. úszás vs. 3-4. úszás ( $q=6,881$ ,  $p<0,001$ )]. A DA D2 antagonist Sulpirid előkezelés

kivédte az NT helytanulást fokozó hatását, mert a Sulpirid+NT csoport tagjainak céltalálási latenciája nem csökkent szignifikánsan a második napra [Sulpirid+NT: 1-2. úszás vs. 3-4. úszás ( $q=3,637$ ,  $p>0,05$ )].

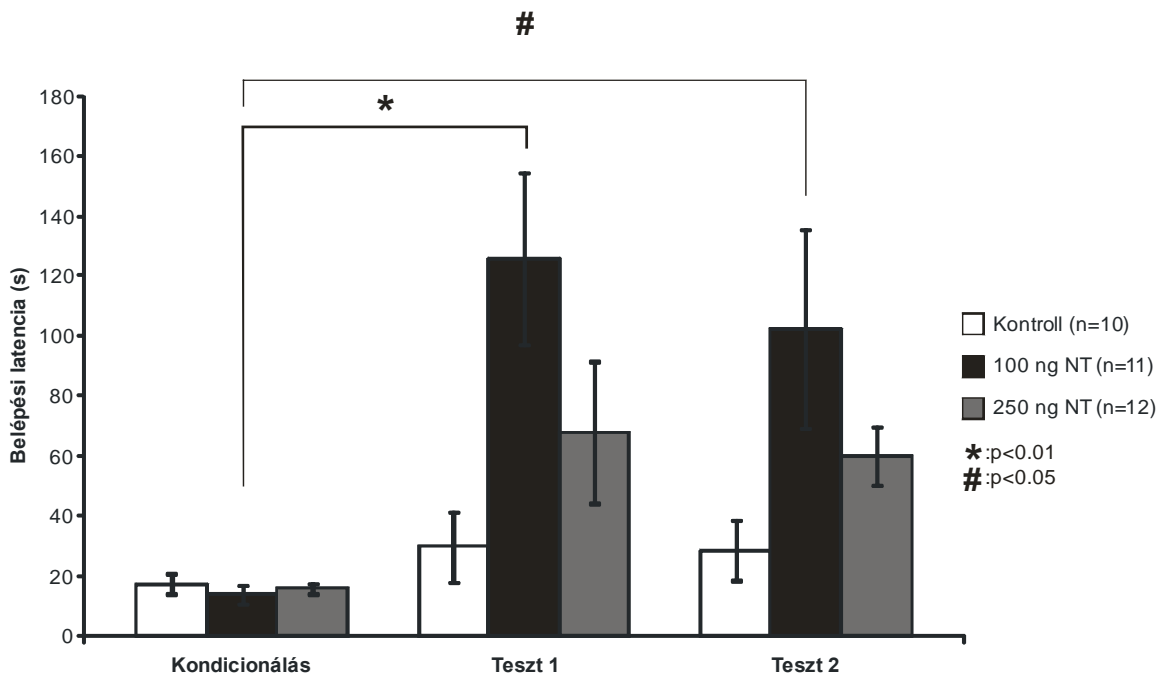


20. ábra: A DA D2 antagonistá Sulpirid hatása Morris-féle úsztatási tesztben. Az oszlopok az 1-2. és 3-4. úszás céltalálási latenciájának átlagát ( $\pm$  S.E.M) reprezentálják. A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* : $p<0,01$  és # : $p<0,05$ .

### Passzív elhárító teszt:

Passzív elhárító szituációban vizsgáltuk az NT memóriára kifejtett hatását. A 21. ábra a belépési latenciát mutatja Kondicionálás, Teszt1 (24 órával a kondicionálás után) és Teszt2 (1 héttel a kondicionálás után) során. ANOVA analízis szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,33)=8,984$ ,  $p<0,01$ ] és a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(2,24)=6,917$ ,  $p<0,05$ ], ugyanakkor nem volt markáns különbség a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció tekintetében [ $F(2,66)=2,051$ ,  $p>0,05$ ]. Kondicionáláskor nem volt különbség az egyes csoportok között a belépési latencia időket illetően. A post hoc analízis azt mutatta, hogy

Teszt1 során, a kondicionáláshoz viszonyítva a 100 ng NT kapott állatok szignifikánsan később mentek be a sokkoló dobozba [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=6,22$ ,  $p<0,01$ )]. A Kontroll és a 250 ng NT kezelésben részesült állatok belépési latenciája Teszt1 során a kondicionálással összevetve nem mutatott szignifikáns különbséget [Kontroll: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=0,6555$ ,  $p>0,05$  N.S.)] és [250 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=3,006$ ,  $p>0,05$  N.S.)], de a tanulási tendencia jól látható. Teszt1 során a 100 ng NT-t kapott állatok Belépési latenciája szignifikánsan magasabb volt mint a Kontrolloké [Teszt1: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=5,21$ ,  $p<0,05$ )]. Ugyanitt a 250 ng NT kezelésben részesült patkányok és a Kontrollok között nem volt szignifikáns különbség [Teszt1: 250 ng NT vs. Kontroll ( $q=2,101$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Teszt2 során, egy héttel a kondicionálás után, a 100 ng NT kezelésben részesült állatok belépési latenciája továbbra is szignifikáns különbséget mutatott [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=4,909$ ,  $p<0,05$ )]. A 250 ng NT kezelésben részesült állatok belépési latenciájának növekedése nem érte el a szignifikancia szintet [250 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=2,558$ ,  $p>0,05$  N.S.)]. Ugyanebben az összehasonlításban a kontroll állatok belépési latenciája sem változott szignifikánsan [Kontroll: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=0,5868$ ,  $p>0,05$  N.S.)].

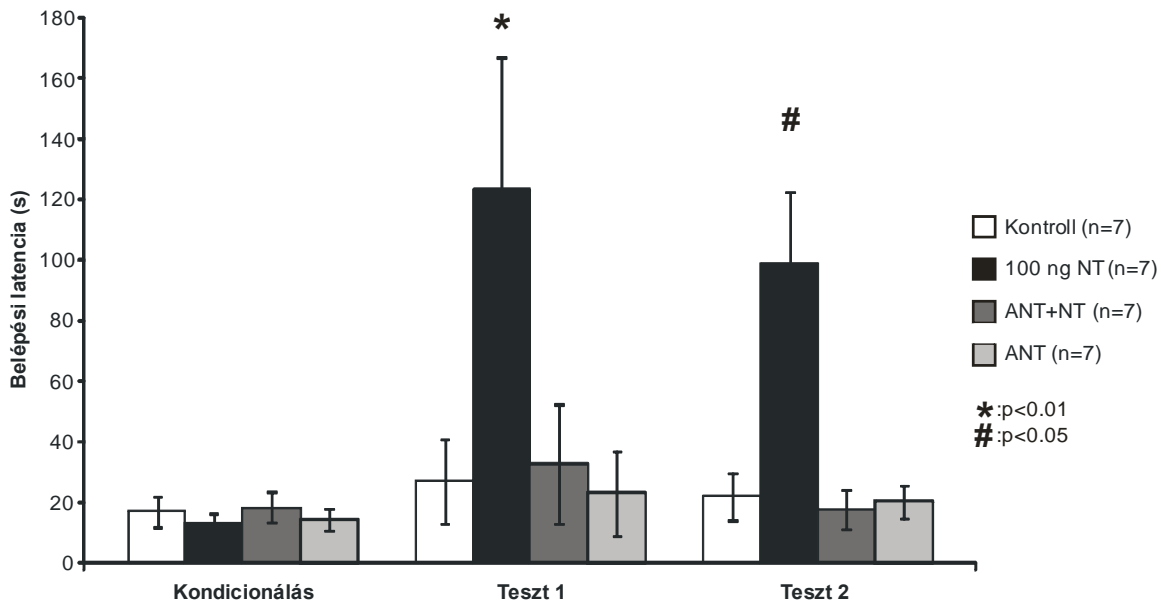


21. ábra: A CeA-ba mikroinjektált NT hatása Passzív elhárító tesztben. Az ábrán Kondicionálás, Teszt1 és Teszt2 során mért latenciát tüntettük fel ( $\pm$  S.E.M). A három



különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* : $p < 0,01$  és #:  $p < 0,05$ .

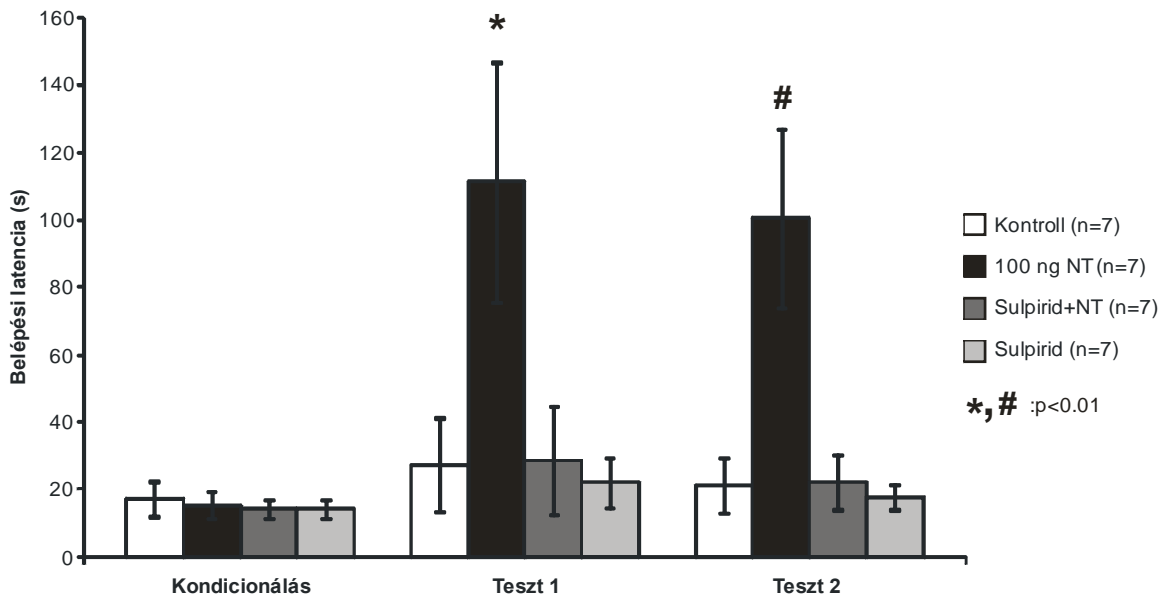
A következő kísérletben az NTS1 antagonistá hatását vizsgáltuk Passzív elhárító tesztben (22. ábra) Az ANOVA analízis szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=4,705$ ,  $p < 0,01$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=8,676$ ,  $p < 0,01$ ] és a különféle kezelése és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,56)=2,525$ ,  $p < 0,05$ ]. Kondicionáláskor nem volt különbség a csoportok között. A 100 ng NT kezelésben részesült állatok belépési latenciája szignifikánsan hosszabb volt Teszt1 és Teszt2 során is a habituációhoz viszonyítva [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=6,562$ ,  $p < 0,01$ )] és [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=5,102$ ,  $p < 0,05$ )]. Az NTS1 antagonistá előkezelés kivédte az NT hatását, mivel az ANT+NT kezelésben részesült csoport belépési latenciája nem változott mérvadóan [ANT+NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=0,832$ ,  $p > 0,05$ )] és [ANT+NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=0,05094$ ,  $p > 0,05$ )]. Továbbá Teszt1 során a 100 ng NT kezelésben részesült állatok szignifikánsan jobban teljesítettek, mint a három másik csoport tagjai: [Teszt1: 100 ng NT vs. Kontroll ( $q=5,73$ ,  $p < 0,01$ )], [Teszt1: 100 ng NT vs. ANT+NT ( $q=5,408$ ,  $p < 0,05$ )] és [Teszt1: 100 ng NT vs. ANT ( $q=5,968$ ,  $p < 0,01$ )]. Az NTS1 antagonistá NT hatásának kivédését tovább erősítette, hogy ezen két csoport Teszt2 során is szignifikánsan különbözött egymástól [Teszt2: 100 ng NT vs. ANT+NT ( $q=4,831$ ,  $p < 0,05$ )].



22. ábra: Az NTS1 antagonistá hatása Passzív elhárító tesztben. A Kondicionálás, Teszt1 és Teszt2 során mért latenciát tüntettük fel ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* : $p < 0,01$  és # : $p < 0,05$ .

Passzív elhárító tesztben is megvizsgáltuk az NT-DA interakció hatását. A következő kísérletben az NT és a DA D2 antagonistá Sulpirid memóriára kifejtett hatását vizsgáltuk (23. ábra) Az ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=5,011$ ,  $p < 0,001$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=10,181$   $p < 0,001$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(3,56)=2,534$ ,  $p < 0,05$ ]. Kondicionáláskor nem volt különbség a csoportok között. A 100 ng NT kezelésben részesült állatok belépési latenciája szignifikánsan hosszabb volt Teszt1 és Teszt2 során is a habituációhoz viszonyítva [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=6,38$ ,  $p < 0,01$ )] és [100 ng NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=5,658$ ,  $p < 0,01$ )]. A Sulpirid előkezelés kivédte az NT hatását, hisz a Sulpirid+NT kezelésben részesült csoport csak tendenciát mutatott a tanulásra, azaz nem nőtt szignifikánsan a latencia idő [Sulpirid+NT: Kondicionálás vs. Teszt1 ( $q=0,9509$ ,  $p > 0,05$ )] és [Sulpirid+ NT: Kondicionálás vs. Teszt2 ( $q=0,523$ ,  $p > 0,05$ )]. Továbbá Teszt1 és Teszt2 során a 100 ng NT kezelésben részesült állatok

szignifikánsan jobban teljesítettek, mint a három másik csoport tagjai: [Teszt1: 100 ng NT vs. Kontroll (q=5,591, p<0,01)], [Teszt1: 100 ng NT vs. Sulpirid+NT (q=5,515, p<0,05)], [Teszt1: 100 ng NT vs. Sulpirid (q=5,943, p<0,01)], [Teszt2: 100 ng NT vs. Kontroll (q=5,268, p<0,05)], [Teszt2: 100 ng NT vs. Sulpirid+NT (q=5,22, p<0,05)] és [Teszt2: 100 ng NT vs. Sulpirid (q=5,515, p<0,05)].

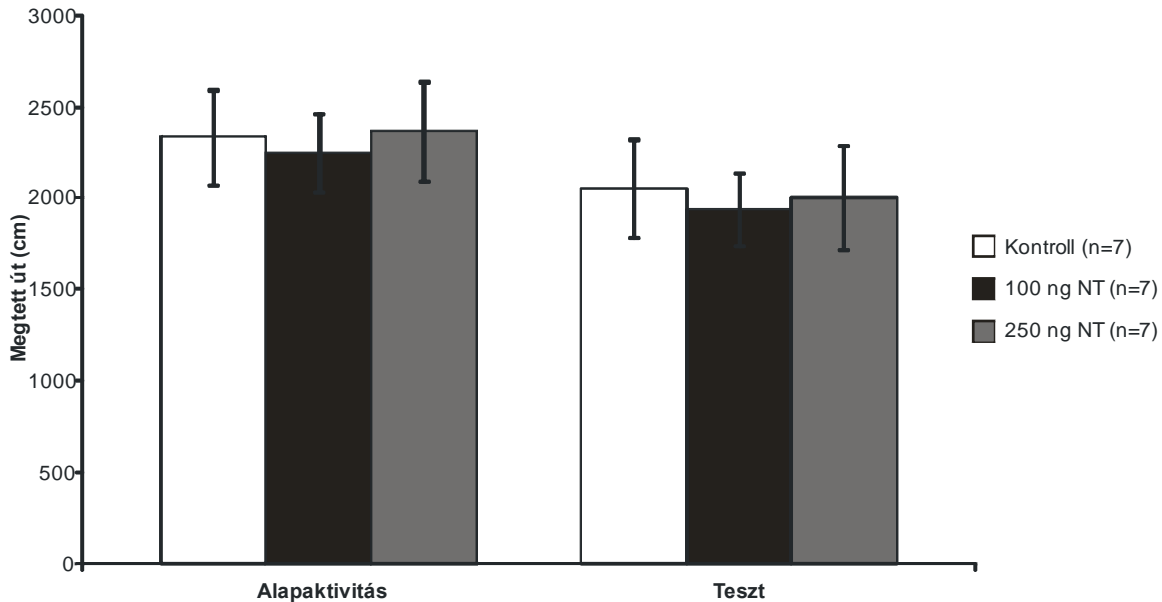


23. ábra: A DA D2 antagonistá Sulpirid hatása Passzív elhárító tesztben. A Kondicionálás, Teszt1 és Teszt2 során mért latenciát tüntettük fel ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók. Szignifikancia szint: \* :p<0,01 és #:p<0,05.

