

**Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola**

**A SUBSTANCE P MAGATARTÁSI HATÁSAI AZ  
AMYGDALA-BAN ÉS A GLOBUS PALLIDUSBAN**

**Doktori (PhD) Értekezés**

**KERTES ERIKA**

**Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Lénárd László**

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

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

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

**Pécs, 2009**

# Tartalomjegyzék

<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1. A globus pallidus</b> .....	<b>5</b>
1.1.1. A globus pallidus anatómiája .....	5
1.1.2. A globus pallidus szerepe az idegrendszerben.....	7
<b>1.2. Az amygdala</b> .....	<b>10</b>
1.1.1. Az amygdala anatómiája .....	10
1.1.2. Az amygdala szerepe az idegrendszerben.....	12
<b>1.3. A substance P</b> .....	<b>15</b>
1.3.1. A substance P felfedezése és jellemzése.....	15
1.3.2. A substance P receptorai és a receptor antagonisták.....	17
1.3.4. A substance P és receptorainak előfordulása.....	18
1.3.5. A substance P hatásai .....	20
<b>2. CÉLKITŰZÉSEK</b> .....	<b>25</b>
<b>3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1. Kísérleti állatok</b> .....	<b>26</b>
<b>3.2. Műtétek</b> .....	<b>26</b>
<b>3.3. Anyagok</b> .....	<b>27</b>
<b>3.4. Magatartási tesztek</b> .....	<b>28</b>
3.4.1. Helypreferencia teszt .....	29
3.4.2. Emelt keresztpalló teszt .....	30
3.4.3. Passzív elhárító teszt .....	32
<b>3.5. Az adatok kiértékelése.....</b>	<b>33</b>
3.5.1. Szövektan .....	33
3.5.2. Statisztika.....	33
<b>4. EREDMÉNYEK</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1. Szövegtani értékelés</b> .....	<b>34</b>
<b>4.2. A globus pallidusba injektált substance P hatásai</b> .....	<b>36</b>
4.1.1. Helypreferencia teszt .....	36
4.1.2. Emelt keresztpalló teszt .....	38
4.1.3. Passzív elhárító teszt .....	44

<b>4.3. Az amygdala centralis magjába injektált substance P hatásai.....</b>	<b>46</b>
4.2.1. Helypreferencia teszt .....	46
4.2.2. Emelt keresztpalló teszt .....	49
4.2.3. Passzív elhárító teszt .....	55
<b>4.4. Az amygdala basolateralis magjába injektált substance P hatásai.....</b>	<b>59</b>
4.3.1. Helypreferencia teszt .....	59
4.3.2. Passzív elhárító teszt .....	60
<b>5. DISZKUSSZIÓ .....</b>	<b>61</b>
<b>5.1. Az eredmények értékelése.....</b>	<b>61</b>
5.1.1. A Helypreferencia tesztek eredményeinek megvitatása.....	61
5.1.2. Az Emelt keresztpalló tesztek eredményeinek megvitatása.....	69
5.1.3. A Passzív elhárító tesztek eredményeinek megvitatása.....	76
<b>5.2. Az eredmények klinikai jelentősége.....</b>	<b>84</b>
<b>6. AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEGZÉSE.....</b>	<b>87</b>
<b>7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>88</b>
<b>8. A DISSZERTÁCIÓBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....</b>	<b>89</b>
<b>9. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>90</b>
<b>10. FÜGGELÉK</b>	
<b>A) TÁBLÁK</b>	
<b>B) PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK</b>	
<b>I. A disszertáció alapjául szolgáló publikációk</b>	
<b>II. Egyéb publikációk</b>	
<b>III. A disszertáció alapjául szolgáló konferenciaszereplések</b>	

## 1. BEVEZETÉS

Jelen dolgozat tárgya egy neuropeptid, a substance P (továbbiakban SP) magatartási hatásainak vizsgálata két agyterületen, a globus pallidusban (GP) és az amygdala-ban (AMY). Az állatok (és emberek) magatartásán általában azon változások összességét értjük, amelyek az egyed mozgásmintázatában és belső állapotában megjelennek, a dolgozatban azonban elsősorban a jutalmazásos és büntető szituációkban történő tanulásra, és memóriára fókuszálunk. A jutalmazásos tanulás során azt tanulja meg az egyed, hogy egy kellemes vagy élvezetet okozó helyzet eléréséhez vezető cselekedetet ismétljen meg, míg büntető szituációban a kellemetlen vagy veszélyes helyzeteket kell elkerülnie. Az egyed túlélése szempontjából fontos a megtanult összefüggések hosszabb távú „elraktározása” is a memóriában. Balesetek, vagy agyi keringési zavarok miatt kialakuló léziók, valamint egyes neurodegeneratív betegségek következtében sérülhet a tanulás, vagy az emlékezés képessége. A 65 évnél idősebb korosztály 10-15%-a szenved valamilyen mértékű, tanulásra, emlékezésre és gondolkozásra való képesség hanyatlásában, így ez gyakori és súlyos probléma.

A tanulási- és memóriafolyamatok szabályozásában főként a cholinerg-, és dopaminerg rendszereknek tulajdonítottak szerepet, napjainkra azonban egyre fontosabbá vált egyes neuropeptidok moduláló hatásának vizsgálata is. A substance P magatartási folyamatokat befolyásoló hatása ismert irodalmi adatok alapján: leírták pozitív és negatív megerősítő, tanulást serkentő hatását. Az SP számos neurotranszmitter-rendszerrel (dopamin, acetylcholin, glutamát) kapcsolatban áll, modulálja felszabadulásukat, illetve hatásaikat különböző agyterületeken. Számos betegség kapcsán igazolták az SP-tartalom változását bizonyos agyterületeken, így feltehetően szerepe van egyes neurodegeneratív betegségek kialakulásában. A *tanulási- és memóriafolyamatok szabályozásában* több agyi struktúra játszik szerepet, bizonyos kéregterületek mellett számos kéreg-alatti struktúra, köztük az amygdala jelentőségét emeli ki az irodalom. Az AMY a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik a motivációk, emocionális folyamatok, továbbá a tanulási-, és memóriafolyamatok szabályozásában. A globus pallidus régóta munkacsoportunk vizsgálatának tárgya. Mára kiderült, hogy e struktúra nem egyszerű kapcsolóállomás,

és nem csak a szenzoros-motoros integrációban fontos. Lézióját követően leírtak tanulási nehézségeket, és explorációs zavarokat open field tesztben, igazolták továbbá szerepét a *motoros memória* kialakításában, és a jutalmazásos tanulásban is. Mind a GP, mind az AMY gazdag SP-tartalmú idegvégződésekből és receptorokból, eddig azonban még nem vizsgálták az SP hatását e struktúrákban. A fenti adatok alapján kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy az SP hogyan befolyásolja a tanulási- és memória-folyamatokat e két agyterületen.