## Open field teszt

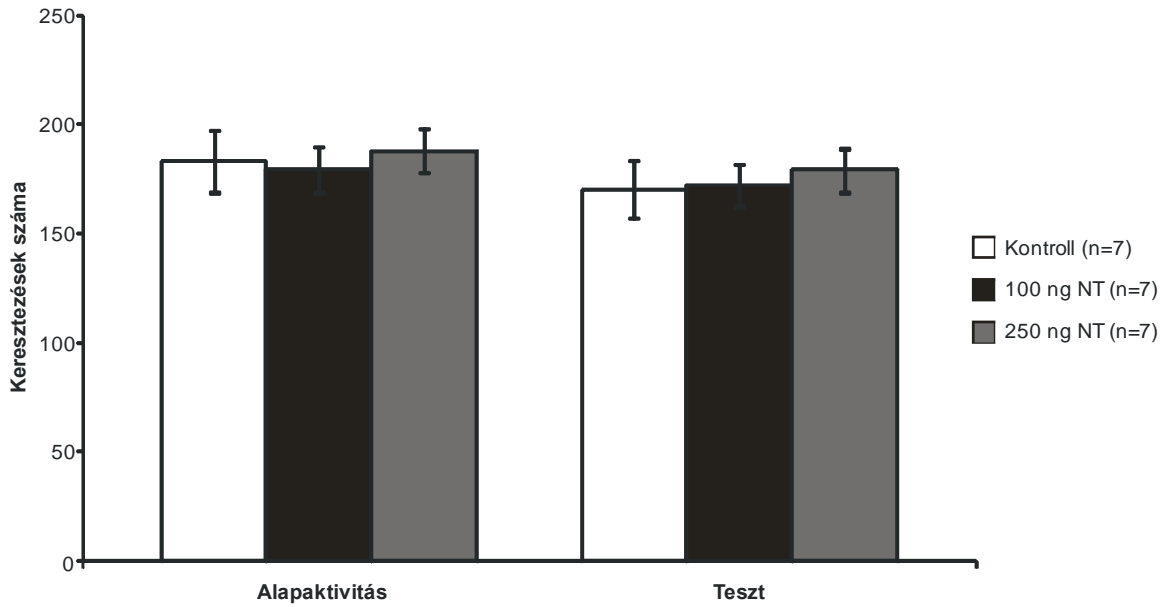
Open field tesztben az NT spontán motoros aktivitásra kifejtett hatását vizsgáltuk. Öt perccel a vehiculum, 100 ng vagy 250 ng NT bilaterális CeA injekcióját követően 5 percen keresztül mértük a patkányok által megtett utat és a keresztezések számát (24-25. ábra). Az eltérő kezelésben részesült állatcsoportok teszt során kapott adatait összehasonlítottuk az egy nappal a mikroinjekciókat megelőzően végzett mérés során felvett megtett út hosszával és a keresztezések számával, azaz az Alapaktivitással. Az eredmények statisztikai értékelése során semmilyen összefüggésben nem találtunk eltérést az állatcsoportok között. A két-szemponos ANOVA vizsgálat tehát nem mutatott

szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,21)=3,317$ ,  $p=0,137$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(2,14)=0,092$ ,  $p=0,912$ ] és a különféle kezelések és a kísérlet egyes ülései közötti interakció tekintetében sem [ $F(2,42)=0,013$ ,  $p=0,987$ ]. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a korábbi kísérleteinkben hatékonyan bizonyult dózistartományban az NT az állatok általános aktivitására nem volt hatással.



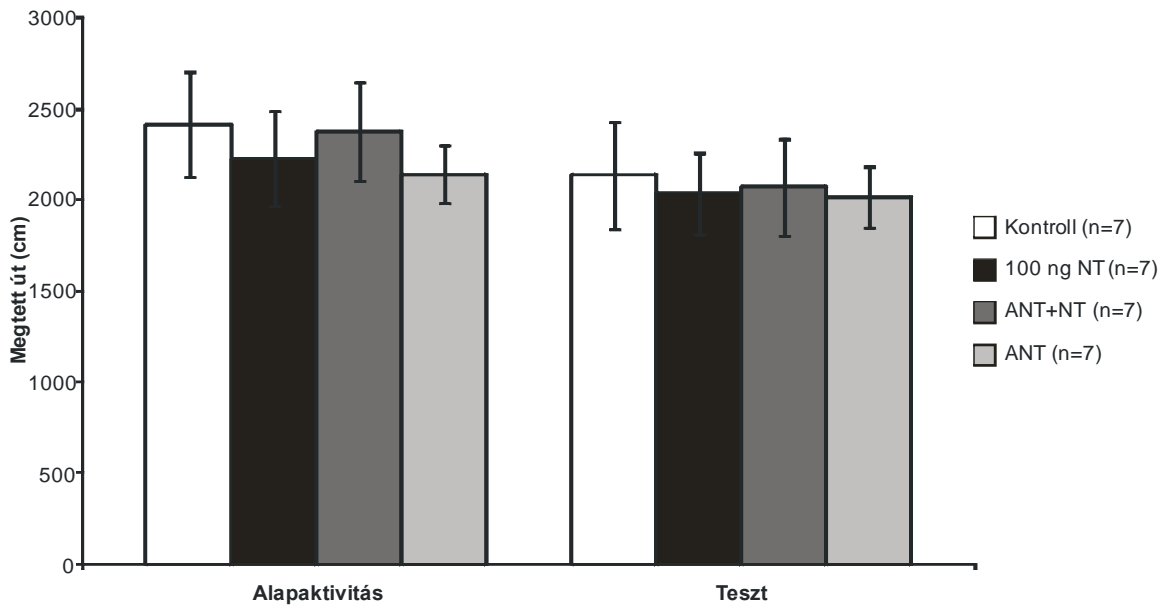
24. ábra A CeA-ba mikroinjektált NT hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a megtett utat mutatják ( $\pm$  S.E.M). A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

A keresztezések számának ANOVA vizsgálata sem mutatott szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,21)=1,088$ ,  $p=0,304$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(2,14)=0,268$ ,  $p=0,767$ ] és a kezelés x ülés interakció sem volt szignifikáns [ $F(2,42)=0,033$ ,  $p=0,968$ ]. Ezen adatok tovább erősítik a fent említett következtetést, azaz: a korábbi kísérleteinkben hatékonyan bizonyult dózistartományban az NT az állatok általános aktivitására nem volt hatással.



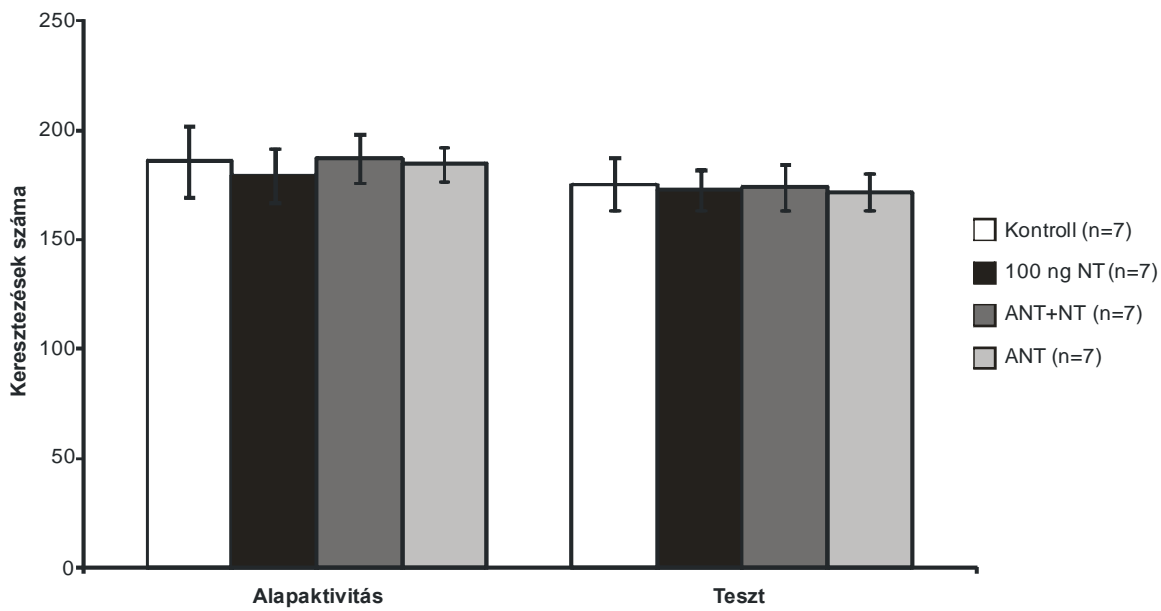
25. ábra A CeA-ba mikroinjektált NT hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a keresztezések számát reprezentálják ( $\pm$  S.E.M). A három különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

A következő kísérletben az NTS1 antagonistá hatását vizsgáltuk Open field tesztben (26-27. ábra). Az eredmények statisztikai értékelése során semmilyen összefüggésben nem találtunk eltérést az állatcsoportok között. A két-szemponos ANOVA vizsgálat tehát nem mutatott szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=1,665$ ,  $p=0,203$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=0,258$ ,  $p=0,855$ ] és a különféle kezeléseket és a kísérlet egyes ülései közötti interakció tekintetében sem [ $F(3,56)=0,053$ ,  $p=0,984$ ]. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a CeA-ba mikroinjektált NTS1 antagonistá az általunk használt dózisban nem befolyásolja az állatok általános aktivitását.



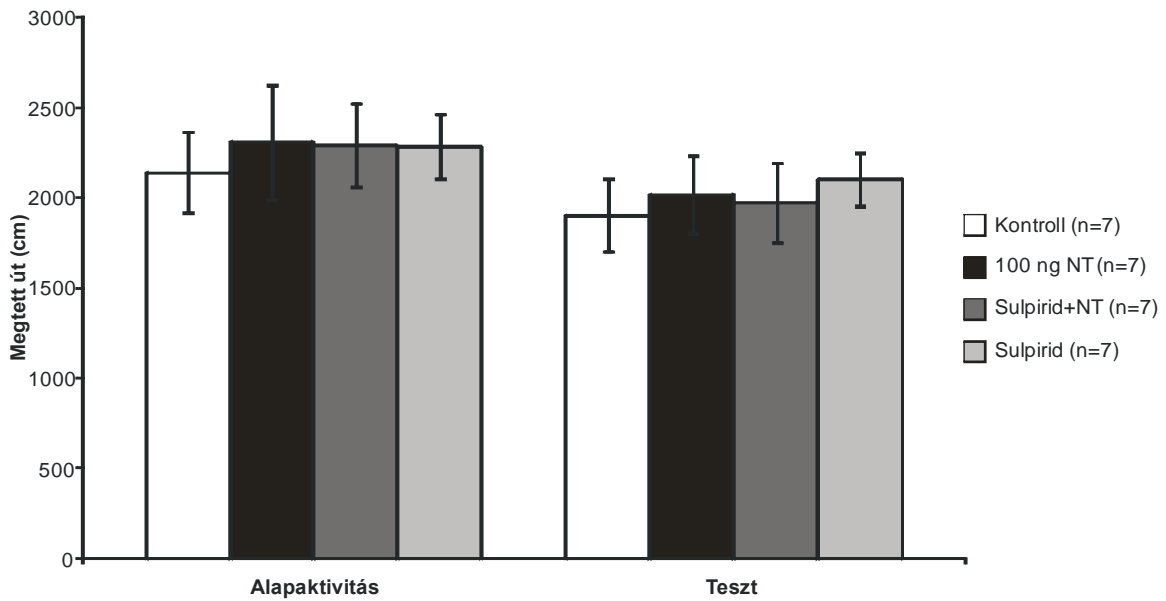
26. ábra A CeA-ba mikroinjektált NTS1 antagonistá hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a megtett utat mutatják ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

A keresztezések számának ANOVA vizsgálata sem mutatott szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=1,837$ ,  $p=0,182$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=0,067$ ,  $p=0,977$ ] és a kezelés x ülés interakció sem volt szignifikáns [ $F(3,56)=0,035$ ,  $p=0,991$ ].



27. ábra A CeA-ba mikroinjektált NTS1 antagonistá hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a keresztezések számát reprezentálják ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

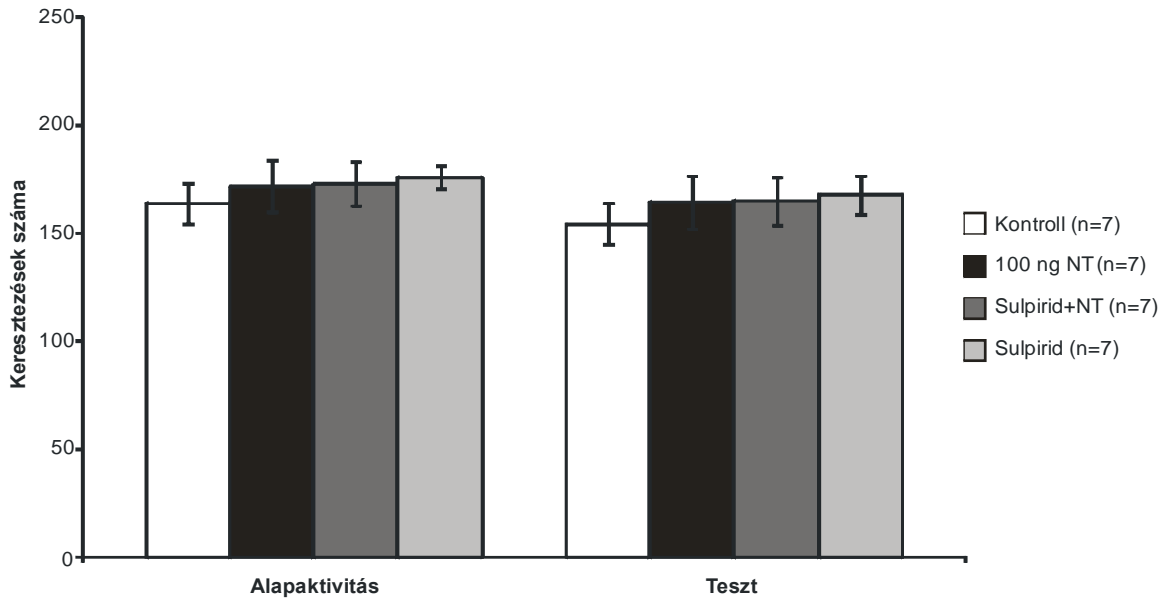
A kísérletet új állatcsoportokon oly módon ismételtük meg, hogy az NT és a DA D2 antagonistá –sulpirid- open field aktivitásra kifejtett hatását tanulmányoztuk (28-29. ábra). Az eredmények statisztikai értékelése során semmilyen összefüggésben nem találtunk eltérést az állatcsoportok között. A két-szemponos ANOVA vizsgálat tehát nem mutatott szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=2,710$ ,  $p=0,106$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=0,227$ ,  $p=0,877$ ] és a különféle kezelések és a kísérlet egyes ülései közötti interakció tekintetében sem [ $F(3,56)=0,037$ ,  $p=0,990$ ]. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a CeA-ba mikroinjektált DA D2 antagonistá Sulpirid az általunk használt dózisban nem befolyásolja az állatok általános aktivitását.



28. ábra A CeA-ba mikroinjektált DA D2 antagonistá Sulpirid hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a megtett utat mutatják ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

A keresztezések számának ANOVA vizsgálata sem mutatott szignifikáns különbséget a kísérlet egyes ülései között [ $F(1,28)=1,317$ ,  $p=0,257$ ], a különféle kezelésben részesült csoportok között [ $F(3,14)=0,590$ ,  $p=0,624$ ] és a kezelés x ülés interakció sem volt szignifikáns [ $F(3,56)=0,003$ ,  $p=1,000$ ].