## **1.1. A globus pallidus**

### ***1.1.1. A globus pallidus anatómiája***

A globus pallidus (GP) a *kéregalatti törzsmagvak* (basalis ganglionok, BG) egyik struktúrája. A BG szerkezetileg és funkcionálisan eltérő magok összessége. További részei a nucleus caudatus és a putamen, amely két struktúrát együtt (dorsalis) striatumnak is nevezik (CPU), továbbá funkcionális szempontok alapján a törzsmagvakhoz sorolják még a substantia nigra-t (SN), a nucleus subthalamicust (STN) és a nucleus rubert. Az SN két részre osztható morfológiai, neurokémiai felépítése és funkciója alapján. A pars reticulata-ban (SNr) főleg  $\gamma$ -amino-vajsavat (GABA) tartalmazó sejtek találhatóak, míg a pars compacta (SNc) neuronjai főleg dopamint (DA) tartalmaznak. A GP felépítése megváltozott a filogenezis során: a főemlősökben külső és belső szegmentumból áll (GPe, illetve GPi), míg alacsonyabbrendű emlősökben - így patkányban is - a GP a főemlősök külső szegmentumának (GPe) felel meg, a belső szegmentum (GPi) pedig feltehetően az entopeduncularis magból (EPN) származtatható [47,111]. A BG a kéregből kiinduló és oda visszatérő hurokpálya feldolgozó állomásai, fő bemeneti állomásuk a CPU [281]. A BG legfontosabb afferense a *cortico-striatalis* pálya, további fontos afferens a *thalamo-striatalis* pálya, végül a *nigro-striatalis* pálya, ugyanis az SNc DA-ergias rostokon keresztül összeköttetésben áll az ipszilaterális striatum egészével [19,111,262]. A BG fő kimeneti állomásai a GPi (illetve patkányban az EPN) és az SNr [111,262]. A CPU-ból az információ két párhuzamos úton érheti el a kimeneti állomásokat, közvetlen – direkt – úton, valamint közvetett – indirekt – úton, a GPe-n és STN-n keresztül. A *striato-nigralis* és *striato-pallidalis* rostok neuropeptideket: enkefalint (ENK), dynorphint és SP-t is tartalmaznak [117]. A fő BG efferensek a

GPI-ből (patkányban az EPN-ből), valamint az SNr-ből a thalamusba vetülnek (*pallido-thalamicus* és *nigro-thalamicus* rostok), majd a thalamusból az információ visszajut a kéregbe, főleg a frontális kéreg premotoros mezőibe. A fő thalamikus kimenet mellett kimutatták a pedunculopontin tegmentalis mag (PPN), a lateralis habenula, a colliculus superior, valamint az agytörzs BG-ból eredő beidegzését is [111,262]. Tágabb értelemben a BG struktúrái közé sorolják a striatopallidális rendszer ventralis részét is, amely a ventralis pallidumból (VP), valamint a nucleus accumbens-ből (NAC) áll, ez utóbbi struktúrát ventralis striatumként is említi az irodalom. A NAC a ventralis tegmentalis areából (VTA) kap DA-erg beidegzést, valamint összeköttetésben áll az AMY basolaterális magjával, a thalamus-szal, limbikus kérgi területekkel, és a VP-be projiciál [121].

A patkány **GP** (a majom és ember GPe) fő afferense a striatumban ered. A striatum a corticalis bemenet tekintetében három fő területre osztható, a szenzoros-szomatomotoros, az asszociatív-kognitív és a limbikus területekre, a különböző striatalis területekről eredő rostok a GP-ben is meglehetősen jól elkülönülnek. (I. TÁBLA) [283]. A GP az STN-nel reciprok összeköttetésben áll, onnan főleg glutamaterg excitátoros rostokat kap [111]. Az SNc-ben eredő nigro-striatalis pálya áthalad a GP-n és kollaterálisokat ad le oda, így e magban is viszonylag magas a DA-szint [19]. A belső kapcsolatok mellett a GP, szerotoninergerg (5-HT) afferenseket kap a dorsalis raphe magból (DR), valamint acetylcholinerg (ACh) rostokat kap a PPN-ből [111,262]. Igazolták továbbá a *cortico-pallidalis* és *thalamo-pallidalis* rostok létét, a cortico-striatalis pályák kollaterálisai feltehetően a GP-t is beidegzik [111,262]. A patkány **GP** elsősorban a BG különböző struktúráiba küld rostokat. Nemcsak a striatum, hanem a GP projekciós sejtjeinek nagy része is GABA-erg, ezek a sejtek a *pallido-subthalamikus* pálya kiindulópontjai [111]. A GP továbbá GABA-erg rostokat küld az SN-be (*pallido-nigralis* rostok), valamint valószínűleg a feed-back szabályozásban szerepet játszó rostokat küld vissza a striatumba is (*pallido-striatalis* rostok) [111,166,262]. Feltehetően a két GP szegmentum is reciprok összeköttetésben áll [143]. Újabb adatok szerint a GP a BG összes magjába projiciál, így jelentősen befolyásolni tudja a kimenetei magok működését, nem csak közvetlenül, de közvetett úton is [283]. E projekciók mellett említést érdemel még kapcsolata a kéreggel, és a tegmentummal [111,262].

Számos vizsgálat igazolta, hogy a GP ventralis-medialis és dorsalis-lateralis része morfológiailag (peptidek eloszlása, projekciós célpontok) és funkcionálisan is eltérő [175,275]. Mint már említettük, a GP lateralis része a szenzoros-motoros striatalis területen eredő rostokat kapja elsősorban, míg a GP medialis csúcsa főként az asszociatív területéről érkező rostokat fogadja [111,262,283]. Embriológiai vizsgálatok szerint a lateralis HT (LH) és a ventralis-medialis GP közös eredetű [199], valamint a két struktúra közötti kétirányú kapcsolatok létét is igazolták [275]. A ventromedialis GP-t átmeneti területnek tekintik a dorsalis, motoros pallidum és a ventralis, limbikus pallidum között. A NAC a GP rostro-ventralis részébe küld rostokat, de az AMY, a hypothalamus (HT), a hippocampus (HPC) és a tuberculum olfactorium is összeköttetésben áll a GP e régiójával, így ez a terület feltehetően a motivációs folyamatokban is szerepet játszik, míg a GP caudalis-dorsalis része tisztán motoros funkciókkal rendelkezik [262,274,275,282].

### ***1.1.2. A globus pallidus szerepe az idegrendszerben***

A BG fő feladata a mozgások kontrollálása: a mozgások előkészítése, a megtanult mozgási mintázatok automatikus kivitelezése, motoros programok indítása és módosítása. Ezen kívül fontos szerepe van a szenzoros-motoros integrációban, a neocortexből, thalamusból és limbikus rendszerből kapott szenzoros információkat újrendszerbezi, kiszűri a szenzoros információk közül azokat, amelyek a motoros kontrollban fontos szerepet játszanak, majd ezek alapján megtervezi és programozza a mozgásokat [140,319]. A szenzoros-motoros integrációban feltehetően a GP-nek is szerepe van, kétoldali 6-OHDA lézióját követően szenzoros-motoros deficit, úgynevezett „szenzoros neglekt” alakul ki, a patkányok nem reagálnak megfelelően különböző szenzoros (vizuális vagy taktilis) ingerekre [208,319].

Egyre több adat igazolja, hogy a BG funkciója nem csupán a mozgás-programozás szenzoros-motoros integrációja, hanem a mozgások megtervezésében, a motoros programok kiválasztásában, valamint a motoros tanulásban, memóriában és a megtanultak előhívásában is fontos szerepe van. A striatum a nondeklaratív vagy procedurális memória-rendszer fontos komponense [66]. A caudatum különböző részeinek elektrolitikus léziója az aktív és passzív elhárító tanulás zavarát idézi elő, a teljesítményromlás mértéke függ a lézió helyétől [263]. A CPU elektromos ingerlése

rontja a hosszú távú memóriát [377]. Passzív elhárító szituációban az SNc egyoldali elektromos ingerlésének hatására romlik az állatok teljesítménye a retenciós teszt során [94]. A BG egyes részeinek hibás működése hozzájárulhat egyes kognitív zavarok kialakulásához is. Parkinson-kóros betegek vizsgálata során kimutatták, hogy a jellemző motoros szimptomák mellett a betegség gyakran jár a kognitív funkciók, a térbeli munkamemória, valamint a vizuális-térbeli memória romlásával [116]. A GP tanulásban és memóriefolyamatokban betöltött szerepét is számos eredmény támasztja alá. A GP elektrolitikus léziója gyengíti a helytanulást Morris-féle úsztatási tesztben, valamint radiális labirintusban [88,164]. Leírták továbbá a táplálékkal jutalmazott tanulás és memória deficitjét GP lézióit követően [176,319]. A GP excitotoxikus léziói gyengítették mind a tanulást, mind a retenciót vizuális és nem-vizuális diszkriminációs tanulás során, továbbá passzív és aktív elhárító szituációban [90,248,350]. Passzív elhárító szituációban a GP-be, a retenciós tesztet megelőzően adott lidokain szignifikánsan rontotta az állatok teljesítményét [109].

A GP-nek a táplálkozási magatartás szabályozásában betöltött szerepére utalnak az intézetünkben végzett korábbi kísérletek eredményei és további irodalmi adatok. E struktúra elektromos ingerlésével táplálkozási konzumatív motoros aktusok válhatnak ki patkányon (rágás, mellső végtagok száj felé mozgatása) [345]. A GP elektrolitikus léziója következtében hasonlóan súlyos táplálkozási zavarok lépnek fel, mint az LH lézióit követően [208]. A GP excitotoxikus lézióját követően afágia és adipositas lép fel, továbbá dramatikus testsúlycsökkenés, valamint metabolikus zavarok tapasztalhatóak [128,208]. Neurokémiai vizsgálatokkal igazolták glükóz-érzékeny sejtek létét majom és patkány GP-ben, valamint kimutatták, hogy csak e sejtek mutattak specifikus tüzelési ráta-változást különböző íz-, és szagingerekre. Igazolták továbbá, hogy e kemoszenzitív sejtek válaszkészségét jelentősen befolyásolja az állat motivációs állapota, eltérő a válaszadási készség kellemes és averzív ízekre, ismerős és ismeretlen ingerekre, illetve táplálékkal kapcsolatos és nem táplálékkal kapcsolatos szagingerekre. Ugyanezen glükóz-érzékeny sejtek komplex aktivitási mintázatot mutattak kondicionált táplálékkal kapcsolatos tanulási teszt során. E sejtek a GP rostralis, ventromedialis részén fordultak elő nagyobb számban [175,207]. A GP neuronjainak fontos szerepét igazolták továbbá az íz-információval kapcsolatos tanulás, memória és előhívás folyamataiban [147].



Számos adat utal arra, hogy a BG-nak szerepe lehet a jutalom előrejelzésében, motivációs folyamatokban, valamint a motiváció és a motoros funkciók integrációjában. Kimutatták, hogy a drog-addikció egyes formái, és bizonyos mentális betegségek, mint a schizofrenia, depresszió, hiperaktivitás, vagy a rögeszmés betegségek, összefüggenek a BG egyes struktúráinak abnormális működésével [20]. A striatum területén találtak olyan sejteket, amelyek tüzelési frekvenciája csak abban az esetben nőtt, ha a használt ingerek jutalmat jeleztek előre, továbbá olyan sejteket, amelyek tüzelési frekvenciája összefüggött az adott táplálék ösztönző-jutalmazó értékével [150,274]. Az SNc DA-erg sejtjeinek fontos szerepet tulajdonítanak a jutalmazásos tanulási folyamatokban és az addikcióban, az SN-be épített elektródával elektromos öningerlés építhető ki [60,325]. Számos adat utal arra, hogy a BG struktúrái közül a GP-nek is szerepe lehet a jutalmazó-pozitív megerősítő folyamatokban. A GP-be és a VP-be helyezett elektródával is kiépíthető volt elektromos öningerlés, továbbá a GP-ben is találtak táplálék-jutalomra specifikus sejteket [274,280]. Találtak olyan sejteket is ugyanezen agyterületeken, amelyek tüzelési frekvenciája az inger-kontextustól függően változott és aktivitásuk az elvárható jutalom mértékéhez adaptálódott [9,325]. A GPe és a GPi területén is találtak olyan sejteket, amelyek a várható jutalomra aktiválódtak [168]. Mikroinjekciós és léziós kísérletek igazolják a GP és VP szerepét az opiátok jutalmazó hatásának közvetítésében [156]. Emberben a GP szelektív kétoldali lézióját követően (amely mind a GPe-t, mind a GPi-t érintette), a motoros szimptómák mellett anhedoniát, depressziót és társas szituációkban tapasztalt csökkent örömeztet, valamint a korábban fennállt drog-függőség megszűnését írták le [246].

*A fenti adatok alapján tehát a GP nem csak az extrapyramidalis motoros rendszer kulcsfontosságú struktúrája, hanem szerepe lehet az inger-válasz asszociációkban, valamint perceptuális, motivációs, tanulási és memóriefolyamatok szabályozásában is. A ventromedialis GP-t átmeneti területnek tekintik a dorsalis, motoros pallidum és a ventralis, limbikus pallidum között. A GP kapcsolatban áll az AMY-val, a habenula magvakkal és a tegmentummal, valamint a BG összes magjába projiciál, tehát jelentősen befolyásolni tudja a kimenetei magok működését, így egy fontos integratív struktúra a BG bemeneti és kimeneti magjai között.*

## 1.2. Az amygdala

### 1.2.1. Az amygdala anatómiája

A XIX.sz elején Burdach azonosított egy mandula alakú szürkeállományt a temporalis lebeny csúcsában, az oldalkamra alsó szarva előtt, amit amygdala-nak (AMY) nevezett el. Az AMY nem egységes struktúra, több magra, illetve magcsoportra osztható, és ezt illetően még ma sincs teljes egyetértés az irodalomban. Kezdetben két nagy magcsoportra osztották: az olfactoros rendszerrel kapcsolatban álló, filogenetikailag régebbi corticomediale magcsoportra, valamint a filogenetikailag újabb basolaterale részre. További vizsgálatok során fény derült az AMY komplexitására. Embriológiai, citoarchitektonikai, neurotranszmitter eloszlási, afferenciációs és efferenciációs, valamint funkcionális szempontok alapján ma már több mint tíz magot különítenek el, amelyeket többféleképpen csoportosítanak [292,316,343]. Swanson citoarchitektonikai és neurokémiai alapon három nagy csoportra osztotta az AMY magjait, amelyeket egyrészt a striatum ventromediale kiterjesztésének, másrészt a szaglókéreg caudale végének, illetve a claustrum mediale kiterjesztésének tekintette. A striatale részhez tartozik a centrale (ACE) és a mediale (AMed) mag is, e területeken a projekciós neuronokban GABA a fő neurotranszmitter, jellemző továbbá a neuropeptidok jelenléte e neuronokban, hasonlóan a striatumhoz [51,112,238]. Az AMY többi régiójában elsősorban glutamát a transzmitter, GABA főleg az interneuronokban található és ott is csak kisebb denzitásban [237]. A claustrum ventromediale kiterjesztése tartalmazza többek között a laterale (ALat) és basolaterale (ABL) magot, mely utóbbit számos szerző basale magként említi. Az ABL azonban nem azonos a basolaterale komplex-szel, annál szűkebb értelemben használjuk a továbbiakban.