29. ábra A CeA-ba mikroinjektált DA D2 antagonistá Sulpírid hatásának vizsgálata Open field tesztben. Az oszlopok a keresztezések számát reprezentálják ( $\pm$  S.E.M). A négy különféle kezelésben részesült csoport jelölése és az állatszámok jobb oldalt láthatók.

## Eredmények megbeszélése:

### Helypreferencia teszt:

A kondicionált helypreferencia teszt különféle anyagok jutalmazó, megerősítő hatásának vizsgálatára szolgál [280]. A kondicionálás előtt az állatok bilaterális mikroinjekcióban részesülnek és a kondicionálás ideje alatt az anyag hatását kapcsolják össze a kezelő kvadránssal. Ha egy anyag kellemes érzetet vált ki, akkor ezt az állatok a kezelő kvadránssal kötik össze és így később a teszt alkalmával, amikor szabadon mozoghatnak mind a négy kvadráns területén, azt a negyedet részesítik előnyben, ahol korábban az anyagot kapták, így alakul ki a helypreferencia. A helypreferencia tesztnek külön értéket kölcsönöz az, hogy a Teszt során az állatok már nem részesülnek anyagbeadásban, így nem az adott anyag hatása, hanem a kondicionálás során kialakult megerősítés gyakorolhatást a patkányok viselkedésére [90]. Ebben a térbeli tájékozódási folyamatban nyújtanak segítséget a külső vizuális jelek, melyek az egész kísérlet során konstans

pozícióban vannak. A kör alakú apparátus használatát Huston és munkacsoportja vezette be [103] és kiterjedten használják a megerősítés és drogaddikció vizsgálatára. Az apparátus megvilágítása homogén, így az állatokban nem alakul ki előzetes preferencia egyik negyeddel szemben sem, azaz a kezelés előtt egyik negyedben sem töltenek szignifikánsan több időt.

Kísérleti adataink azt igazolják, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT pozitív megerősítő hatású. Ezen eredmények összevethetők az irodalomban talált adatokkal: egyrészt ugyanis számos cikk hangsúlyozza a CeA fontos szerepét jutalmazásos tanulási folyamatokban és a megerősítési folyamatok szabályozásában [10,28,36,216,232,237,278,301,306], másrészt pedig ismert, hogy a ventrális tegmentális area területén és a ventralis mesencephalonban az NT pozitív megerősítő hatású kondicionált helypreferencia tesztben [90,238]. Az NT jutalmazó hatását bizonyítja az is, hogy a ventralis tegmentális areaba vezetett kanülön keresztül az állatok önmagunknak adagolták ezt a neuropeptidet [89], ugyanakkor a lateralis hypothalamusban ilyen hatást nem tapasztaltak [260]. Heidbreder és munkatársai kémiai öningerlést építettek ki NT-nel a nucleus accumbensben, ventralis tegmentális areában és a subiculumban, de a medialis előagyi kötegbe mikroinfundált NT-nel nem jött létre ez a hatás [105]. Az általunk használt NT dózisok (100 ng NT, 250 ng NT) ebben a tartományban nem befolyásolták a spontán motoros aktivitást és a patkányokra jellemző viselkedési formákat, mint az ágaskodás, mosakodás és „freezing”. Ugyanakkor az általunk használt NT dózisok nagyságrendileg megfelelnek mások által alkalmazott intracerebrális NT mikroinjekciók dózisának (200 ng NT, 500 ng NT) [258].

Az NT lebontását, mint más neuropeptidekét is, peptidázok végzik. A patkányagyban megtalálható peptidázok az NT-t az alábbi helyeken hasítják: Arg<sup>8</sup>-Arg<sup>9</sup>, Pro<sup>10</sup>-Tyr<sup>11</sup> és Pro<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup> [173]. Lee és munkatársai az NT lebontását vizsgálták. In vitro 37 °C –on inkubáltak friss humán plazmát és a felezési időt 226 percnak találták [150]. Ez élesen szemben áll az in vivo radioimmunassay technikával (az NT C-terminálisa ellen használt anti-serum-mal) mért 1,4 perces felezési idővel [150], illetve más elektrofiziológiai tanulmányokkal melyek azt vetik fel, hogy az NT több mint 7 percn keresztül modulálja a mesencephalonban található dopaminerg sejtek tüzelési frekvenciáját. A hatás szignifikánsan hosszabb és egyben variábilisabb is volt, ha az NT-t az NT 8-13

fragmentumával vetették össze. Az NT esetén az idegsejt aktivitást befolyásoló hatás átlagos ideje  $423 \pm 44$  s, míg az NT 8-13-s fragmentumé  $100 \pm 14$  s volt [197]. Saját elektrofiziológiai adataink is azt tanúsítják, hogy a CeA-ba juttatott NT több mint 6 percen keresztül modulálta az idegsejtek aktivitását. Jelen dolgozatban tárgyalt helypreferencia tesztben minden egyes ülés 15 percig tartott. Az állatok rögtön az anyagbeadás után kerültek a kezelő kvadránsba. Joggal feltételezhetjük tehát, hogy az NT megfelelő koncentrációban hatásos lehetett az NTS1-eken.

Irodalmi adatok szerint az NT legnagyobb affinitással az NTS1-hez kötődik [147,290]. Kísérleteinkben ezért NTS1 szelektív nem-peptid antagonistát, SR 48692-t használtunk, ezen antagonistá előnye a peptid-típusúakkal szemben az, hogy stabilabb és nincs parciális agonista hatása, mert teljesen más a szerkezete, mint a NT-nek. Gully és munkatársai írták le először, hogy az SR 48692 kompetitíven gátolja az NT kötődését [99]. Mindezt patkány agy homogenátumon és patkány, illetve humán NT receptorokkal transzfektált sejt vonalakon is bizonyították. Azt is igazolták továbbá, hogy az SR 48692 szelektív NTS1 antagonistá [99]. Irodalmi adatok szerint az SR 48692 képes az NT által indukált magatartási hatások blokkolására. Többek között a ventralis tegmentalis area területén blokkolja az NT által kiváltott lokomotoros változásokat, vagy a forgási viselkedést (turning behaviour) [63,99,228,267]. Mindazonáltal az SR 48692 sem egerekben, sem patkányokban nem tudta kivédeni az NT indukált hypothermiát és fájdalomcsökkentő hatást, ezen hatások ugyanis az NTS2 aktivációja révén jönnek létre [63,228]. Önmagában adott nagy dózisú SR 48692 pedig befolyásolta a tanulási- és memória-folyamatokat a nucleus accumbens területén [274]. Nagy hátránya azonban ennek az antagonistának, hogy alacsony az oldékonysága, ezért kísérleteinkben csak 35 ng (60 pmol) SR 48692-t használtunk, amely viszont közel equimolaris mennyiségű a kísérleteinkben hatékony 100 ng NT-nel (54,6 pmol). Igazoltuk, hogy az NTS1-nek kulcsszerepe van a CeA-ba injektált NT helypreferenciát okozó hatásában, mert az antagonistá előkezelés kivédte az NT pozitív megerősítő hatását. Az általunk használt dózisban az NTS1 antagonistá, önmagában injektálva a CeA-ba nem befolyásolta a helypreferenciát. Az antagonistá előkezelést 15 perccel az NT kezelés előtt alkalmaztuk, így a kémiaailag igen stabil SR 48692-nek elég ideje volt az NTS1-ekhez kötődni.

Bizonyos neuropeptidekről, mint például a P-anyagról és a jelen dolgozat tárgyát képező NT-ről úgy gondoljuk, hogy pozitív megerősítő hatását a mezolimbikus dopamin rendszer modulálása révén fejt ki [129]. Ismert, hogy a mezolimbikus dopamin rendszer kulcsszerepet játszik különböző anyagok pozitív megerősítő hatásának közvetítésében [139] és ez a pályarendszer innerválja az AMY-t [74]. Leírták továbbá azt is, hogy pszichostimuláns drogok a nucleus accumbens mellett az AMY-ban fejtenek ki akut jutalmazó hatást a monoaminerg neurotranszmisszió révén [36,109,111]. Biokémiai és elektrofiziológiai vizsgálatok sora mutatott ki kapcsolatot a neurotenziner és dopaminerg rendszer között. Irodalmi adatok szerint az NT megváltoztatja a substantia nigra és a ventralis tegmentalis areában lévő dopaminerg sejtek aktivitását és fokozza az endogén DA felszabadulást a striatumban, a nucleus accumbensben és a prefrontalis kéregben [33,108,121,145,168,231,256,268]. Kimutatták, hogy az NT ismételt adása a ventralis tegmentalis areaba kémiai és viselkedési szenzitizációhoz vezet [65,122,124]. Neuroadaptív változásokkal magyarázzák a viselkedési szenzitizációt, melyben elsősorban a ventralis tegmentalis area, a nucleus accumbens és a prefrontalis kéreg szerepét emelik ki, a neurotranszmitterek közül pedig a DA és a glutamát fontosságát hangsúlyozzák [220]. NT – DA interakció létezik receptorális szinten is: intermembrán interakciót írtak le az NTS-ek és a dopamin D2 receptorok között [1,4,84]. A neurotenziner és dopaminerg rendszer kapcsolatát támasztja alá, hogy több struktúrában is bizonyították az NT és a DA co-localizációját. Leírták az NT jelenlétét a nucleus arcuatus A12-es DA neuronokon, a mesencephalonban több helyen, például a ventralis tegmentalis area A10-es DA sejtcsoporton és a substantia nigra A9-es DA neuronokon [113]. Elektrofiziológiai vizsgálatok szerint az NT növeli a DA sejtek aktivitását in vivo és in vitro körülmények között is. Kimutatták, hogy az NT fokozza a dopaminerg sejtek tüzelési frekvenciáját a ventralis tegmentalis areában, a substantia nigra és a frontális kéreg pyramis sejtjein [120,230,254]. In vitro körülmények között bebizonyították, hogy az NT fokozza a tyrozin-kináz aktivitást és a DA felszabadulást agyselet preparátum vizsgálatokkor [73,192]. A kísérleteinkben is használt NTS1 antagonist, SR 48692 pedig meggátolta az NT indukálta DA felszabadulását striatalis és mesencephalicus sejt kultúrákon [26]. A neurotenziner és dopaminerg rendszer kapcsolatát tovább erősíti,

hogy igazolták az NT és a DA együttes előfordulását ugyanazon vezikulumokban [11,13].

Ismert a mezolimbikus-DA rendszer szerepe a jutalmazási folyamatok szabályozásában. Feltevéseink szerint az NT ezen rendszer modulálása révén fejti ki pozitív megerősítő hatását. Megvizsgáltuk a CeA-ba mikroinjektált DA D2 receptor antagonistá Sulpirid hatását. Igazoltuk, hogy a DA D2 antagonistá előkezelés kivédte az NT pozitív megerősítő hatását. Az általunk használt 5 µg DA D2 antagonistá önmagában adva nem befolyásolta a helypreferenciát.

### **Emelt keresztpalló teszt:**

Az emelt keresztpalló teszt egy adott anyag szorongásra kifejtett hatásának tesztelésére szolgáló paradigma [112]. A patkányok természetüknél fogva szeretik a sötét, zárt helyeket, ezért ebben a tesztben elsősorban a zárt karokat preferálják és viszonylag ritkán merészkednek a nyitott karokra, még ritkábban a nyitott karok végeire. Ha egy anyag anxiolitikus hatású, akkor a kezelt állatok többször kimennek a nyitott karokra és a nyitott karok végeire, több időt töltenek itt és nagyobb utat tesznek meg a nyitott karok területén, mint a kontroll csoport tagjai. Ezzel szemben, egy adott anyag anxiogén hatását az jelzi, hogy az állatok kevesebbszer lépnek ki a nyitott karokra és a nyitott karok végeire, illetve kevesebb időt töltenek itt, szinte ki sem mozdulnak a zárt karokról és főleg a zárt karok végeit részesítik előnyben, ahol három oldalról is „biztonságos” fallal vannak körbevéve. Az emelt keresztpalló tesztet két fő ok miatt végeztük el. Egyrészt az AMY-ról ismert, hogy a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a félelem által kiváltott magatartási hatások szabályozásában és a szorongási folyamatokban, mindemellett ismert, hogy viszonylag gazdag NTS1-ekben, tehát logikus volt, hogy megvizsgáljuk a CeA-ba injektált NT hatását a szorongási folyamatokra. Másrészt pedig kimutattuk, hogy a CeA-ba injektált NT pozitív megerősítő hatású, azaz az állatok szignifikánsan több időt töltenek a kezelő kvadráns területén. Felvetődhetne, hogy az NT hatására az állatok szoronganak, hypoaktívak és ezért tartozkódnak helypreferencia teszt során az apparatus egyes részein több ideig.

Ismert, hogy az AMY részt vesz a félelemmel és szorongással kapcsolatos folyamatok szabályozásában [95]. Blanchard és munkatársai kimutatták, hogy AMY ledált patkányok nem kerülnek el a mozdulatlanul fekvő macskát, vagy azt a helyet, ahol korábban elektromos sokknak voltak kitéve, továbbá az előbb említett tesztekben csökkent a „lefagyás” (freezing) időtartama [19]. A centromedialis AMY léziója anxiolitikus hatású, mert szignifikánsan fokozta az explorációs magatartást radial-maze tesztben, a bazolaterális AMY lézióknak ugyanakkor nincs ilyen hatása [96]. Ezzel szemben Treit és munkatársai azt mutatták ki, hogy az AMY lézió nem anxiolitikus hatású emelt keresztpalló tesztben, de csökkenti a tanulást passzív elhárító szituációban [279]. Moreira az egyes AMY magok eltérő szerepét hangsúlyozza: míg a basolateralis AMY-nak inkább a fenyegető stimulus felismerésében van szerepe, addig a CeA a félelemre jellemző magatartás kifejezésében fontos [186]. Számos további kísérlet támasztja még alá az AMY szerepét a szorongással kapcsolatos viselkedési folyamatok szabályozásában [57,300,302].

Az NT esetleges anxiolitikus vagy anxiogén hatását még nem vizsgálták széles körben. A rendelkezésre álló adatok szerint a szisztémásan adott NTS1 agonista PD 149163 csökkentette a félelem-erősített megrezzenési reakciót (fear-potentiated startle), amiből az anyag anxiolitikus hatására következtetnek [259]. Kimutatták ugyanakkor azt is, hogy a patkány számára elkerülhetetlen elektromos sokk után a hypothalamus paraventricularis magjában megemelkedett az NT mRNS koncentráció [106]. A fenti eredményt erősíti az a stressz teszt, amelyben az állatoknak hideg vízben kellett úszniuk, itt is NT mRNS koncentráció emelkedést tapasztaltak a hypothalamusban [253]. Az NT centrális adását pedig a plazma ACTH és kortikoszteroid szintjének emelkedése követte [98,203,206].

Emelt keresztpalló teszt során kapott eredményeink azt támasztják alá, hogy a CeA-ba mikroinjektált NT se nem anxiogén, se nem anxiolitikus hatású. Az NT kezelésben részesült csoportok statisztikailag nem töltöttek több időt a nyitott karokon és a nyitott karok végein, továbbá nem léptek többször a nyitott karokra a kontroll csoporthoz képest. Az egyes kezelési csoportok között aktivitásbeli különbséget sem találtunk, tehát kizárható, hogy helypreferencia teszt során az állatok azért töltöttek több időt a kezelő kvadráns területén, mert szorongtak.