Az AMY kiterjedt kapcsolatrendszerrel rendelkezik (II TÁBLA). Számos területről kap szenzoros bemenetet: szomatoszenzoros, vizuális, hallási, valamint gusztátoros és viscerale kérgi területekkel áll kapcsolatban, továbbá összeköttetést mutattak ki a thalamus szenzoros információ-feldolgozásban szerepet játszó magjai és az AMY között is [201,362,363]. Az AMY számos asszociációs és limbikus kérgi területről is kap információt, így többek között az orbitofrontale (OBF), mediale prefrontale (PFC), prelimbikus és infralimbikus, insularis és anterior cingulare kéreg területéről. Afferens rostokat kap továbbá az entorhinalis és perirhinalis kéregből, míg

alig mutattak ki neocorticalis régiókból eredő rostokat [362]. Az AMY DA-erg beidegzést kap a VTA-ból, noradrenerg beidegzést a locus coeruleus-ból (LC), 5-HT-erg beidegzést a raphe magokból, ACh-erg beidegzést többek között a VP-ből [216,363]. Kapcsolatban áll továbbá a NAC-kal, valamint közvetve vagy közvetlenül a limbikus rendszer többi struktúrájával, többek között a septummal és a HPC egyes területeivel [1,363]. Ezen kívül a HT több struktúrája is innerválja az AMY-t [363]. Némileg eltérő az ABL és az ACE beidegzése. Az ABL DA-erg beidegzése a VTA-ból és SN-ből kevésbé jelentős, mint az ACE esetében [21,216]. Kimutatták a periaqueductalis szürkeállományban (PAG) és DR-ben eredő 5-HT- és ENK-erg rostok terminálisait is ezen agyterületen [211]. Az ACE ACh-erg rostokat kap a laterodorsalis tegmentalis magból, amelyek egy része SP-t is tartalmaz [289]. Az ACE fontos visceralis szenzoros információt kap a parabrachialis magon keresztül [380]. Fontos különbség továbbá, hogy az ABL összeköttetésben áll a HPC-val, míg az ACE onnan nem kap rostokat [1]. Az AMY-n belül kiterjedt *intra- és interdivizionális* kapcsolatrendszer mutatott ki [292]. Az ACE területén jelentős a többi AMY mag (ABL, AMed, ALat) terminális területeinek átfedése, e kapcsolat azonban többnyire egyirányú.

Az AMY két fő *kimenete* a stria terminalis és a ventralis amygdalofugalis pálya, amelyek a telencephalon és diencephalon struktúrái felé biztosítanak kapcsolatokat, valamint összekötik a két agyfélteke AMY magjait is [197,366]. A stria terminalis rostjainak nagy része az ACE-ban ered, de kimutatták az AMed-ből, és néhány ABL-ből eredő rostot is. E rostok fő terminális területei a stria terminalis beágyazott magja (bed nucleus of stria terminalis, BNST), a ventromedialis és lateralis HT, a medialis preopticus area, a thalamus, a középagyi tegmentum és a PAG [197,198]. Fontos célterület továbbá az agytörzs számos területe, amelyeknek a vegetatív működések szabályozásában van fontos szerepük (nucleus tractus solitarii, nucleus ambiguus, dorsalis motoros vagus mag, formatio reticularis) [197]. A ventralis amygdalofugalis pálya rostjai valószínűleg elsősorban a HT-val kötik össze az AMY magjait. Az ACE és az ABL eltérő efferenseinek és projekciós területeinek tekintetében is (II TÁBLA). Kimutatták az ABL denz glutamáterg projekcióját a NAC-ba, amely a DA varikozitások közelében végződik [374]. Az ABL-ből kiinduló rostok beidegzik a substantia innominata-t, de a HT és az agytörzs számos területét is innerválják [197].

Fontos az ABL és a PFC területeinek összeköttetése is: azon kérgi területeken mutatták ki ezt a kapcsolatot, amelyek a legerősebb DA-erg innervációt kapják, így a prelimbikus, infralimbikus és insularis kéreg, továbbá az anterior cingularis és az OBF kéreg területén [121]. Az ABL glutamáterg rostokat küld továbbá a CPU-ba, az előagyi ACh-erg memóriarendszerrel is összeköttetésben áll, emberben és főemlősökben a Meynert-féle basalis magba, patkányban az nucleus basalis magnocellularisba (NBM) küld rostokat [197]. Az ACE a HT-n és BNST-n kívül szintén kapcsolatban áll a NAC-kal, annak 'core' régiójával [184]. Fontos projekciós területei továbbá az SN, a VTA, az LC, a PAG, továbbá a parabrachialis mag is [249,305,366].

### ***1.2.2. Az amygdala szerepe az idegrendszerben***

Az AMY nemcsak struktúráját tekintve, hanem funkcionálisan is heterogén. A limbikus rendszer részeként szoros kapcsolatban áll a HT-val, azonban a többi limbikus struktúrától eltérően a BG-val is jelentős az összeköttetése. A limbikus rendszer alacsonyabbrendű gerincesekben elsősorban a *szaglás* szolgálatában állt, a filogenezis során csak később kapott új funkciókat, mint például a figyelem, orientáció, vagy a szexuális magatartás szabályozása. Az AMY komplexnek tehát számos különböző folyamatban tulajdonítanak szerepet, így az emóciók, figyelem, percepció, tanulás és memória szabályozásában. Az AMY különböző területeinek elektromos ingerlésével számos *vegetatív* változás előidézhető [187]. Az AMY a HT több magcsoportját is innerválja, továbbá az *agytörzs* számos struktúrájával, vegetatív szabályozó magjával is összeköttetésben áll: e kapcsolatokon keresztül vesz részt a vegetatív működések szabályozásában. Az AMY-nak szerepe van továbbá a *figyelmi, és ébredési* reakciók szabályozásában. A dorsalis régiók ingerlése az EEG deszinkronizációját okozza, a ventralis területek ingerlése szinkronizációt és alvást indukál [196]. Számos fajban, így majomban és patkányban is *hiperaktivitást* vált ki az AMY lézió [63,326]. Az AMY befolyásolja a folyadékfelvételt, valamint a sóéhséget [11,234]. Már korai kísérletek során tapasztalták, hogy az AMY ingerlése vagy léziója befolyásolja a *táplálkozási* magatartást [100,186]. Elektrolitikus léziós kísérletek során az AMY-ban, a HT-hoz hasonlóan, „éhség-”, és „jóllakottság-központokat” találtak, az amygdaláris központoknak azonban csak módosító hatása

van a HT szabályozó folyamataira [99]. Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján az AMY-t beidegző mezolimbikus DA-rendszer és az LC-ből eredő noradrenerg beidegzés valószínűleg egymással ellentétes irányban szabályozza a táplálékfelvételt [206]. Újabb kísérletekben az ACE és ABL területére injektált peptidok (bombesin, ghrelin és gastrin-releasing peptid) táplálékfelvétel-szabályozásban betöltött szerepét is igazoltuk [92,353,364].