## **Morris-féle úsztatási teszt:**

A Morris-féle úsztatási tesztet széles körben alkalmazzák a helytanulási folyamatok vizsgálatában. Kísérleti apparátusunk mérete és a kísérlet paraméterei megfeleltek a Morris által használt és publikált kondícióknak [188]. Morris-féle teszt során az állatok térbeli tájékozódását, külső jelek, tárgyak segítik. Közismert, hogy a patkányok jól úsznak, ugyanakkor ez a folyamat averzív számukra, tehát a biztonságos platform megtalálása jelenti a jutalmat ebben a paradigmában. Miután megtalálják a platformot arra kiülhetnek, megpihenhetnek rajta és közben külső vizuális jelek segítségével „bemérhetik” és „memorizálhatják” a víz felszínéről láthatatlan platform pontos helyét. Vizsgálataink során a patkányokat naponta 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 [6,49,140,189]. 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 [189,276]. Az anyagbeadásokat az úsztatások után végeztük, mivel leírták, hogy a memória konszolidáció ekkor történik [114]. 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. Igazolták ugyanakkor a CeA szerepét a memória konszolidációban és retencióban [58,128,180,181,277]. Ismert továbbá ezen struktúra szerepe a helytanulás kialakításában, ezt 2009-es adatok is alátámasztják [86,276]. Jelen kísérleteinkben alkalmazott 100 ng NT és 250 ng NT szignifikánsan csökkentette a céltalálási latenciát, azaz fokozta a helytanulást. Ezen hatás kialakításában az NTS1-nek is szerepe van, mivel a szelektív NTS1 antagonistá SR 48692 előkezelés kivédte a céltalálási latencia szignifikáns csökkenését. Az NTS1 önmagában adva, az általunk használt dózisban nem befolyásolta a helytanulást. Korábban kimutatták, hogy a nucleus accumbensbe adott NTS1 antagonistá rontotta a helytanulást [274]. Kísérleteinkben az NT-vel equimoláris

mennyiségű NTS1 antagonistát alkalmaztunk (60 pmol), a fent leírt kísérletben ennél jóval nagyobb dózist 50 nmol-t injektáltak [274]. Fontos kiemelnünk továbbá, hogy a különféle kezelésben részesült állatcsoportok között nem volt különbség az úszási sebességben, illetve habituáció során a leúszott távolságban. Eredményeink tehát az NT helytanulást fokozó hatásával magyarázhatók, nem pedig az esetleges motoros aktivitásbeli különbségekkel.

Feltevéseink szerint az NT helytanulást fokozó hatását a mezolimbikus dopamin rendszer modulálása révén fejt ki. Megvizsgáltuk a CeA-ba mikroinjektált DA D2 receptor antagonistá Sulpirid hatását. Igazoltuk, hogy a DA D2 antagonistá előkezelés kivédte az NT helytanulást fokozó hatását. Az általunk használt 5 µg DA D2 antagonistá önmagában adva nem befolyásolta a helytanulást. (Az NT-DA interakció tárgyalását lásd a Helypreferencia teszt megbeszélésénél).

Az NT tanulást serkentő hatásának hátterében felmerül a glutamáterg rendszerrel való kapcsolata. Ismert, hogy a glutamát neurotranszmisszió és az NMDA receptorok fontos szerepet játszanak a helytanulásban [30,146,165]. Közölték továbbá azt is, hogy az NT modulálja a glutamáterg transzmissziót [48,79,81], joggal merül fel tehát, hogy vizsgálati eredményeink hátterében részben az NT-glutamát interakció áll. Patch clamp technikával végzett kísérletekben bebizonyították, hogy a globus pallidusban az NT fokozza az NMDA mediált excitatorikus postsynaptikus áramokat, szelektív NTS1 antagonistá (SR 48692) pedig kivédte ezt a hatást [48]. Önmagában adott NTS1 antagonistá nem volt hatással az excitatorikus postsynaptikus áramokra [48]. Ferraro és munkatársai kimutatták, hogy az NT in vivo és in vitro (agyszelet technika) fokozza a glutamát transzmissziót az agykéregben és a substantia nigrában [80,82]. Számos más agyterületen is NT-glutamát interakcióról számoltak be, nevezetesen: az NT serkenti a glutamát felszabadulást a parabrachialis magban, a prefrontalis kéregben, a globus pallidusban és a striatumban [48,245,246]. Ezen hatások NTS1 specifikusak, mert a szelektív NTS1 antagonistá teljesen kivédi az NT hatására létrejövő glutamát szint emelkedést [47,48].

Az NT helytanulást fokozó hatásának hátterében a noradrenerg rendszerrel való interakciója sem zárható ki. Agykamrába injektált NT hatására megemelkedik a noradrenalin szintje az AMY-ban, a hypothalamus-ban és a nucleus accumbensben, ugyanakkor nem tapasztaltak noradrenalin szint változást a ventralis tegmentalis areában,



a septumban, a frontális kéregben és a substantia nigrában [62]. Hagan és munkatársai kimutatták, hogy a noradrenerg pályák roncsolását követően a patkányok rosszabbul teljesítenek Morris-féle úsztatási tesztben, ugyanezt az eredményt kapták a dopaminerg pályák ledálása után is [101]. A későbbiekben szeretnénk megvizsgálni az esetleges NT – noradrenalin interakció hatását Morris-féle úsztatási tesztben.

### **Passzív elhárító teszt:**

A Passzív elhárító teszt egy adott kémiai anyag memória konszolidációra és retencióra gyakorolt hatásának vizsgálatára alkalmas paradigma. A passzív elhárító szituáció magában foglal egy kondicionált félelmi komponenst, mely jelentős emocionális változásokat idéz elő a kísérleti állatokban. A korábbiakban ismertettük, hogy az NT elősegítette a tanulást jutalmazó szituációkban. Kézenfekvő volt azt is megvizsgálnunk, hogy az NT-nek milyen hatása van negatív megerősítéses tanulási paradigmában. 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 [52-54]. 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.

A passzív elhárító teszt egyik sarkalatos kérdése, hogy mekkora elektromos sokkot alkalmazunk. Erős sokk (1 mA, vagy annál nagyobb) alkalmazásakor már viszonylag erős fájdalmi komponenssel is számolnunk kell, ilyen esetekben általában a kontroll állatok is könnyen megtanulják, hogy el kell kerülniük a sokkoló dobozt. Erős sokk alkalmazása alkalmas a memória retenció vizsgálatára, de csak korlátozottan alkalmazható a memória kialakulásának vizsgálatára [51,286]. Kísérleteinkben gyenge (0,4 mA-s) sokkot alkalmaztunk, amely egyaránt alkalmas a memória kialakulásának és retenciójának vizsgálatára [51,286]. A gyenge sokk alkalmazása inkább kellemetlen, mintsem erősen fájdalmas az állatok számára és ezáltal könnyen tanulmányozható a

tanulási tendencia és könnyebben vizsgálható a különbség a kontroll és a kezelésben részesült állatok között.

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. Korábban Shibata és munkatársai is azt igazolták, hogy nagyobb dózisú NT nem befolyásolta a passzív elhárításos tanulást [258]. Ezen szerzők 200 ng NT-t és 500 ng NT alkalmaztak és nem vizsgálták az általunk hatásosnak bizonyuló 100 ng NT dózist. Számos más neuropeptid esetében is ismert a harang alakú dózis-hatás görbe, azaz vannak hatásos koncentrációk, de az ennél nagyobb vagy kisebb dózisok inefektívnek bizonyulnak [104,115,128,129,276,277]. Hasonló dózis-hatás összefüggéseket írtak le az NT esetében is [166,263,285]. Mi állhat annak hátterében, hogy a nagyobb dózisok kevésbé hatásosak vagy hatástalanok? Két egymástól független vizsgálat is kimutatta, hogy NTS1 génnel transzfektált sejtvonalakon NT jelenlétében a receptorok 60%-a internalizálódik 10 percen belül [45,107]. Irodalmi adatok szerint, a sejt belsejébe jutott NTS1-NT komplexből, az NTS1 csak kis százaléka kerül újra vissza a sejtplazmába, nagyobb része intracellulárisan lebomlik [22,287]. Kísérleti eredmények azt mutatták, hogy az NTS1 mRNS szint változás függ attól, hogy milyen koncentrációjú NT-nel, milyen hosszan inkubálják a sejtvonalakot és nagyban függ attól is, hogy milyen sejtvonalakot vizsgáltak [196,264,265]. Ismert továbbá az NTS1 deszenzitizáció, amely szintén felelős lehet azért, hogy a nagyobb koncentrációjú NT illetve az NT ismételt adását követően a hatás csökken, vagy elmarad [8,75,266]. A fenti jelenség magyarázatául szolgálhat még az NTS1 down-reguláció [61].

Más agyi területeken vizsgálva már kimutatták az NT tanulást fokozó hatását passzív elhárító tesztben. A corpus mamillare-kba injektálva a 200 ng és 500 ng NT fokozta a memóriát ebben a paradigmában [258]. A dorsalis raphe magba injektált NT szintén hatásos volt passzív elhárító tesztben, mert szignifikánsan megnyújtotta a belépési latenciát [193].

Számos közlemény igazolja az AMY tanulásban és memóriefolyamatok szabályozásában betöltött szerepét [5,10,20,35,57,83,85,97,128,149,155,177-179,242,277,279]. Feltételezik, hogy az AMY efferensein keresztül, más agyi területek aktivációja révén vesz részt a memórianyomok tárolásában [179,180]. Számos felszálló pályarendszer kap

bemenetet a CeA-ból, mint például a noradrenerg, dopaminerg és szerotoninerg rendszerek, bazális előagyi rendszer, lateralis hypothalamus és a ponto-mesencephalotegmentalis areák. Valószínűsíthető, hogy a CeA többek között ezen pályarendszerek modulálása révén szabályozza a tanulási folyamatokat [149,179]. A fent felsorolt közlemények közül számos tanulmány támasztja alá az AMY szerepét passzív elhárításos tanulásban [5,20,97,128,155,242,277,279].

Ezt követően az NTS1 szerepét vizsgáltuk az effektívnek bizonyuló 100 ng NT hatásának közvetítésében. A kísérleteinkben használt SR 48692 NTS1 specifikus és a CeA-ban is elsősorban NTS1 jelenlétét mutatták ki [99]. Azt kaptuk, hogy az NTS1 antagonisták előkezelés kivédte az NT hatását, önmagában alkalmazott NTS1 antagonisták pedig nem befolyásolta a passzív elhárításos tanulást. Elmondhatjuk tehát, hogy az NT hatása NTS1 specifikus.

Feltételeztük, hogy az NT memóriát fokozó hatásában a mezolimbikus dopamin rendszer modulálása áll, ezért kísérleteinket elvégeztük a DA D2 receptorok blokkolása mellett is. Eredményeink azt igazolták, hogy a DA D2 antagonisták előkezelés kivédte az NT memóriát fokozó hatását, ugyanakkor az önmagában adott DA D2 antagonisták nem befolyásolta a passzív elhárításos tanulást.

Az NT tanulásban, memóriában és megerősítésben betöltött hatását akár többféle neurotranszmitter rendszer modulálása révén is létrehozhatja. A helypreferencia teszt megbeszélésénél a mezolimbikus-DA rendszerrel való kapcsolatát ismerttettem. A Morris-féle úsztatási teszt tárgyalásánál az NT-glutamát és NT-noradrenalin interakciót diszkutáltam, mint lehetséges mechanizmusát az NT helytanulást fokozó hatásának. Ebben a fejezetben pedig az NT kolinerg rendszerekkel való kapcsolatára szeretnék rávilágítani. Ismert ugyanis a kolinerg neurotranszmisszió szerepe a tanulási- és memóriefolyamatok szabályozásában [92,224-226]. Számos közlemény született továbbá a neuroenzimerg és kolinerg neurotranszmisszió interakciójáról [157,210,271]. NT kötőhelyeket mutattak ki kolinerg neuronokon a nucleus basalis magnocellularisban [271]. Vizsgálataink célterülete az AMY kolinerg rostokat kap a Meynert-féle magból, a bazális előagyból, a ventralis pallidumból és a laterodorsalis tegmentalis areából [299]. Kolinerg sejtek jelenlétét írták le több AMY magban is, többek között a CeA-ban [208].

A továbbiakban szeretnénk tehát megvizsgálni az NT – kolinerg transzmisszió interakció esetleges szerepét a tanulási- és memóriefolyamatok szabályozásában.

### **Open field teszt:**

Az Open field teszt a 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 hatását illetően. Bouco és munkatársai arról számoltak be, hogy az agykamrába injektált NT csökkentette a motoros aktivitást Lewis patkányokon, ez a hatás nem jött létre, ha Fisher 344-es patkányok agykamrájába injektálták az NT-t [9]. Megfigyelték, hogy ugyanilyen körülmények közt injektált [d-Tyr(11)] NT fokozza a Fischer 344-es patkányok motoros aktivitását, de nincs hatással a Lewis törzsre [9]. A ventralis tegmentalis areába injektált NT fokozza az állatok motoros aktivitását, ugyanakkor a nucleus accumbensben pedig meggátolja az amfetamin által kiváltott hiperaktivitást [9,71,123]. A ventralis tegmentalis areába unilaterálisan injektált NT kontralaterális forgó mozgást hoz létre, ami NTS1 antagonistá –SR 48692- előkezeléssel kivédhető [267]. A nucleus accumbensbe önmagában injektált NT szignifikánsan csökkentette az open field aktivitást Fisher 344-es és Lewis patkányokon [9]. Sprague-Dawley patkányok nucleus accumbensébe injektált NT nem befolyásolta a motoros aktivitást, ugyanakkor szignifikánsan csökkentette az amfetamin által kiváltott hiperaktivitást, sőt a legnagyobb dózisú (5 µg) NT teljesen kivédte az amfetamin aktivitást fokozó hatását [77]. Jolicoeur és munkatársai számoltak be arról, hogy az agykamrába injektált NT szignifikánsan csökkentette az amfetamin, apomorphin, nomifensin és N-n-propyl-norapomorphin által kiváltott hiperaktivitást. [117]. Robledo és munkatársai pedig azt mutatták ki, hogy az i.p. adott kokain hatására fellépő aktivitás fokozódást a nucleus accumbensbe injektált NT szignifikánsan csökkenti

[236]. Vizsgálataiból az is kiderült, hogy a nucleus accumbensbe injektált NT nem befolyásolja a kokain önadagolását kémiai öningerlésés kísérletben [236].

Vizsgálatainkban nem tapasztaltunk változást a lokomócióban sem a 100 ng NT, sem a 250 ng NT adását követően. Eredményeink tehát igazolták, hogy a CeA-ba injektált NT-nek az általunk alkalmazott dózisban nincs hatása a patkányok spontán motoros aktivitására. Így az NT pozitív megerősítő hatása helypreferencia tesztben, a céltalálási idő szignifikáns csökkenése Morris-féle úsztatási tesztben és a latenciaidő növekedése passzív elhárító tesztben nem magyarázhatók az állatok aktivitásában bekövetkezett változásával.

## **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 antagonistával 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 antagonistával előkezeléssel kivédhető.

6., Passzív elhárító tesztben kimutattuk, hogy neurotenzinerg 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 antagonistával előkezeléssel kivédhető.

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

Az NT hatásmechanizmusának pontosabb felderítésére további kísérleteket tervezünk. Részletesebben szeretnénk vizsgálni a DA-erg rendszerrel való kölcsönhatásokat, emellett a kolinerg-, glutamaterg-, noradrenerg- és GABA-erg rendszerrel való esetleges interakciókat is szeretnénk feltérképezni. Folytatni kívánjuk multibarrel technikával végzett elektrofiziológiai kísérleteinket, amelyek a pilot tanulmányok során már érdekes eredményekkel kecsegtettek. Számos olyan idegsejtet találtunk ugyanis a CeA-ban, amely érzékeny volt az NT-re, voltak amelyeknek megnövelte tüzelési frekvenciáját, míg ugyanitt több idegsejtnek csökkentette azt. A legtöbb esetben NTS1 antagonistával előzetes adása kivédte ezt a hatást. Találtunk olyan idegsejtet is, amelyek NT-re és substance P-re egyaránt reagáltak. Több idegsejt is érzékeny volt NT-re, DA agonistára és antagonistára egyaránt. Ezen elektrofiziológiai eredményeinket is teljessé szeretnénk tenni a közeljövőben.

Reméljük, hogy kísérleti eredményeink hozzájárulnak a neurotenzinerg hatás megismeréséhez és a tanulási folyamatok pontosabb megértéséhez.

Neurotenzinerg diszfunkció szerepe valószínű a lakosság kb. 1 %-t érintő skizofréniában. A neurotenzinerg rendszerben való eltéréseket összefüggésbe hozzák a Parkinson-kórral, tardív diszkinéziával is. Esetleges szerepét vetik fel hangulati betegségekben, kábítószer és alkohol függőségben. Reméljük tehát, hogy eredményeink támpontot nyújthatnak

ezen és más központi idegrendszeri betegségek patomechanizmusának pontosabb feltérképezéséhez és terápiájához.

### **Rövidítések jegyzéke:**

AMY: amygdaloid complex

ANT: antagonist (SR 48692)

CeA: nucleus centralis amygdalae

GPCR: G proteinhez kötött receptor

i.c.v.: intracerebroventrikuláris

i.p.: intraperitonealis

DA: dopamin

N.S.: nem szignifikáns

NT: neurotensin

NTS1: neurotensin-1 receptor

NTS2: neurotensin-2 receptor

NTS3: neurotensin-3 receptor

## **Köszönetnyilvánítás:**

Kiemelt köszönettel tartozom **Prof. Dr. Lénárd László** akadémikusnak az MTA Idegéletteni kutatócsoport vezetőjének, aki másodéves orvostanhallgató korom óta egyengeti tudományos munkámat. A témaválasztástól egészen ezen disszertáció megírásáig hasznos, atyai jótanácsokkal látott el és megadott minden szakmai segítséget.

Köszönettel tartozom **Prof. Dr. Karádi Zoltánnak** a PTE ÁOK Élettani Intézet vezetőjének szakmai tanácsaiért és azért a szemléletért és vizsgaélményért, ami pályámat az Élettan felé terelte.

Köszönetet szeretnék mondani egykori témavezetőmnek és kollégámnak **Dr. Kertes Erikának** a szakmai tanácsaiért és a vizsgálati módszerek megtanításáért.

Külön köszönet illeti közvetlen munkatársamat **Dr. Tóth Krisztiánt** a kísérletek kivitelezésében és azok szakmai kiértékelésében nyújtott segítségével.

Köszönetet szeretnék mondani **Schulteis Anna, Hegedűs Jánosné, Takács Tiborné, Kohári Orsolya, Károlyi Enikő, Bendl Zsuzsanna** és **Szabó Erika** laboratóriumi asszisztensnőknek. Továbbá **Belvárác Andrásnak** az informatikai segítségnyújtásért és tanácsokért.

Köszönöm továbbá az Intézet többi munkatársának, barátaimnak és családomnak, hogy segítségükkel és észrevételeikkel megszülethetett ez az értekezés.



## **Publikációs jegyzék:**

### **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. (3,171 impact faktor)

**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. (3,171 impact faktor)

### **Egyéb publikációk és citálható absztraktok:**

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. (3,171 impact faktor)

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. (3,171 impact faktor)

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. (2,281 impact faktor)

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

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. (3,171 impact faktor)

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.* 215(1): 152-155 2010. (3,171 impact faktor)

Olga Hangodi, Barbara Urbán, Péter Inkő, Szilvia Táros, **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

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. Táros, L. Lénárd: The role of neurotensin and neurotensin-1 receptor antagonist (SR 48692) in positive reinforcement. *Acta Physiol. Hung.*, 93: 201-202, 2006.

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.

**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)

## **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.

Inkó 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. Inkó, 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. Inkó, 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, Tálos, Szilvia, Inkó, Péter, Lénárd, László: Positive reinforcement effect of Neurotensin injected into the rat central nucleus of amygdale 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. Tálos, **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. Tálos, **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 36<sup>th</sup> 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. Lukács, 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

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 neurotensin és a neurotensin-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 10<sup>th</sup> 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, 12<sup>th</sup> 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. 12<sup>th</sup> 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, Budapest, 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, Budapest, 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.

## Irodalomjegyzék:

- [1] D.K. Adachi, P.W. Kalivas and J.O. Schenk, Neurotensin binding to dopamine, *J Neurochem* 54 (1990) 1321-1328.
- [2] M.R. Adams, E.P. Brandon, E.H. Chartoff, R.L. Idzerda, D.M. Dorsa and G.S. McKnight, Loss of haloperidol induced gene expression and catalepsy in protein kinase A-deficient mice, *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 (1997) 12157-12161.
- [3] J.P. Aggleton, A description of the amygdalo-hippocampal interconnections in the macaque monkey, *Exp Brain Res* 64 (1986) 515-526.
- [4] L.F. Agnati, K. Fuxe, F. Benfenati and N. Battistini, Neurotensin in vitro markedly reduces the affinity in subcortical limbic 3H-N-propylnorapomorphine binding sites, *Acta Physiol Scand* 119 (1983) 459-461.
- [5] C. Ambrogi Lorenzini, C. Bucherelli, A. Giachetti, L. Mugnai and G. Tassoni, Effects of nucleus basolateralis amygdalae neurotoxic lesions on aversive conditioning in the rat, *Physiol Behav* 49 (1991) 765-770.
- [6] 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.
- [7] M.L. Asselin, I. Dubuc, A. Coquerel and J. Costentin, Localization of neurotensin NTS2 receptors in rat brain, using, *Neuroreport* 12 (2001) 1087-1091.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] M.G. Baxter and E.A. Murray, The amygdala and reward, *Nat Rev Neurosci* 3 (2002) 563-573.
- [11] 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.
- [12] A.J. Bean, A. Dagerlind, T. Hokfelt and P.R. Dobner, Cloning of human neurotensin/neuromedin N genomic sequences and expression in the ventral mesencephalon of schizophrenics and age/sex matched controls, *Neuroscience* 50 (1992) 259-268.
- [13] A.J. Bean, M.J. Dusing, A.Y. Deutch and R.H. Roth, Effects of dopamine depletion on striatal neurotensin: biochemical and immunohistochemical studies, *J Neurosci* 9 (1989) 4430-4438.

- [14] M.M. Behbehani, Physiological mechanisms of the analgesic effect of neurotensin, In: Kitagbi, P. and Nemeroff, C. editors. The neurobiology of neurotensin, vol. 668. Ann. Acad. Sci. New York 253-265 (1992.).
- [15] A. Berod and W. Rostene, Neurotensin: an endogenous psychostimulant?, *Curr Opin Pharmacol* 2 (2002) 93-98.
- [16] E.B. Binder, B. Kinkead, M.J. Owens and C.B. Nemeroff, The role of neurotensin in the pathophysiology of schizophrenia and the mechanism of action of antipsychotic drugs, *Biol Psychiatry* 50 (2001) 856-872.
- [17] G. Bisette, Nemeroff, C.B., Loosen, P.T., Prange, A.J. Jr, Lipton. M.A., Hypothermia and cold intolerance induced by the intracisternal administration of the hypothalamic peptide neurotensin., *Nature* 262 607-609 (1976.).
- [18] G. Bisette, P. Manberg, C.B. Nemeroff and A.J. Prange, Jr., Neurotensin, a biologically active peptide, *Life Sci* 23 (1978) 2173-2182.
- [19] D.C. Blanchard and R.J. Blanchard, Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions, *J Comp Physiol Psychol* 81 (1972) 281-290.
- [20] D. Blozovski and V. Dumery, Implication of amygdaloid muscarinic cholinergic mechanisms in passive avoidance learning in the developing rat, *Behav Brain Res* 13 (1984) 97-106.
- [21] C. Bolden-Watson, M.A. Watson, K.D. Murray, P.J. Isackson and E. Richelson, Haloperidol but not clozapine increases neurotensin receptor mRNA levels in rat substantia nigra, *J Neurochem* 61 (1993) 1141-1143.
- [22] J.M. Botto, J. Chabry, P. Sarret, J.P. Vincent and J. Mazella, Stable expression of the mouse levocabastine-sensitive neurotensin receptor in HEK 293 cell line: binding properties, photoaffinity labeling, and internalization mechanism, *Biochem Biophys Res Commun* 243 (1998) 585-590.
- [23] H. Boudin, D. Pelapat, 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.
- [24] H. Boudin, D. Pelapat, W. Rostene, V.M. Pickel and A. Beaudet, Correlative ultrastructural distribution of neurotensin receptor proteins and binding sites in the rat substantia nigra, *J Neurosci* 18 (1998) 8473-8484.
- [25] N.A. Breslin, R.L. Suddath, G. Bisette, C.B. Nemeroff, P. Lowrimore and D.R. Weinberger, CSF concentrations of neurotensin in schizophrenia: an investigation of clinical and biochemical correlates, *Schizophr Res* 12 (1994) 35-41.
- [26] A. Brouard, M. Heaulme, R. Leyris, D. Pelapat, D. Gully, P. Kitabgi, G. Le Fur and W. Rostene, SR 48692 inhibits neurotensin-induced [3H]dopamine release in rat striatal slices and mesencephalic cultures, *Eur J Pharmacol* 253 (1994) 289-291.
- [27] A. Brouard, Pelapat, D., Dana, C., Vial, M., Lhiaubet, A.M. and Rosténe, W., Mesencephalic dopaminergic neuron in primary cultures express functional neurotensin receptors, *J. Neurosci.* 1409-1415 (1992.).
- [28] E.E. Brown and H.C. Fibiger, Differential effects of excitotoxic lesions of the amygdala on cocaine-induced conditioned locomotion and conditioned place preference, *Psychopharmacology (Berl)* 113 (1993) 123-130.



- [29] P. Brun, C. Mastrotto, E. Beggiao, A. Stefani, L. Barzon, G.C. Sturniolo, G. Palu and I. Castagliuolo, Neuropeptide neurotensin stimulates intestinal wound healing following chronic intestinal inflammation, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288 (2005) G621-629.
- [30] S.P. Butcher, S. Davis and R.G. Morris, A dose-related impairment of spatial learning by the NMDA receptor antagonist, 2-amino-5-phosphonovalerate (AP5), *Eur Neuropsychopharmacol* 1 (1990) 15-20.
- [31] R. Caceda, B. Kinkead and C.B. Nemeroff, Involvement of neuropeptide systems in schizophrenia: human studies, *Int Rev Neurobiol* 78 (2007) 327-376.
- [32] R. Caceda, B. Kinkead and C.B. Nemeroff, Neurotensin: role in psychiatric and neurological diseases, *Peptides* 27 (2006) 2385-2404.
- [33] M. Cador, J.M. Rivet, A.E. Kelley, M. Le Moal and L. Stinus, Substance P, neurotensin and enkephalin injections into the ventral tegmental area: comparative study on dopamine turnover in several forebrain structures, *Brain Res* 486 (1989) 357-363.
- [34] L. Cahill, Modulation of long term memory storage in humans emotional arousal: adrenergic activation and the amygdala., In Aggleton, J. P. Editor, *The amygdala: a functional analysis*. Oxford University Press, New York. 425-445.
- [35] L. Cahill, Neurobiological mechanisms of emotionally influenced, long-term memory, *Prog Brain Res* 126 (2000) 29-37.
- [36] S.B. Caine, S.C. Heinrichs, V.L. Coffin and G.F. Koob, Effects of the dopamine D-1 antagonist SCH 23390 microinjected into the accumbens, amygdala or striatum on cocaine self-administration in the rat, *Brain Res* 692 (1995) 47-56.
- [37] A. Carlsson, N. Waters, S. Holm-Waters, J. Tedroff, M. Nilsson and M.L. Carlsson, Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41 (2001) 237-260.
- [38] A. Carlsson, N. Waters, S. Waters and M.L. Carlsson, Network interactions in schizophrenia - therapeutic implications, *Brain Res Brain Res Rev* 31 (2000) 342-349.
- [39] R. Carraway and S.E. Leeman, The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin, *J Biol Chem* 250 (1975) 1907-1911.
- [40] R. Carraway and S.E. Leeman, Characterization of radioimmunoassayable neurotensin in the rat. Its differential distribution in the central nervous system, small intestine, and stomach, *J Biol Chem* 251 (1976) 7045-7052.
- [41] R. Carraway and S.E. Leeman, The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalami, *J Biol Chem* 248 (1973) 6854-6861.
- [42] R. Carraway and S.E. Leeman, Radioimmunoassay for neurotensin, a hypothalamic peptide, *J Biol Chem* 251 (1976) 7035-7044.
- [43] R. Carraway and S.E. Leeman, The synthesis of neurotensin, *J Biol Chem* 250 (1975) 1912-1918.
- [44] I. Castagliuolo, S.E. Leeman, E. Bartolak-Suki, S. Nikulasson, B. Qiu, R.E. Carraway and C. Pothoulakis, A neurotensin antagonist, SR 48692, inhibits colonic responses to immobilization stress in rats, *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (1996) 12611-12615.
- [45] J. Chabry, C. Labbe-Jullie, D. Gully, P. Kitabgi, J.P. Vincent and J. Mazella, Stable expression of the cloned rat brain neurotensin receptor into fibroblasts:

- binding properties, photoaffinity labeling, transduction mechanisms, and internalization, *J Neurochem* 63 (1994) 19-27.
- [46] P. Chalon, N. Vita, M. Kaghad, M. Guillemot, J. Bonnin, B. Delpéch, G. Le Fur, P. Ferrara and D. Caput, Molecular cloning of a levocabastine-sensitive neurotensin binding site, *FEBS Lett* 386 (1996) 91-94.
- [47] L. Chen, K.K. Yung and W.H. Yung, Neurotensin depolarizes globus pallidus neurons in rats via neurotensin type-1 receptor, *Neuroscience* 125 (2004) 853-859.
- [48] L. Chen, K.K. Yung and W.H. Yung, Neurotensin selectively facilitates glutamatergic transmission in globus pallidus, *Neuroscience* 141 (2006) 1871-1878.
- [49] 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.
- [50] G. Chinaglia, A. Probst and J.M. Palacios, Neurotensin receptors in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy: an autoradiographic study in basal ganglia, *Neuroscience* 39 (1990) 351-360.
- [51] W. Classen and C. Mondadori, Facilitation or inhibition of memory by morphine: a question of experimental parameters, *Experientia* 40 (1984) 506-509.
- [52] B.V. Clineschmidt, G.E. Martin and D.F. Veber, Antinociceptive effects of neurotensin and neurotensin-related peptides, *Ann N Y Acad Sci* 400 (1982) 283-306.
- [53] B.V. Clineschmidt and J.C. McGuffin, Neurotensin administered intracisternally inhibits responsiveness of mice to noxious stimuli, *Eur J Pharmacol* 46 (1977) 395-396.
- [54] B.V. Clineschmidt, J.C. McGuffin and P.B. Bunting, Neurotensin: antinociceptive action in rodents, *Eur J Pharmacol* 54 (1979) 129-139.
- [55] J.M. Conlon, T.E. Adrian and S.M. Secor, Tachykinins (substance P, neurokinin A and neuropeptide gamma) and neurotensin from the intestine of the Burmese python, *Python molurus*, *Peptides* 18 (1997) 1505-1510.
- [56] 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.
- [57] M. Davis, The role of the amygdala in fear and anxiety, *Annu Rev Neurosci* 15 (1992) 353-375.
- [58] M. Davis, D. Rainnie and M. Cassell, Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety, *Trends Neurosci* 17 (1994) 208-214.
- [59] P.R. Dobner, A.Y. Deutch and J. Fadel, Neurotensin: dual roles in psychostimulant and antipsychotic drug responses, *Life Sci* 73 (2003) 801-811.
- [60] P.R.a.C. Dobner, R.E, Neurotensin, *Handbook of Biologically Active Peptides* 737-743 (2006.).
- [61] 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-Lys<sup>8</sup>] neurotensin(8-13), *J Pharmacol Exp Ther* 264 (1993) 1-5.