Az AMY emlősökben fontos szerepet játszik az *emocionális magatartási folyamatok*, azaz az emóciókkal (félelem, düh, öröm, harag, agresszió) kapcsolatos viselkedés és tanulás szabályozásában [45]. Az AMY ingerlésével és léziójával számos emocionális reakció kiváltható, azonban az ingerlés, illetve lézió helyétől függően változik a hatás. A centralis és lateralis területek elektromos ingerlése félelmi és menekülési reakciókat váltott ki, és csökkentette az állatok agresszivitását, a medialisabb területek ingerlésének hatására védekezési és agresszív reakciók jelentek meg [28]. Az AMY-nak feltehetően a *szociális* interakciók szabályozásában is fontos szerepe van, léziója következtében csökken a szociális interakciók száma, kevésbé reagálnak a szociális interakciós jelekre az állatok, és gyakran reagálnak félelmi reakciók nélkül veszélyes helyzetekre [167,311]. Az AMY jelentős a *szorongással* kapcsolatos viselkedés szabályozásában. Az AMY egyes magjainak léziója szorongásoldó hatású [120]. Emberben igazolták az AMY fokozott aktivitóját szomorú, depressziós és egyes szorongó állapotokban [68]. Feltehetően az AMY diszfunkciójának szerepe van a generalizált szorongásos megbetegedések kialakulásában [115]. Az ACE összeköttetésben áll a PAG-gal és a DR-rel, amely agyterületeknek szintén szerepük van a fájdalommal és félelemmel kapcsolatos reakciók szabályozásában. Különböző anyagok (például benzodiazepinek (BZD), 5-HT antagonisták) adása ezen agyterületre anxiolitikus hatásúnak bizonyult [115,251,288,384]. Az ACE-ban és az ABL-ben megtalálhatóak opiát-, BZD-, és 5-HT-receptorok, amelyeknek fontos szerepet tulajdonítanak a szorongással kapcsolatos magatartási folyamatok szabályozásában [226,250,277,303,375].

Az AMY, a HPC és a striatum mellett a *munkamemória* vagy epizodikus memória fontos struktúrája [287]. E struktúrák azonban elsősorban az új információk feldolgozásában és kódolásában fontosak, a megtanultak tárolása nem itt történik. Irodalmi adatok azonban arra utalnak, hogy az AMY fontos lehet a *hosszú távú*

memória kialakításában is [42], elsődlegesen az emocionális memóriában, az erős érzelmi reakciókat kiváltó élmények megjegyzésében, akár pozitív, akár negatív az élmény [17,107]. Az AMY számos, a memóriát befolyásoló neuromodulátor rendszerre hatással van. Az adrenerg, opioid, GABA-erg, ACh-erg rendszerek működésének integrációjával és módosításával valószínűleg modulálja a más agyterületeken való emléknym-raktározást [240]. Léziós kísérletek eredményei alapján az AMY-nak fontos szerepe van az *averzív tanulási* paradigmák elsajátításában és az arra vonatkozó emléknymok előhívásában [70,202]. A kísérleti adatok alapján feltételezik, hogy az AMY a memórianyomok tárolását közvetve, efferenseinek aktiválásán keresztül módosítja, azáltal, hogy más agyi területek működését befolyásolja [240].

Az AMY-nak a fent említetteken kívül fontos szerepe van a tanulás (különösképpen az asszociatív tanulás), a *pozitív megerősítés* és drog-addikció folyamatainak szabályozásában [17]. Az AMY ingerlése lehet jutalmazó vagy büntető hatású, attól függően, hogy mely magokat ingerlik. Az AMY-ban elektromos öningerlés is kiépíthető [354,376]. Léziója gátolta a kokain-indukálta helypreferencia kialakulását [38]. Számos irodalmi adat alátámasztja az AMY, és különösen az ott található DA receptorok szerepét egyes drogok jutalmazó hatásának közvetítésében [43,302,307,385]. Az ACE léziójának hatására tanulási deficit alakul ki appetitív paradigmákban [284]. Az ABL-nek - egyes eredmények szerint - nincs szerepe a jutalmazásos tanulásban [284], azonban számos irodalmi adat ellentmond ennek. Az ABL reverzibilis inaktivációja meggátolta a helypreferencia kialakulását, míg léziója gátolta az amfetamin-önadagolást a NAC-ba [154]. ABL léziót követően, valamint az ABL-be adott DA D1-receptor antagonistá hatására megnőtt az i.v. kokain-önadagolási ráta [370].

*Az ACE fontos struktúra az asszociatív tanulásban, elsősorban a kondicionált félelemmel kapcsolatos tanulásban, lézióját követően zavart szenved a pavlovi instrumentális tanulás, valamint leírtak tanulási deficitet appetitív tanulási paradigmában is. Az ABL-nek számos olyan kéregterülettel van kapcsolata, amelyek a memória konszolidációban jelentősek. Igazolták továbbá mindkét terület fontosságát a szorongással, félelemmel kapcsolatos magatartás szabályozásában, továbbá az inger-jutalom asszociációk kialakulásában és a drog-addikció egyes formáiban.*

*Kiterjedt kapcsolataik révén számos agyterületről kapnak információt, amelyek integrációját követően befolyásolni tudják a magatartási folyamatok szabályozásában és kivitelezésében fontos struktúrák működését.*

### **1.3. A substance P**

#### **1.3.1. A substance P felfedezése és jellemzése**

Von Euler és Gaddum 1931-ben izoláltak ló bél- és agyszövetéből egy olyan anyagot, amely csökkentette a vérnyomást és simaizom-kontrakciót okozott, ezt a preparátumot P-anyagnak (*substance P*, SP) nevezték el [365]. A '70-es években sikerült tisztítani és a szerkezetét meghatározni, az SP a *tachykininek* családjába tartozó undekapeptidnek bizonyult, amely peptidek elnevezése abból adódott, hogy a simaizom-kontrakciót okozó hatásuk kifejlődése viszonylag gyors, a lassabb hatású bradykininéhez képest [54]. Számos tachykinint fedeztek fel nem- emlős fajokban, és rokon peptideket, úgynevezett neurokinineket (NK) azonosítottak emlősökben [89,174,247]. Két új decapeptidet NKA-nak illetve NKB-nek nevezték el, sőt később azonosítottak újabb tachykinineket is: a neuropeptid (NP) K-t, az NP $\gamma$ -t, valamint a hemokinin-1-et, és az endokinineket [145,170,279,348]. Minden eddig felfedezett tachykininben közös a C-terminális szekvencia: Phe – x – Gly – Leu – Met –NH<sub>2</sub> (I. Táblázat). Azonosították a tachykininek prekursor génjeit. A preprotachykinin (PPT)-A vagy TAC1 gén az SP-t, NKA-t, NPK-t, és az NP $\gamma$ -t kódolja, a PPT-B vagy TAC3 génből az NK-B képződik, a PPT-C vagy TAC4 génből pedig az EK-ek és a HK-1 keletkeznek [48,278]. A PPT-A gén eltérő 'splicing'-jával négy különböző SP-prekursor mRNS keletkezhet:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - és  $\delta$ -PPT-A, amelyek más-más tachykinin szekvenciákat tartalmaznak (III TÁBLA) [131,195]. Az SP hagyományos riboszomális mechanizmussal keletkezik [130], az idegvégződésekből Ca<sup>2+</sup>-függő mechanizmussal szabadul fel [151].