- [62] A.L. Drumheller, S. St-Pierre and F.B. Jolicoeur, Effects of neurotensin on regional concentrations of norepinephrine in rat brain, *Brain Res Bull* 16 (1986) 755-758.
- [63] I. Dubuc, J. Costentin, J.P. Terranova, M.C. Barnouin, P. Soubrie, G. Le Fur, W. Rostene and P. Kitabgi, The nonpeptide neurotensin antagonist, SR 48692, used as a tool to reveal putative neurotensin receptor subtypes, *Br J Pharmacol* 112 (1994) 352-354.
- [64] V. Dumery and D. Blozovski, Development of amygdaloid cholinergic mediation of passive avoidance learning in the rat. I. Muscarinic mechanisms, *Exp Brain Res* 67 (1987) 61-69.
- [65] P.J. Elliott and C.B. Nemeroff, Repeated neurotensin administration in the ventral tegmental area: effects on baseline and D-amphetamine-induced locomotor activity, *Neurosci Lett* 68 (1986) 239-244.
- [66] M.E. Ellis, Manipulation of the amygdala noradrenergic system impairs extinction of passive avoidance, *Brain Res* 324 (1984) 129-133.
- [67] M.E. Ellis and R.P. Kesner, The noradrenergic system of the amygdala and aversive information processing, *Behav Neurosci* 97 (1983) 399-415.
- [68] P.C. Emson, M. Goedert, H. Benton, S. St-Pierre and F. Rioux, The regional distribution and chromatographic characterization of neurotensin-like immunoreactivity in the rat, *Adv Biochem Psychopharmacol* 33 (1982) 477-485.
- [69] P.C. Emson, M. Goedert, B. Williams, M. Ninkovic and S.P. Hunt, Neurotensin: regional distribution, characterization, and inactivation, *Ann N Y Acad Sci* 400 (1982) 198-215.
- [70] P.C. Emson, P.M. Horsfield, M. Goedert, M.N. Rossor and C.H. Hawkes, Neurotensin in human brain: regional distribution and effects of neurological illness, *Brain Res* 347 (1985) 239-244.
- [71] 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.
- [72] V.G. Erwin and R.A. Radcliffe, Characterization of neurotensin-stimulated phosphoinositide hydrolysis in brain regions of long sleep and short sleep mice, *Brain Res* 629 (1993) 59-66.
- [73] B.M. Faggin, J.K. Zubieta, A.H. Rezvani and L.X. Cubeddu, Neurotensin-induced dopamine release in vivo and in vitro from substantia nigra and nucleus caudate, *J Pharmacol Exp Ther* 252 (1990) 817-825.
- [74] J.H. Fallon, D.A. Koziell and R.Y. Moore, Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex, *J Comp Neurol* 180 (1978) 509-532.
- [75] R.H. Farkas, S. Nakajima and Y. Nakajima, Neurotensin excites basal forebrain cholinergic neurons: ionic and signal-transduction mechanisms, *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 (1994) 2853-2857.
- [76] A. Fassio, G. Evans, R. Grisshammer, J.P. Bolam, M. Mimmack and P.C. Emson, Distribution of the neurotensin receptor NTS1 in the rat CNS studied using an amino-terminal directed antibody, *Neuropharmacology* 39 (2000) 1430-1442.
- [77] D. Feifel, K.L. Minor, S. Dulawa and N.R. Swerdlow, The effects of intra-accumbens neurotensin on sensorimotor gating, *Brain Res* 760 (1997) 80-84.

- [78] M.H. Fernstrom, Carraway R.E. and Leeman, S.E, Neurotensin In L. Martini and W.F.Ganong (Eds.), *Frontiers of Neuroendocrinology*, Vol. 6, Raven Press, New York. 113-127. (1982.).
- [79] L. Ferraro, T. Antonelli, W.T. O'Connor, K. Fuxe, P. Soubrie and S. Tanganelli, The striatal neurotensin receptor modulates striatal and pallidal glutamate and GABA release: functional evidence for a pallidal glutamate-GABA interaction via the pallidal-subthalamic nucleus loop, *J Neurosci* 18 (1998) 6977-6989.
- [80] L. Ferraro, M.C. Tomasini, M. Fernandez, B.W. Bebe, W.T. O'Connor, K. Fuxe, J.C. Glennon, S. Tanganelli and T. Antonelli, Nigral neurotensin receptor regulation of nigral glutamate and nigroventral thalamic GABA transmission: a dual-probe microdialysis study in intact conscious rat brain, *Neuroscience* 102 (2001) 113-120.
- [81] L. Ferraro, M.C. Tomasini, R. Mazza, K. Fuxe, J. Fournier, S. Tanganelli and T. Antonelli, Neurotensin receptors as modulators of glutamatergic transmission, *Brain Res Rev* 58 (2008) 365-373.
- [82] L. Ferraro, M.C. Tomasini, A. Siniscalchi, K. Fuxe, S. Tanganelli and T. Antonelli, Neurotensin increases endogenous glutamate release in rat cortical slices, *Life Sci* 66 (2000) 927-936.
- [83] B. Ferry, B. Roozendaal and J.L. McGaugh, Role of norepinephrine in mediating stress hormone regulation of long-term memory storage: a critical involvement of the amygdala, *Biol Psychiatry* 46 (1999) 1140-1152.
- [84] K. Fuxe, W.T. O'Connor, T. Antonelli, P.G. Osborne, S. Tanganelli, L.F. Agnati and U. Ungerstedt, Evidence for a substrate of neuronal plasticity based on pre- and postsynaptic neurotensin-dopamine receptor interactions in the neostriatum, *Proc Natl Acad Sci U S A* 89 (1992) 5591-5595.
- [85] M. Gallagher and P.C. Holland, The amygdala complex: multiple roles in associative learning and attention, *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 (1994) 11771-11776.
- [86] E. Galliot, M. Levaillant, E. Beard, J.L. Millot and G. Pourie, Enhancement of spatial learning by predator odor in mice: Involvement of amygdala and hippocampus, *Neurobiol Learn Mem* (2009).
- [87] D.L. Garver, G. Bisette, J.K. Yao and C.B. Nemeroff, Relation of CSF neurotensin concentrations to symptoms and drug response of psychotic patients, *Am J Psychiatry* 148 (1991) 484-488.
- [88] S. Geisler, A. Berod, D.S. Zahm and W. Rostene, Brain neurotensin, psychostimulants, and stress--emphasis on neuroanatomical substrates, *Peptides* 27 (2006) 2364-2384.
- [89] P.W. Glimcher, A.A. Giovino and B.G. Hoebel, Neurotensin self-injection in the ventral tegmental area, *Brain Res* 403 (1987) 147-150.
- [90] P.W. Glimcher, D.H. Margolin, A.A. Giovino and B.G. Hoebel, Neurotensin: a new 'reward peptide', *Brain Res* 291 (1984) 119-124.
- [91] M. Goedert, R.D. Pinnock, C.P. Downes, P.W. Mantyh and P.C. Emson, Neurotensin stimulates inositol phospholipid hydrolysis in rat brain slices, *Brain Res* 323 (1984) 193-197.
- [92] P.E. Gold, Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory, *Neurobiol Learn Mem* 80 (2003) 194-210.

- [93] M. Goulet, M. Morissette, R. Grondin, P. Falardeau, P.J. Bedard, W. Rostene and T. Di Paolo, Neurotensin receptors and dopamine transporters: effects of MPTP lesioning and chronic dopaminergic treatments in monkeys, *Synapse* 32 (1999) 153-164.
- [94] A.A. Grace, H. Moore and P. O'Donnell, The modulation of corticoaccumbens transmission by limbic afferents and dopamine: a model for the pathophysiology of schizophrenia, *Adv Pharmacol* 42 (1998) 721-724.
- [95] F.G. Graeff, M.C. Silveira, R.L. Nogueira, E.A. Audi and R.M. Oliveira, Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic, *Behav Brain Res* 58 (1993) 123-131.
- [96] C.V. Grijalva, E.D. Levin, M. Morgan, B. Roland and F.C. Martin, Contrasting effects of centromedial and basolateral amygdaloid lesions on stress-related responses in the rat, *Physiol Behav* 48 (1990) 495-500.
- [97] S.P. Grossman, L. Grossman and L. Walsh, Functional organization of the rat amygdala with respect to avoidance behavior, *J Comp Physiol Psychol* 88 (1975) 829-850.
- [98] G.A. Gudelsky, S.A. Berry and H.Y. Meltzer, Neurotensin activates tuberoinfundibular dopamine neurons and increases serum corticosterone concentrations in the rat, *Neuroendocrinology* 49 (1989) 604-609.
- [99] 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.
- [100] D. Gully, B. Labeeuw, R. Boigegrain, F. Oury-Donat, A. Bachy, M. Poncelet, R. Steinberg, M.F. Suaud-Chagny, V. Santucci, N. Vita, F. Pecceu, C. Labbe-Jullie, P. Kitabgi, P. Soubrie, G. Le Fur and J.P. Maffrand, Biochemical and pharmacological activities of SR 142948A, a new potent neurotensin receptor antagonist, *J Pharmacol Exp Ther* 280 (1997) 802-812.
- [101] J.J. Hagan, J.E. Alpert, R.G. Morris and S.D. Iversen, The effects of central catecholamine depletions on spatial learning in rats, *Behav Brain Res* 9 (1983) 83-104.
- [102] J. Hall, J.A. Parkinson, T.M. Connor, A. Dickinson and B.J. Everitt, Involvement of the central nucleus of the amygdala and nucleus accumbens core in mediating Pavlovian influences on instrumental behaviour, *Eur J Neurosci* 13 (2001) 1984-1992.
- [103] R.U. Hasenohrl, C. Frisch and J.P. Huston, Evidence for anatomical specificity for the reinforcing effects of SP in the nucleus basalis magnocellularis, *Neuroreport* 9 (1998) 7-10.
- [104] R.U. Hasenohrl, P. Gerhardt and J.P. Huston, Evidence for dose-dependent positively and negatively reinforcing effects of the substance P C-terminal analog DIME-C7, *Neuropeptides* 17 (1990) 205-211.
- [105] C. Heidbreder, M. Gewiss, B. De Mot, I. Mertens and P. De Witte, Balance of glutamate and dopamine in the nucleus accumbens modulates self-stimulation behavior after injection of cholecystikinin and neurotensin in the rat brain, *Peptides* 13 (1992) 441-449.

- [106] D.L. Helmreich, L.R. Watkins, T. Deak, S.F. Maier, H. Akil and S.J. Watson, The effect of stressor controllability on stress-induced neuropeptide mRNA expression within the paraventricular nucleus of the hypothalamus, *J Neuroendocrinol* 11 (1999) 121-128.
- [107] 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.
- [108] 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.
- [109] B.G. Hoebel, Brain neurotransmitters in food and drug reward, *Am J Clin Nutr* 42 (1985) 1133-1150.
- [110] B.G. Hoebel, Neurotransmitters in the control of feeding and its rewards: monoamines, opiates, and brain-gut peptides, *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 62 (1984) 15-38.
- [111] B.G. Hoebel, A.P. Monaco, L. Hernandez, E.F. Aulisi, B.G. Stanley and L. Lenard, Self-injection of amphetamine directly into the brain, *Psychopharmacology (Berl)* 81 (1983) 158-163.
- [112] 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.
- [113] T. Hokfelt, B.J. Everitt, E. Theodorsson-Norheim and M. Goldstein, Occurrence of neurotensinlike immunoreactivity in subpopulations of hypothalamic, mesencephalic, and medullary catecholamine neurons, *J Comp Neurol* 222 (1984) 543-559.
- [114] 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.
- [115] M. Jaszberenyi, E. Bujdoso, E. Kiss, I. Pataki and G. Telegdy, The role of NPY in the mediation of orexin-induced hypothermia, *Regul Pept* 104 (2002) 55-59.
- [116] L. Jennes, W.E. Stumpf and P.W. Kalivas, Neurotensin: topographical distribution in rat brain by immunohistochemistry, *J Comp Neurol* 210 (1982) 211-224.
- [117] F.B. Jolicoeur, G. De Michele, A. Barbeau and S. St-Pierre, Neurotensin affects hyperactivity but not stereotypy induced by pre and post synaptic dopaminergic stimulation, *Neurosci Biobehav Rev* 7 (1983) 385-390.
- [118] F.B. Jolicoeur, R. Rivest, S. St-Pierre and A. Drumheller, Antiparkinson-like effects of neurotensin in 6-hydroxydopamine lesioned rats, *Brain Res* 538 (1991) 187-192.
- [119] F.B. Jolicoeur, R. Rivest, S. St-Pierre, M.A. Gagne and M. Dumais, The effects of neurotensin and [D-Tyr<sup>11</sup>]-NT on the hyperactivity induced by intra-accumbens administration of a potent dopamine receptor agonist, *Neuropeptides* 6 (1985) 143-156.
- [120] P.W. Kalivas, Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area, *Brain Res Brain Res Rev* 18 (1993) 75-113.

- [121] P.W. Kalivas, S.K. Burgess, C.B. Nemeroff and A.J. Prange, Jr., Behavioral and neurochemical effects of neurotensin microinjection into the ventral tegmental area of the rat, *Neuroscience* 8 (1983) 495-505.
- [122] P.W. Kalivas and P. Duffy, Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens, *J Neurosci* 10 (1990) 2940-2949.
- [123] 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.
- [124] P.W. Kalivas and S. Taylor, Behavioral and neurochemical effect of daily injection with neurotensin into the ventral tegmental area, *Brain Res* 358 (1985) 70-76.
- [125] Z. Karadi, T.R. Scott, Y. Oomura, H. Nishino, S. Aou and L. Lenard, Complex functional attributes of amygdaloid gustatory neurons in the rhesus monkey, *Ann N Y Acad Sci* 855 (1998) 488-492.
- [126] K. Kataoka, N. Mizuno and L.A. Frohman, Regional distribution of immunoreactive neurotensin in monkey brain, *Brain Res Bull* 4 (1979) 57-60.
- [127] T. Kemble E.D. , J. T., Passive and active avoidance performance following small amygdaloid lesions in rats, *Physiol Behav* 3 713-718. (1968).
- [128] 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.
- [129] 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.
- [130] G.A. Kevetter and S.S. Winans, Connections of the corticomedial amygdala in the golden hamster. I. Efferents of the "vomeronasal amygdala", *J Comp Neurol* 197 (1981) 81-98.
- [131] G.A. Kevetter and S.S. Winans, Connections of the corticomedial amygdala in the golden hamster. II. Efferents of the "olfactory amygdala", *J Comp Neurol* 197 (1981) 99-111.
- [132] 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.
- [133] E.M. Kim, J.G. Quinn, A.S. Levine and E. O'Hare, A bi-directional mu-opioid-opioid connection between the nucleus of the accumbens shell and the central nucleus of the amygdala in the rat, *Brain Res* 1029 (2004) 135-139.
- [134] R.W.a.D.P. Kimble, Effect of amygdaloid lesions on retention of an avoidance response in overtrained and nonovertrained rats, *Psychonom. Sci.* 6 9-10. (1966.).
- [135] B. Kinkead and C.B. Nemeroff, Neurotensin: an endogenous antipsychotic?, *Curr Opin Pharmacol* 2 (2002) 99-103.
- [136] P. Kitabgi, F. De Nadai, C. Rovere and J.N. Bidard, Biosynthesis, maturation, release, and degradation of neurotensin and neuromedin N, *Ann N Y Acad Sci* 668 (1992) 30-42.
- [137] H. Kluver and P.C. Bucy, Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. 1939, *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9 (1997) 606-620.

- [138] R.M. Kobayashi, M. Brown and W. Vale, Regional distribution of neurotensin and somatostatin in rat brain, *Brain Res* 126 (1977) 584-588.
- [139] G.F. Koob, Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways, *Trends Pharmacol Sci* 13 (1992) 177-184.
- [140] 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.
- [141] J.E. Krettek and J.L. Price, Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat, *J Comp Neurol* 178 (1978) 225-254.
- [142] J.E. Krettek and J.L. Price, A description of the amygdaloid complex in the rat and cat with observations on intra-amygdaloid axonal connections, *J Comp Neurol* 178 (1978) 255-280.
- [143] J.E. Krettek and J.L. Price, A direct input from the amygdala to the thalamus and the cerebral cortex, *Brain Res* 67 (1974) 169-174.
- [144] F. Laczi, O. Gaffori, E.R. De Kloet and D. De Wied, Arginine-vasopressin content of hippocampus and amygdala during passive avoidance behavior in rats, *Brain Res* 280 (1983) 309-315.
- [145] R.A. Lahti, E.V. Cochrane, R.C. Roberts, R.R. Conley and C.A. Tamminga, [3H]Neurotensin receptor densities in human postmortem brain tissue obtained from normal and schizophrenic persons. An autoradiographic study, *J Neural Transm* 105 (1998) 507-516.
- [146] R. Lalonde and C. Cote, Behavioral effects of non-NMDA glutamate receptor antagonists, *Neurosci Biobehav Rev* 17 (1993) 79-84.
- [147] F. Le, B. Cusack and E. Richelson, The neurotensin receptor: is there more than one subtype?, *Trends Pharmacol Sci* 17 (1996) 1-3.
- [148] J.E. LeDoux, C. Farb and D.A. Ruggiero, Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala, *J Neurosci* 10 (1990) 1043-1054.
- [149] 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.
- [150] Y.C. Lee, L.O. Utenthal, H.A. Smith and S.R. Bloom, In vitro degradation of neurotensin in human plasma, *Peptides* 7 (1986) 383-387.
- [151] S.E. Leeman and R.E. Carraway, Neurotensin: discovery, isolation, characterization, synthesis and possible physiological roles, *Ann N Y Acad Sci* 400 (1982) 1-16.
- [152] S.E. Leeman, Mroz, E.A. and Carraway R.E, *Peptides in Neurobiology*, 99-144. Plenum Press, New York (1977.).
- [153] L. Lenard and Z. Hahn, Amygdalar noradrenergic and dopaminergic mechanisms in the regulation of hunger and thirst-motivated behavior, *Brain Res* 233 (1982) 115-132.
- [154] L. Lenard, Z. Hahn and Z. Karadi, Body weight changes after neurochemical manipulations of lateral amygdala: noradrenergic and dopaminergic mechanisms, *Brain Res* 249 (1982) 95-101.