A tachykininek inaktivációja elsősorban enzimatis bontással történik, a C-terminális amid azonban rezisztensé teszi az SP-t a klasszikus aminopeptidázokkal és karboxi-peptidázokkal szemben [142]. Előfordulnak specifikusan SP-t bontó enzimek, mint az „SP-hidrolizáló enzim”, valamint az „SP-bontó enzim” (EC 3.4.24.-), ezek jelenlétét a központi idegrendszerben több munkacsoport is kimutatta [87,203]. Vannak nem specifikus peptidázok is, amelyek több más peptid mellett az SP-t is

képesek hasítani, ilyen pl. az enkefalináz vagy neutrális endopeptidáz (EC 3.4.24.11.), az acetylcholin-észteráz, az angiotenzin-konvertáló enzim, a poszt-prolin endopeptidáz, a dipeptidyl-aminopeptidáz IV, vagy a katepszin-D [10,29,58,336,367]. Ezek fiziológiás szerepe az SP degradációjában azonban nem bizonyított. Az inaktivációban a peptid preszinaptikus visszavételének valószínűleg nincs nagy szerepe, a teljes SP molekulát nem veszik fel sem a preszinaptikus idegvégződések, sem a gliasejtek [329].

Perifériás szövetekben kimutatták, hogy az SP, NKA és NKB C-terminális fragmentjei (hexa-, hepta, és oktapeptidek, SP(6-11), NKA(4-10), NKB(3-10)) hasonlóan hatásosak [299]. A központi idegrendszerben is kimutatták, hogy nem csak az intakt peptidek, hanem egyes fragmentjeik is aktívak, mind a C-terminális, mind az N-terminális fragmentek hatásosnak bizonyultak több magatartási paradigmában is [71,135,136,157].

**I. Táblázat:** A substance P és rokon peptidek szerkezete

<i>Emlősökben előforduló tachykininek (neurokininek)</i>	
Substance P:	H-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln- <b>Phe</b> -Phe- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Neurokinin A:	H-His-Lys-Thr-Asp-Ser- <b>Phe</b> -Val- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Neurokinin B:	H-Asp-Met-His-Asp-Phe- <b>Phe</b> -Val- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Neuropeptid K:	H-Asp-Ala-Asp-Ser-Ser-Ile-Glu-Lys-Gln-Val-Ala-Leu-Leu- -Lys-Ala-Leu-Tyr-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg- -His-Lys-Thr-Asp-Ser- <b>Phe</b> -Val- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Neuropeptid $\mathbb{I}$ :	H-Asp-Ala-Gly-His-Gly-Gln-Ile-Ser-His-Lys-Arg- -His-Lys-Thr-Asp-Ser- <b>Phe</b> -Val- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
<i>Nem- emlős fajokban előforduló tachykininek</i>	
Physalaemin:	Pyr-Ala-Asp-Pro-Asn-Lys- <b>Phe</b> -Tyr- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Kassinin:	H-Asp-Val-Pro-Lys-Ser-Asp-Gln- <b>Phe</b> -Val- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>
Eledoisin:	Pyr-Pro-Ser-Lys-Asp-Ala- <b>Phe</b> -Ile- <b>Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub></b>

(Erspamer et al. 1981, és Khawaja et al. 1996 nyomán)



### 1.3.2. A *substance P* receptorai és a receptor antagonisták

A '80-as években funkcionális és radioligand-kötő vizsgálatokkal két receptor-altípust találtak, amelyhez az SP kötődött, majd később egy harmadik altípus létét is felvetették [39,50]. Az egyes receptorokat az endogén ligandjaik iránti eltérő affinitás jellemzi, az SP legnagyobb affinitással az NK1 receptorhoz, az NKA az NK2 receptorhoz, míg az NKB leginkább az NK3 receptorhoz kötődik, azonban mindegyik tachykinin mindhárom receptorhoz kötődve képes hatást kifejteni [67,298]. Az egyes receptor-típusokon belül lehetnek további altípusok, vagy receptor-izoformák is, ugyanis egyes kompetitív antagonisták eltérően kötődnek különböző fajok tachykinin receptoraihoz [3,24,40]. A három receptor típus nagyon hasonló szerkezetű, a G-protein kapcsolt receptor családdhoz tartozó, hét hidrofób transzmembrán doménből álló polipeptidnek bizonyult (IV TÁBLA) [260]. Igazolódott továbbá, hogy mindhárom NK-receptor pertussis-toxinra inszenzitív típusú G-proteinekhez, nagy valószínűséggel a  $G_{q/11}$ ,  $G_s$  és/vagy  $G_o$  típusú GTP-t kötő proteinekhez kapcsolódik [312]. A fenti G-proteinek az inozitol-foszfolipid hidrolízist indítják be, a foszfolipáz  $C_1$  aktiválásán keresztül [258]. Egyes sejttípusokban azonban az SP hatásaiban feltételezhetően a cGMP-, vagy a cAMP-rendszernek is lehet szerepe [258,324].

A tachykinin antagonisták kutatása a '70-es évek elején kezdődött. Az SP-antagonisták *első generációját* úgy hozták létre, hogy a D-aminosavakat L-aminosavakra cserélték, ezek tehát peptid-analógok voltak, ilyen típusú antagonisták mindhárom receptortípushoz elérhetőek [98,313]. Ezen antagonisták használatának azonban több hátránya is volt: néhány antagonista nem csak a tachykininek, hanem pl. bombezin hatását is blokkolta [165]. Voltak, amelyek az idegsejtek degenerációját okozták, más antagonisták a hízósejtek degranulációját és hisztamin-felszabadulást idéztek elő [93,361]. Az antagonisták *második generációja* már szelektívebb és hatékonyabb volt, mint a korábbi peptid-derivátívumok. Ezek nagy affinitású ciklikus di-, tri-, vagy heptapeptid antagonisták voltak, illetve olyan molekulák, amelyekben a C-terminális szekvencia méretét és lipofilitását növelték [127,368]. A további újabb antagonisták benzil-csoportot tartalmaznak. Az antagonisták *harmadik generációjába* a nem-peptid természetű anyagok tartoznak, amelyek nagy szelektivitásúak, az enzimatis bontással szemben ellenállóak és átjutnak a vér-agy gáton, így orálisan is adagolhatóak. Ilyen antagonisták például a ( $\pm$ )CP-96345, a CP-

99994, vagy a WIN51,708 és a WIN62,577, amelyek szelektíven NK1 receptorhoz kötődnek (V TÁBLA) [3,337], valamint a specifikus NK2, illetve NK3 receptor antagonistá SR48968 és SR142801 [84,85].