- [155] L. Lenard and E. Kertes, Influence of passive avoidance learning by substance P in the basolateral amygdala, *Acta Biol Hung* 53 (2002) 95-104.
- [156] C.M. Leonard and J.W. Scott, Origin and distribution of the amygdalofugal pathways in the rat: an experimental neuroanatomical study, *J Comp Neurol* 141 (1971) 313-329.
- [157] B. Levant, G. Bisette and C.B. Nemeroff, Effects of anticholinergic drugs on regional brain neurotensin concentrations, *Eur J Pharmacol* 165 (1989) 327-330.
- [158] A.H. Li, H.M. Hwang, P.P. Tan, T. Wu and H.L. Wang, Neurotensin excites periaqueductal gray neurons projecting to the rostral ventromedial medulla, *J Neurophysiol* 85 (2001) 1479-1488.
- [159] A.H. Li, T.H. Yeh, P.P. Tan, H.M. Hwang and H.L. Wang, Neurotensin excitation of serotonergic neurons in the rat nucleus raphe magnus: ionic and molecular mechanisms, *Neuropharmacology* 40 (2001) 1073-1083.
- [160] K.C. Liang, J.L. McGaugh, J.L. Martinez, Jr., R.A. Jensen, B.J. Vasquez and R.B. Messing, Post-training amygdaloid lesions impair retention of an inhibitory avoidance response, *Behav Brain Res* 4 (1982) 237-249.
- [161] L.H. Lindstrom, E. Widerlov, G. Bisette and C. Nemeroff, Reduced CSF neurotensin concentration in drug-free schizophrenic patients, *Schizophr Res* 1 (1988) 55-59.
- [162] S.E. Loughlin and J.H. Fallon, Dopaminergic and non-dopaminergic projections to amygdala from substantia nigra and ventral tegmental area, *Brain Res* 262 (1983) 334-338.
- [163] D. Luttinger, R.A. King, D. Sheppard, J. Strupp, C.B. Nemeroff and A.J. Prange, Jr., The effect of neurotensin on food consumption in the rat, *Eur J Pharmacol* 81 (1982) 499-503.
- [164] H. Maeno, K. Yamada, Y. Santo-Yamada, K. Aoki, Y.J. Sun, E. Sato, T. Fukushima, H. Ogura, T. Araki, S. Kamichi, I. Kimura, M. Yamano, Y. Maeno-Hikichi, K. Watase, S. Aoki, H. Kiyama, E. Wada and K. Wada, Comparison of mice deficient in the high- or low-affinity neurotensin receptors, *Ntsr1* or *Ntsr2*, reveals a novel function for *Ntsr2* in thermal nociception, *Brain Res* 998 (2004) 122-129.
- [165] K.R. Magnusson, Aging of glutamate receptors: correlations between binding and spatial memory performance in mice, *Mech Ageing Dev* 104 (1998) 227-248.
- [166] L.K. Malendowicz and G.G. Nussdorfer, Modulatory action of neurotensin on the pituitary-adrenocortical function in rats: evidence for an acute dose-dependent biphasic effect, *Life Sci* 55 (1994) 201-205.
- [167] P.J. Manberg, W.W. Youngblood, C.B. Nemeroff, M.N. Rossor, L.L. Iversen, A.J. Prange, Jr. and J.S. Kizer, Regional distribution of neurotensin in human brain, *J Neurochem* 38 (1982) 1777-1780.
- [168] 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.
- [169] S. Martin, J.P. Vincent and J. Mazella, Involvement of the neurotensin receptor-3 in the neurotensin-induced migration of human microglia, *J Neurosci* 23 (2003) 1198-1205.

- [170] J. Mazella, Sortilin/neurotensin receptor-3: a new tool to investigate neurotensin signaling and cellular trafficking?, *Cell Signal* 13 (2001) 1-6.
- [171] J. Mazella, J.M. Botto, E. Guillemare, T. Coppola, P. Sarret and J.P. Vincent, Structure, functional expression, and cerebral localization of the levocabastine-sensitive neurotensin/neuromedin N receptor from mouse brain, *J Neurosci* 16 (1996) 5613-5620.
- [172] J. Mazella, N. Zsurger, V. Navarro, J. Chabry, M. Kaghad, D. Caput, P. Ferrara, N. Vita, D. Gully, J.P. Maffrand and J.P. Vincent, The 100-kDa neurotensin receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor, *J Biol Chem* 273 (1998) 26273-26276.
- [173] J.R. McDermott, A.I. Smith, J.A. Edwardson and E.C. Griffiths, Mechanism of neurotensin degradation by rat brain peptidases, *Regul Pept* 3 (1982) 397-404.
- [174] A.J. McDonald, Cortical pathways to the mammalian amygdala, *Prog Neurobiol* 55 (1998) 257-332.
- [175] A.J. McDonald and F. Mascagni, Cortico-cortical and cortico-amygdaloid projections of the rat occipital cortex: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study, *Neuroscience* 71 (1996) 37-54.
- [176] R.J. McDonald, Q. Lo, A.L. King, T.D. Wasiak and N.S. Hong, Empirical tests of the functional significance of amygdala-based modulation of hippocampal representations: evidence for multiple memory consolidation pathways, *Eur J Neurosci* 25 (2007) 1568-1580.
- [177] J.L. McGaugh, The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences, *Annu Rev Neurosci* 27 (2004) 1-28.
- [178] J.L. McGaugh, Memory--a century of consolidation, *Science* 287 (2000) 248-251.
- [179] J.L. McGaugh, L. Cahill and B. Roozendaal, Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems, *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (1996) 13508-13514.
- [180] 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.
- [181] J.L. McGaugh, C.K. McIntyre and A.E. Power, Amygdala modulation of memory consolidation: interaction with other brain systems, *Neurobiol Learn Mem* 78 (2002) 539-552.
- [182] W.R. Mehler, Subcortical afferent connections of the amygdala in the monkey, *J Comp Neurol* 190 (1980) 733-762.
- [183] M.M. Mesulam and E.J. Mufson, Insula of the old world monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito-temporal component of the paralimbic brain, *J Comp Neurol* 212 (1982) 1-22.
- [184] M.M. Mesulam and E.J. Mufson, Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function, *J Comp Neurol* 212 (1982) 38-52.
- [185] M.M. Moga and T.S. Gray, Evidence for corticotropin-releasing factor, neurotensin, and somatostatin in the neural pathway from the central nucleus of the amygdala to the parabrachial nucleus, *J Comp Neurol* 241 (1985) 275-284.
- [186] C.M. Moreira, S. Masson, M.C. Carvalho and M.L. Brandao, Exploratory behaviour of rats in the elevated plus-maze is differentially sensitive to

- inactivation of the basolateral and central amygdaloid nuclei, *Brain Res Bull* 71 (2007) 466-474.
- [187] N.J. Morris, S.A. Ross, W.S. Lane, S.K. Moestrup, C.M. Petersen, S.R. Keller and G.E. Lienhard, Sortilin is the major 110-kDa protein in GLUT4 vesicles from adipocytes, *J Biol Chem* 273 (1998) 3582-3587.
- [188] R. Morris, Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat, *J Neurosci Methods* 11 (1984) 47-60.
- [189] 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.
- [190] 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 [<sup>125</sup>I]Tyr<sup>3</sup>-neurotensin, *Neuroscience* 22 (1987) 525-536.
- [191] E.J. Mufson and M.M. Mesulam, Insula of the old world monkey. II: Afferent cortical input and comments on the claustrum, *J Comp Neurol* 212 (1982) 23-37.
- [192] R.D. Myers and T.F. Lee, Neurotensin perfusion of rat hypothalamus: dissociation of dopamine release from body temperature change, *Neuroscience* 12 (1984) 241-253.
- [193] A.V.S. N.P. Shugalev, G. Hartmann, L. Lénárd, Influence of neurotensin microinjections into dorsal raphe nucleus on passive avoidance performance in rats, *European Neuropsychopharmacology*, Volume 15, Supplement 2, 2005, Pages S148-S149 (2005.).
- [194] K. Nagai and L.A. Frohman, Hyperglycemia and hyperglucagonemia following neurotensin administration, *Life Sci* 19 (1976) 273-279.
- [195] J.A. Nagel and E.D. Kemble, Effects of amygdaloid lesions on the performance of rats in four passive avoidance tasks, *Physiol Behav* 17 (1976) 245-250.
- [196] M. Najimi, F. Souza, M. Mendez, E. Hermans, T. Berbar, W. Rostene and P. Forgez, Activation of receptor gene transcription is required to maintain cell sensitization after agonist exposure. Study on neurotensin receptor, *J Biol Chem* 273 (1998) 21634-21641.
- [197] E. Nalivaiko, J.C. Michaud, P. Soubrie and G. Le Fur, Electrophysiological evidence for putative subtypes of neurotensin receptors in guinea-pig mesencephalic dopaminergic neurons, *Neuroscience* 86 (1998) 799-811.
- [198] V. Navarro, S. Martin, P. Sarret, M.S. Nielsen, C.M. Petersen, J. Vincent and J. Mazella, Pharmacological properties of the mouse neurotensin receptor 3. Maintenance of cell surface receptor during internalization of neurotensin, *FEBS Lett* 495 (2001) 100-105.
- [199] C.B. Nemeroff, G. Bissette, A.J. Prange, Jr., P.T. Loosen, T.S. Barlow and M.A. Lipton, Neurotensin: central nervous system effects of a hypothalamic peptide, *Brain Res* 128 (1977) 485-496.
- [200] C.B. Nemeroff, G. Bissette, E. Widerlov, H. Beckmann, R. Gerner, P.J. Manberg, L. Lindstrom, A.J. Prange, Jr. and W.F. Gattaz, Neurotensin-like immunoreactivity in cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia, depression, anorexia nervosa-bulimia, and premenstrual syndrome, *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1 (1989) 16-20.

- [201] C.B. Nemeroff, D.E. Hernandez, R.C. Orlando and A.J. Prange, Jr., Cytoprotective effect of centrally administered neurotensin on stress-induced gastric ulcers, *Am J Physiol* 242 (1982) G342-346.
- [202] C.B. Nemeroff, J.S. Kizer, G.P. Reynolds and G. Bissette, Neuropeptides in Alzheimer's disease: a postmortem study, *Regul Pept* 25 (1989) 123-130.
- [203] A. Nicot, A. Berod, D. Gully, W. Rowe, R. Quirion, E.R. de Kloet and W. Rostene, Blockade of neurotensin binding in the rat hypothalamus and of the central action of neurotensin on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis with non-peptide receptor antagonists, *Neuroendocrinology* 59 (1994) 572-578.
- [204] A. Nicot, W. Rostene and A. Berod, Differential expression of neurotensin receptor mRNA in the dopaminergic cell groups of the rat diencephalon and mesencephalon, *J Neurosci Res* 40 (1995) 667-674.
- [205] A. Nicot, W. Rostene and A. Berod, Neurotensin receptor expression in the rat forebrain and midbrain: a combined analysis by in situ hybridization and receptor autoradiography, *J Comp Neurol* 341 (1994) 407-419.
- [206] A. Nicot, W.B. Rowe, E.R. De Kloet, C. Betancur, D.S. Jessop, S.L. Lightman, R. Quirion, W. Rostene and A. Berod, Endogenous neurotensin regulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and peptidergic neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus, *J Neuroendocrinol* 9 (1997) 263-269.
- [207] M.S. Nielsen, C. Jacobsen, G. Olivecrona, J. Gliemann and C.M. Petersen, Sortilin/neurotensin receptor-3 binds and mediates degradation of lipoprotein lipase, *J Biol Chem* 274 (1999) 8832-8836.
- [208] L. Nitecka and M. Frotscher, Organization and synaptic interconnections of GABAergic and cholinergic elements in the rat amygdaloid nuclei: single- and double-immunolabeling studies, *J Comp Neurol* 279 (1989) 470-488.
- [209] D. Nouel, P. Sarret, J.P. Vincent, J. Mazella and A. Beaudet, Pharmacological, molecular and functional characterization of glial neurotensin receptors, *Neuroscience* 94 (1999) 1189-1197.
- [210] W.T. O'Connor, S. Tanganelli, U. Ungerstedt and K. Fuxe, The effects of neurotensin on GABA and acetylcholine release in the dorsal striatum of the rat: an in vivo microdialysis study, *Brain Res* 573 (1992) 209-216.
- [211] T. Ono, H. Nishijo and T. Uwano, Amygdala role in conditioned associative learning, *Prog Neurobiol* 46 (1995) 401-422.
- [212] A.J. Osbahr, 3rd, C.B. Nemeroff, P.J. Manberg and A.J. Prange, Jr., Centrally administered neurotensin: activity in the Julou-Courvoisier muscle relaxation test in mice, *Eur J Pharmacol* 54 (1979) 299-302.
- [213] O.P. Ottersen, Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat and cat: II. Afferents from the hypothalamus and the basal telencephalon, *J Comp Neurol* 194 (1980) 267-289.
- [214] O.P. Ottersen, Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat with some observations in the cat. III. Afferents from the lower brain stem, *J Comp Neurol* 202 (1981) 335-356.
- [215] O.P. Ottersen, Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase, *J Comp Neurol* 205 (1982) 30-48.