### ***1.3.3. A substance P és receptorainak előfordulása***

Az SP-immunreaktivitás (SP-IR) elsősorban az idegrendszerre korlátozódik, megtalálható mind a perifériás, mind a központi idegrendszerben [7,213,276,334]. Biokémiai és autoradiográfiai analízissel vizsgálták a tachykinin-kötő helyeket, valamint a receptor mRNS előfordulást [227,276,315,334]. NK1 receptorok előfordulnak mind a központi idegrendszerben, mind a periférián, nagy denzitásban. Az NK2 receptorok főleg perifériás szövetekben találhatóak meg, a központi idegrendszerben csak a PFC, HPC, septum és a thalamus területén fordulnak elő. NK3 receptorokat főleg a központi idegrendszerben azonosították, azonban kisebb mennyiségben a gasztrointesztinális traktusban is előfordulnak. Az SP a periférián a legtöbb szövetben előfordul, megtalálható a *keringési*-, valamint a *légzőrendszerben* [103,217,301]. SP-IR rostokat és sejteket mutattak ki a *gyomor- bél traktusban*, nagy sűrűségben találhatóak SP-IR rostok a *vesemedencében* és az *ureterben*, valamint a *húgyhólyag falában*, továbbá a *lépben*, *thymusban* és a *nyirokcsomókban* is [97,219,222,228,331,369]. A periférián található SP-tartalmú idegrostok legnagyobb része a primer afferens neuronok perifériás ága, az SP-tartalmú rostok másik része az enterikus ganglionokból és néhány más vegetatív ganglionból ered, továbbá a perifériás szövetek néhány nem-neuronális sejtje is tartalmaz tachykinineket. A központi idegrendszerben SP-tartalmú sejtek több agyterületen, SP-IR rosthálózat széles eloszlásban található. Az SP legnagyobb denzitással a *gerincvelő* hátsó szarvában, főleg a substantia gelatinosa-ban fordul elő, ugyanakkor a gerincvelő elülső szarva is jelentős mennyiségű SP-t tartalmaz [149,173]. Az *agytörzs* magjai közül az *NTS*-ben fordul elő az SP a legnagyobb koncentrációban [179]. SP-IR rostokat találtak továbbá a *dorsalis vagus-magban*, a *raphe magokban* közepes sűrűségben, valamint az *LC*-ben [224,290]. Immunhisztokémiai vizsgálatok alapján elhanyagolható az SP mennyisége a *kisagyban* és az *agykéregben*, subcorticalis struktúrákban azonban magasabb a denzitása. Az emlős *hypothalamus* (HT) magas

SP-tartalmú, az SP-t először szarvasmarha HT extraktumból izolálták és jellemezték kémiaiailag [55].

Jelen kísérleteink szempontjából kiemelendők a kéregalatti *törzsdúcok* (BG) területén előforduló SP tartalmú sejtek és idegvégződésesek. A CPU-ban nagy denzitással fordulnak elő SP tartalmú sejtek és terminálisok, a GABA-erg projekciós sejtek mintegy 30-40 %-a SP-t is tartalmaz [117]. NK1 receptorok nagy számban fordulnak elő, míg NK2 és NK3 receptorok alig találhatóak [227,315]. Az SN az egyik legnagyobb SP tartalmú struktúra a központi idegrendszerben [7,213,276,334], azonban kevés NK2 receptort tartalmaz, NK1 receptort alig [227,276,315,334]. A GP területén mind SP-IR rostokat, mind NK1 receptorokat kimutattak, SP-tartalmú sejtesteket azonban csak elvétve találtak [334]. Főemlősökben és emberben a GPe-ben kis denzitásban fordul elő SP, míg a GPi és a VP nagy mennyiségben tartalmaz SP-terminálisokat, amelyeknek legnagyobb része a CPU-ban ered [124]. NK1 receptorok a GPe rostralis 1/3-ában, valamint a GPi caudalis 2/3-ában fordulnak, elő nagyjából azonos mennyiségben mindkét szegmentumban [254]. Patkány GP-ben SP-IR rostokat közepes-nagy sűrűségben mutattak ki, amelyek elsősorban a fő kimenetet képező GABA-ergias sejteken végződnek [166]. NK1 receptorokat közepes sűrűségben találtak, a medialis-ventralis részen nagyobb, míg lateralis részen kisebb denzitással, NK3 receptorokat is kimutattak itt, de csak néhány roston, és közepes számú sejten [315]. A *limbikus rendszeren* belül az SP és receptorai megtalálhatóak a HPC-ban kis denzitásban, a medialis és lateralis *septum* magokban közepes-nagy denzitásban [105,106]. Az AMY-ban mind sejtek, mind rostok és receptorok is előfordulnak, azonban az egyes magokban eltérő a denzitásuk. SP-tartalmú sejtek szinte kizárólag az AMed-ben, és az ACE-ban fordulnak elő, az ABL-ben nem találhatóak [306]. Ezek a sejtek egy denz intrinzik plexust hoznak létre az AMY-ban, valamint az LH-ba és a BNST-be is küldenek rostokat [317]. SP-IR rostok az AMed-ben találhatóak legnagyobb denzitásban, az ACE-ban is nagy mennyiségben fordulnak elő, míg a többi magban kisebb denzitásúak [306,334]. NK1 receptorokat az ACE-ban mutattak ki a legnagyobb sűrűségben, míg a többi magban közepes denzitásban fordulnak elő, az ABL-ben kevés sejten, alacsony sűrűségben találhatóak [334]. Az AMY-ban NK3 receptorok is előfordulnak, legnagyobb sűrűségben az ABL-ben, ahol mind rostokon, mind sejteken megtalálhatóak, az ACE-ban jóval

kisebbségben mutathatók ki e receptorok [315]. Az ACE-ban tehát mind SP-IR sejtek, mind rostok előfordulnak közepes-nagy sűrűségben, valamint NK1 receptorok nagy számban, azonban NK3 receptorok alig találhatók meg. Az ABL-ben szintén előfordulnak SP-immunoreaktív sejtek és rostok, valamint NK1 receptorok is de jóval kisebb denzitásban, mint az ACE-ban, NK3 receptorok azonban nagyobb sűrűségben találhatók.

#### ***1.3.4. A substance P hatásai***

A tachykininek általában depolarizálják a membránt, SP beadása lassú, több 10 s-ig tartó depolarizációt indukált in vitro és in vivo, amely gátlható volt tachykinin-antagonisták, illetve SP-antitestek adásával [270,297]. A depolarizáció létrehozásának fő mechanizmusa valószínűleg a  $K^+$ -konduktancia csökkentése [340]. Lembeck feltételezte először, hogy az SP szenzoros neurotranszmitterként funkcionál [204]. Az SP a legnagyobb denzitással a gerincvelő hátsó szarvában, főleg a substantia gelatinosában fordul elő, az SP itt valószínűleg a primer afferensek terminálsaiban lokalizált [52,65,149]. Valószínű az is, hogy az SP-IR rostok kapszaicin-érzékeny, polimodális velőtlen C-rostok, ú.n. nociceptorok [236,257]. A tachykinineknek fontos szerepük lehet ugyanakkor egyes *motoros* folyamatokban, SP-IR axonok szinaptizálnak a gerincvelő motoneuronjainak dendritjein, továbbá SP iontoforetikus adása a motoneuronokon excitátoros hatású volt [291,360].

Az SP perifériás hatásai közül csak néhányat emelünk ki. A tachykininek a *keringési rendszerben* valószínűleg szerepet játszanak a coronaria-keringés szabályozásában, a vérerek mentén található rostokból felszabaduló SP pedig hatásos vasodilatátor [220,229]. A *légzőrendszerben*, a trachea és a bronchusok falában az SP fokozza a mirigyszekréciót, és a ciliumok aktivitását, valamint nagyon hatásos bronchoconstrictor anyag, így valószínűsíthető szerepe az allergiás reakciók és az asztma kialakulásában [218,320]. A *gyomor- bél traktusban* az SP fokozza a béltraktus motilitását, részben direkt, részben indirekt úton, ACh-felszabaduláson keresztül [15,221]. Kimutatták, hogy mind az oesophagusban, mind az ileumban az SP és feltehetően az NKA szerepet játszik a kapszaicin kontraktilis hatásának közvetítésében [16]. Befolyásolja továbbá elektrolitok és víz szekrécióját a béllumenbe, valamint szerepe van a gyomornyálkahártya ulcerogén hatásokkal