- [216] J.A. Parkinson, T.W. Robbins and B.J. Everitt, Dissociable roles of the central and basolateral amygdala in appetitive emotional learning, *Eur J Neurosci* 12 (2000) 405-413.
- [217] G. Paxinos and C.R. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic Press, New York Second edition (1986).
- [218] C.M. Petersen, M.S. Nielsen, A. Nykjaer, L. Jacobsen, N. Tommerup, H.H. Rasmussen, H. Roigaard, J. Gliemann, P. Madsen and S.K. Moestrup, Molecular identification of a novel candidate sorting receptor purified from human brain by receptor-associated protein affinity chromatography, *J Biol Chem* 272 (1997) 3599-3605.
- [219] T. Petrov, T.L. Krukoff and J.H. Jhamandas, Chemically defined collateral projections from the pons to the central nucleus of the amygdala and hypothalamic paraventricular nucleus in the rat, *Cell Tissue Res* 277 (1994) 289-295.
- [220] R.C. Pierce and P.W. Kalivas, A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants, *Brain Res Brain Res Rev* 25 (1997) 192-216.
- [221] A. Pitkanen, Connectivity of the rat amygdaloid complex, In: Aggleton, J.P. (Ed.), *The Amygdala. A Functional Analysis.*, 2nd ed. Oxford Univ. Press. (2000.).
- [222] A. Pitkanen, V. Savander and J.E. LeDoux, Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala, *Trends Neurosci* 20 (1997) 517-523.
- [223] L.J. Porrino, A.M. Crane and P.S. Goldman-Rakic, Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys, *J Comp Neurol* 198 (1981) 121-136.
- [224] A.E. Power, Muscarinic cholinergic contribution to memory consolidation: with attention to involvement of the basolateral amygdala, *Curr Med Chem* 11 (2004) 987-996.
- [225] A.E. Power, C.K. McIntyre, A. Litmanovich and J.L. McGaugh, Cholinergic modulation of memory in the basolateral amygdala involves activation of both m1 and m2 receptors, *Behav Pharmacol* 14 (2003) 207-213.
- [226] A.E. Power, A. Vazdarjanova and J.L. McGaugh, Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation, *Neurobiol Learn Mem* 80 (2003) 178-193.
- [227] J.L. Price and D.G. Amaral, An autoradiographic study of the projections of the central nucleus of the monkey amygdala, *J Neurosci* 1 (1981) 1242-1259.
- [228] 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.
- [229] R. Quirion, S. Welner, S. Gauthier and P. Bedard, Neurotensin receptor binding sites in monkey and human brain: autoradiographic distribution and effects of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine treatment, *Synapse* 1 (1987) 559-566.
- [230] 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.
- [231] 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.
- [232] A. Rezaïof, M.R. Zarrindast, H. Sahraei and A.H. Haeri-Rohani, Involvement of dopamine D2 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat, *Pharmacol Biochem Behav* 74 (2002) 187-197.
- [233] F. Richard, S. Barroso, J. Martinez, C. Labbe-Jullie and P. Kitabgi, Agonism, inverse agonism, and neutral antagonism at the constitutively active human neurotensin receptor 2, *Mol Pharmacol* 60 (2001) 1392-1398.
- [234] R. Rivest, S. St-Pierre and F.B. Jolicoeur, Structure-activity studies of neurotensin on muscular rigidity and tremors induced by 6-hydroxydopamine lesions in the posterolateral hypothalamus of the rat, *Neuropharmacology* 30 (1991) 47-52.
- [235] T.A. Rizvi, M. Ennis, M.M. Behbehani and M.T. Shipley, Connections between the central nucleus of the amygdala and the midbrain periaqueductal gray: topography and reciprocity, *J Comp Neurol* 303 (1991) 121-131.
- [236] P. Robledo, R. Maldonado and G.F. Koob, Neurotensin injected into the nucleus accumbens blocks the psychostimulant effects of cocaine but does not attenuate cocaine self-administration in the rat, *Brain Res* 622 (1993) 105-112.
- [237] P. Robledo, T.W. Robbins and B.J. Everitt, Effects of excitotoxic lesions of the central amygdaloid nucleus on the potentiation of reward-related stimuli by intra-accumbens amphetamine, *Behav Neurosci* 110 (1996) 981-990.
- [238] P.P. Rompre, P. Bauco and A. Gratton, Facilitation of brain stimulation reward by mesencephalic injections of neurotensin-(1-13), *Eur J Pharmacol* 211 (1992) 295-303.
- [239] B. Roozendaal and J.L. McGaugh, Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats, *Eur J Neurosci* 9 (1997) 76-83.
- [240] F.T. Russchen, Amygdalopetal projections in the cat. I. Cortical afferent connections. A study with retrograde and anterograde tracing techniques, *J Comp Neurol* 206 (1982) 159-179.
- [241] F.T. Russchen, Amygdalopetal projections in the cat. II. Subcortical afferent connections. A study with retrograde tracing techniques, *J Comp Neurol* 207 (1982) 157-176.
- [242] N.J. Russo, 2nd, B.S. Kapp, B.K. Holmquist and R.E. Musty, Passive avoidance and amygdala lesions: relationship with pituitary-adrenal system, *Physiol Behav* 16 (1976) 191-199.
- [243] J.L. Sadoul, F. Checler, P. Kitabgi, W. Rostene, F. Javoy-Agid and J.P. Vincent, Loss of high affinity neurotensin receptors in substantia nigra from parkinsonian subjects, *Biochem Biophys Res Commun* 125 (1984) 395-404.
- [244] P. Sah, E.S. Faber, M. Lopez De Armentia and J. Power, The amygdaloid complex: anatomy and physiology, *Physiol Rev* 83 (2003) 803-834.
- [245] T.M. Saleh, S.B. Kombian, J.A. Zidichouski and Q.J. Pittman, Cholecystokinin and neurotensin inversely modulate excitatory synaptic transmission in the parabrachial nucleus in vitro, *Neuroscience* 77 (1997) 23-35.

- [246] B. Sanz, I. Exposito and F. Mora, Effects of neurotensin on the release of glutamic acid in the prefrontal cortex and striatum of the rat, *Neuroreport* 4 (1993) 1194-1196.
- [247] P. Sarret, A. Beaudet, J.P. Vincent and J. Mazella, Regional and cellular distribution of low affinity neurotensin receptor mRNA in adult and developing mouse brain, *J Comp Neurol* 394 (1998) 344-356.
- [248] P. Sarret, L. Gendron, P. Kilian, H.M. Nguyen, N. Gallo-Payet, M.D. Payet and A. Beaudet, Pharmacology and functional properties of NTS2 neurotensin receptors in cerebellar granule cells, *J Biol Chem* 277 (2002) 36233-36243.
- [249] P. Sarret, P. Krzywkowski, L. Segal, M.S. Nielsen, C.M. Petersen, J. Mazella, T. Stroh and A. Beaudet, Distribution of NTS3 receptor/sortilin mRNA and protein in the rat central nervous system, *J Comp Neurol* 461 (2003) 483-505.
- [250] P. Sarret, A. Perron, T. Stroh and A. Beaudet, Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system, *J Comp Neurol* 461 (2003) 520-538.
- [251] R.M. Schimpff, C. Avard, G. Fenelon, A.M. Lhiaubet, L. Tenneze, M. Vidailhet and W. Rostene, Increased plasma neurotensin concentrations in patients with Parkinson's disease, *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70 (2001) 784-786.
- [252] N.B. Schwartz and A. Kling, The Effect of Amygdaloid Lesions on Feeding, Grooming and Reproduction in Rats, *Acta Neuroveg (Wien)* 26 (1964) 12-34.
- [253] K.A. Seta, H.T. Jansen, K.D. Kreitel, M. Lehman and M.M. Behbehani, Cold water swim stress increases the expression of neurotensin mRNA in the lateral hypothalamus and medial preoptic regions of the rat brain, *Brain Res Mol Brain Res* 86 (2001) 145-152.
- [254] 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.
- [255] R.P. Sharma, P.G. Janicak, G. Bissette and C.B. Nemeroff, CSF neurotensin concentrations and antipsychotic treatment in schizophrenia and schizoaffective disorder, *Am J Psychiatry* 154 (1997) 1019-1021.
- [256] W.X. Shi and B.S. Bunney, Actions of neurotensin: a review of the electrophysiological studies, *Ann N Y Acad Sci* 668 (1992) 129-145.
- [257] W.X. Shi and B.S. Bunney, Roles of intracellular cAMP and protein kinase A in the actions of dopamine and neurotensin on midbrain dopamine neurons, *J Neurosci* 12 (1992) 2433-2438.
- [258] K. Shibata and T. Furukawa, The mammillary body, a potential site of action of neurotensin in passive avoidance behavior in rats, *Brain Res* 443 (1988) 117-124.
- [259] P.D. Shilling and D. Feifel, The neurotensin-1 receptor agonist PD149163 blocks fear-potentiated startle, *Pharmacol Biochem Behav* 90 (2008) 748-752.
- [260] J. Singh, T. Desiraju and T.R. Raju, Effects of microinjections of cholecystokinin and neurotensin into lateral hypothalamus and ventral mesencephalon on intracranial self-stimulation, *Pharmacol Biochem Behav* 58 (1997) 893-898.
- [261] D. Skrzydelski, A.M. Lhiaubet, A. Lebeau, P. Forgez, M. Yamada, E. Hermans, W. Rostene and D. Pelaprat, Differential involvement of intracellular domains of the rat NTS1 neurotensin receptor in coupling to G proteins: a molecular basis for

- agonist-directed trafficking of receptor stimulus, *Mol Pharmacol* 64 (2003) 421-429.
- [262] B.S. Slusher, A.E. Zacco, J.A. Maslanski, T.E. Norris, M.W. McLane, W.C. Moore, N.E. Rogers and L.J. Ignarro, The cloned neurotensin receptor mediates cyclic GMP formation when coexpressed with nitric oxide synthase cDNA, *Mol Pharmacol* 46 (1994) 115-121.
- [263] 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.
- [264] F. Souzae, Maintaining cell sensitivity to G-protein coupled receptor agonists: neurotensin and the role of receptor gene activation, *J Neuroendocrinol* 13 (2001) 473-479.
- [265] F. Souzae, W. Rostene and P. Forgez, Neurotensin agonist induces differential regulation of neurotensin receptor mRNA. Identification of distinct transcriptional and post-transcriptional mechanisms, *J Biol Chem* 272 (1997) 10087-10094.
- [266] W.H. Stapelfeldt and J.H. Szurszewski, Neurotensin facilitates release of substance P in the guinea-pig inferior mesenteric ganglion, *J Physiol* 411 (1989) 325-345.
- [267] 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.
- [268] R. Steinberg, P. Brun, J. Souilhac, I. Bougault, R. Leyris, G. Le Fur and P. Soubrie, Neurochemical and behavioural effects of neurotensin vs [D-Tyr<sup>11</sup>]neurotensin on mesolimbic dopaminergic function, *Neuropeptides* 28 (1995) 43-50.
- [269] A.J. Stoessl, Effects of neurotensin in a rodent model of tardive dyskinesia, *Neuropharmacology* 34 (1995) 457-462.
- [270] L.W. Swanson and G.D. Petrovich, What is the amygdala?, *Trends Neurosci* 21 (1998) 323-331.
- [271] E. Szigethy, K. Leonard and A. Beaudet, Ultrastructural localization of [125I]neurotensin binding sites to cholinergic neurons of the rat nucleus basalis magnocellularis, *Neuroscience* 36 (1990) 377-391.
- [272] K. Tanaka, M. Masu and S. Nakanishi, Structure and functional expression of the cloned rat neurotensin receptor, *Neuron* 4 (1990) 847-854.
- [273] H. Tanji, T. Araki, K. Fujihara, H. Nagasawa and Y. Itoyama, Alteration of neurotensin receptors in MPTP-treated mice, *Peptides* 20 (1999) 803-807.
- [274] 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.
- [275] A. Torocsik, A. Rakovska, T. Gorcs and E.S. Vizi, Effect of neurotensin and immunoneutralization with anti-neurotensin-serum on dopaminergic-cholinergic interaction in the striatum, *Brain Res* 612 (1993) 306-312.



- [276] K. Toth, K. Laszlo and L. Lenard, Role of intraamygdaloid acylated-ghrelin in spatial learning, *Brain Res Bull* 81 (2010) 33-37.
- [277] 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.
- [278] K. Touzani and L. Velley, Electrical self-stimulation in the central amygdaloid nucleus after ibotenic acid lesion of the lateral hypothalamus, *Behav Brain Res* 90 (1998) 115-124.
- [279] D. Treit and J. Menard, Dissociations among the anxiolytic effects of septal, hippocampal, and amygdaloid lesions, *Behav Neurosci* 111 (1997) 653-658.
- [280] 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.
- [281] G.R. Uhl, Distribution of neurotensin and its receptor in the central nervous system, *Ann N Y Acad Sci* 400 (1982) 132-149.
- [282] G.R. Uhl and M.J. Kuhar, Chronic neuroleptic treatment enhances neurotensin receptor binding in human and rat substantia nigra, *Nature* 309 (1984) 350-352.
- [283] G.R. Uhl and S.H. Snyder, Neurotensin receptor binding, regional and subcellular distributions favor transmitter role, *Eur J Pharmacol* 41 (1977) 89-91.
- [284] G.R. Uhl, P.J. Whitehouse, D.L. Price, W.W. Tourtelotte and M.J. Kuhar, Parkinson's disease: depletion of substantia nigra neurotensin receptors, *Brain Res* 308 (1984) 186-190.
- [285] M.O. Urban and D.J. Smith, Role of neurotensin in the nucleus raphe magnus in opioid-induced antinociception from the periaqueductal gray, *J Pharmacol Exp Ther* 265 (1993) 580-586.
- [286] H.G. Van Oyen, N.E. Van De Poll and J.P. De Bruin, Sex, age and shock-intensity as factors in passive avoidance, *Physiol Behav* 23 (1979) 915-918.
- [287] F. Vandenbulcke, 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.
- [288] J.G. Veening, Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 191-195.
- [289] J.G. Veening, Subcortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 197-202.
- [290] J.P. Vincent, J. Mazella and P. Kitabgi, Neurotensin and neurotensin receptors, *Trends Pharmacol Sci* 20 (1999) 302-309.
- [291] N. Vita, P. Laurent, S. Lefort, P. Chalon, X. Dumont, M. Kaghad, D. Gully, G. Le Fur, P. Ferrara and D. Caput, Cloning and expression of a complementary DNA encoding a high affinity human neurotensin receptor, *FEBS Lett* 317 (1993) 139-142.
- [292] N. Walker, I. Lepee-Lorgeoux, J. Fournier, C. Betancur, W. Rostene, P. Ferrara and D. Caput, Tissue distribution and cellular localization of the levocabastine-sensitive neurotensin receptor mRNA in adult rat brain, *Brain Res Mol Brain Res* 57 (1998) 193-200.

- [293] D.M. Wallace, D.J. Magnuson and T.S. Gray, Organization of amygdaloid projections to brainstem dopaminergic, noradrenergic, and adrenergic cell groups in the rat, *Brain Res Bull* 28 (1992) 447-454.
- [294] C.M. Waters, S.P. Hunt, P. Jenner and C.D. Marsden, Localization of neurotensin receptors in the forebrain of the common marmoset and the effects of treatment with the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, *Brain Res* 412 (1987) 244-253.
- [295] M. Watson, P.J. Isackson, M. Makker, M.S. Yamada, M. Yamada, B. Cusack and E. Richelson, Identification of a polymorphism in the human neurotensin receptor gene, *Mayo Clin Proc* 68 (1993) 1043-1048.
- [296] D.R. Weinberger and B.K. Lipska, Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground, *Schizophr Res* 16 (1995) 87-110.
- [297] E. Widerlov, L.H. Lindstrom, G. Besev, P.J. Manberg, C.B. Nemeroff, G.R. Breese, J.S. Kizer and A.J. Prange, Jr., Subnormal CSF levels of neurotensin in a subgroup of schizophrenic patients: normalization after neuroleptic treatment, *Am J Psychiatry* 139 (1982) 1122-1126.
- [298] S.S. Wolf, T.M. Hyde, R.C. Saunders, M.M. Herman, D.R. Weinberger and J.E. Kleinman, Autoradiographic characterization of neurotensin receptors in the entorhinal cortex of schizophrenic patients and control subjects, *J Neural Transm Gen Sect* 102 (1995) 55-65.
- [299] N.J. Woolf and L.L. Butcher, Cholinergic projections to the basolateral amygdala: a combined Evans Blue and acetylcholinesterase analysis, *Brain Res Bull* 8 (1982) 751-763.
- [300] M.L. Woolley, M. Haman, G.A. Higgins and T.M. Ballard, Investigating the effect of bilateral amygdala lesions on fear conditioning and social interaction in the male Mongolian gerbil, *Brain Res* 1078 (2006) 151-158.
- [301] R.H. Wurtz and J. Olds, Amygdaloid Stimulation and Operant Reinforcement in the Rat, *J Comp Physiol Psychol* 56 (1963) 941-949.
- [302] E. Yadin, E. Thomas, C.E. Strickland and H.L. Grishkat, Anxiolytic effects of benzodiazepines in amygdala-lesioned rats, *Psychopharmacology (Berl)* 103 (1991) 473-479.
- [303] M. Yamada, M. Yamada, A. Lombet, P. Forgez and W. Rostene, Distinct functional characteristics of levocabastine sensitive rat neurotensin NT2 receptor expressed in Chinese hamster ovary cells, *Life Sci* 62 (1998) PL 375-380.
- [304] M. Yamada, M. Yamada and E. Richelson, Heterogeneity of melanized neurons expressing neurotensin receptor messenger RNA in the substantia nigra and the nucleus paranigralis of control and Parkinson's disease brain, *Neuroscience* 64 (1995) 405-417.
- [305] D.H. Zald, The human amygdala and the emotional evaluation of sensory stimuli, *Brain Res Brain Res Rev* 41 (2003) 88-123.
- [306] M.R. Zarrindast, A. Rezaeifard, H. Sahraei, A. Haeri-Rohani and Y. Rassouli, Involvement of dopamine D1 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat, *Brain Res* 965 (2003) 212-221.

- [307] D. Zhao and C. Pothoulakis, Effects of NT on gastrointestinal motility and secretion, and role in intestinal inflammation, *Peptides* 27 (2006) 2434-2444.