szembeni védelmében [239,347]. Az SP hatással van a pancreas exokrin és endokrin működésére, valamint az epeürülésre [146,178,285]. Fokozza továbbá a *vesén* átáramló vér mennyiségét, a glomerulus-filtrációs rátát, és csökkenti a renin-felszabadulást, így fokozódik a nátrium-kiválasztás és nő a vizelet mennyisége [74,122]. Az ureterben erősíti a spontán perisztaltikát, fokozza a kontraktilitást, húgyhólyagon facilitálja a vizeletürítési reflexet [155,222]. Szerepe lehet a szem irritánsokkal szembeni védelmében, a könnysekreáció szabályozásában, NK1 receptor antagonistá előkezelés ugyanis gátolta a ganglion trigeminale elektromos ingerlésével kiváltott könnysekreáció-fokozódást patkányban [190]. Befolyásolja az *immunrendszer* működését is: stimulálja citokinek felszabadulását, a lymphocyták proliferációját, valamint fokozza a sejtek IgA és IgM-szintézisét, serkenti továbbá a hisztamin-felszabadulást hízósejtekből [327]. Egyes szerzők nem tulajdonítanak szerepet a tachykinineknek a neutrophil granulocyták akkumulációjában, míg más adatok szerint normál egér tüdőre ugyan nincs hatással, azonban gyulladós területeken erősíti az IL-1 $\beta$ -indukálta neutrophil-akkumulációt [13,44].

Tekintélyes mennyiségű adat található a szakirodalomban az SP 'szenzoros efferens' vagy 'lokális effektor' hatásáról. A CGRP mellett az SP-nek is fontos szerepet tulajdonítanak a neurogén gyulladások kialakulásában [108,322]. Egyes kapszaicin-érzékeny afferens neuronok perifériás terminálisain mindkét peptid felszabadul lokálisan, elektromos, vagy kémiai ingerek (kapszaicin, bradykinin) hatására [144,264]. A felszabadulást követően befolyásolják az érfalak simaizom-tónusát, így az érátmérőt és a lokális vérátáramlást [36]. Fokozzák továbbá az érpermeabilitást, így feltehetően szerepet játszanak a gyulladást kísérő ödéma kialakulásában [205]. Kapszaicin-deszenzitizációval, amely a kapszaicin-érzékeny szenzoros neuronok peptidtartalmát kiüríti, valamint NK1 receptor antagonistá előkezeléssel gátolható volt a mustárolajjal kiváltott ödéma kialakulása [13].

Számos anatómiai adat mellett elektrofiziológiai és magatartási vizsgálatok is alátámasztják, hogy az SP *fájdalom* közvetítésében szerepet játszó neurotranszmitter. Duggan és munkatársai kimutatták, hogy fájdalmas ingerlés hatására SP szabadul fel, De Koninck munkacsoportja pedig igazolta, hogy az SP aktiválja a másodrendű neuronokat a gerincvelőben [73,78]. Németh és munkatársai kimutatták például, hogy az endogén kannabinoid-ligand anandamid, amely számos akut fájdalom-modellben

antinociceptív hatásának bizonyult, dóziszfüggő módon befolyásolja a kapszaicin-érzékeny szenzoros idegvégződésekből történő peptid-felszabadulást, kis dózisa gátolta, míg nagyobb dózisa serkentette az SP, CGRP és somatostatin felszabadulást patkány tracheában [265]. SP intrathecalis injekciója harapdálást és vakaródzást váltott ki egerekben, amelyet a fájdalom jeleként értékelnek, az SP e hatásait NK1 receptor antagonisták kivédtek [4,161]. Az SP több olyan központi idegrendszeri struktúrában is megtalálható, amelynek szerepe van a fájdalom kontrollálásában, így a PAG-ban és a raphe magokban is [211].

Az SP-nek szerepe lehet a *kardiovaszkuláris szabályozásban*, és valószínűleg a baro- és kemoreceptor afferensek neurotranszmittere is [125,256]. A tachykinineknek szerepet tulajdonítanak a testhőmérséklet szabályozásában, SP mikroinjekciója a HT preoptikus areájába, vagy i.c.v. adása testhőmérséklet emelkedést okozott, amely NK1 receptor antagonistákkal előkezeléssel kivédhető volt [12,346]. Számos olyan agyterületen nagy mennyiségben találhatóak NK receptorok, amelyeknek szerepet tulajdonítanak a só- és vízháztartás szabályozásában, így a HT supraopticus és paraventricularis magjai, a zona incerta, valamint az AMY területén [276,315,334].

Az SP, i.c.v. adását követően, fokozza a *lokomotoros* aktivitást, és egyes *sztereotip magatartási formák* megjelenését [83,181]. A HT-ba adva a kardiovaszkuláris hatások mellett magatartási ébresztő reakciók is bekövetkeznek: fokozott lokomóció, vakaródzás, bőr harapdálása, mosakodás [358]. Huston és munkatársai kimutatták, hogy az NBM-be adott SP csökkentette a mosakodási és ágaskodási mozgásformák előfordulásának gyakoriságát, a lokomócióra és az explorációs aktivitásra azonban nem volt hatással [157].

Egyes agyterületekre adva az SP hatással van a *tanulási és memória-folyamatokra*. Számos kísérletben igazolták a perifériásan vagy centrálisan adott SP hatását a tanulásra, passzív elhárító szituációban. SP perifériás (i.p.) injekciója dóziszfüggő módon facilitálta a helytanulást idős patkányokban, vízi labirintusban [138]. Radiális labirintusban szintén kimutatták pozitív hatását mind a rövidtávú, mind a hosszú távú memóriára, igazolták továbbá a perifériás SP-kezelés tanulást facilitáló hatását a passzív elhárító tanulásra [136]. Az SP tanulást serkentő hatása intracranialis injekciókat követően is igazolódott, az SP elősegítette a passzív elhárító tanulást i.c.v. beadást követően, valamint az LH-ba, és az NBM-be, valamint

a septumba adva [159,342]. Néhány kísérletben azonban az SP gátolta a tanulást passzív elhárító szituációban; gyengítette a tanulást a sokkolást követő SP injekció az AMed-ben, valamint az SN-ben [31,159].

Az SP *pozitív megerősítő* hatását írták le helypreferencia tesztben perifériás injekcióját követően [137,157,272], valamint a lateralis HT-ba, a medialis septumba, illetve az NBM-be injektálva [133,135,137,152,341]. Az intra-NBM SP injekciókkal kiváltott jutalmazó hatás blokkolható volt NK1 receptor antagonistával [268]. A striatum ventromedialis részében kémiai öningerlés volt kiépíthető SP-vel [193]. A kísérletek során az SP-nek nem csak pozitív megerősítő, hanem averzív hatását is kimutatták egyes agyterületeken, például a PAG területére injektálva. A PAG-ba injektált SP hatására létrejött kondicionált averzió kialakulása szintén gátolható volt NK1 receptor antagonista perifériás adásával [72]. Az SN-be és az AMed-be injektált SP hatása a helypreferencia tesztben nem egyértelműen averzív, inkább kevert volt [341].

Az SP-nek hatása van továbbá a félelemmel, *szorongással* kapcsolatos magatartás szabályozására. Irodalmi adatok szerint az SP-nek lehet mind szorongáskeltő (anxiogén), mind szorongásoldó (anxiolitikus) hatása is, a beadás helyétől és az alkalmazott dózistól függően. Az oldalsó agykamrába adott SP agonisták anxiogén hatását mutatták ki Emelt keresztpalló tesztben egerekben, amely hatás NK1 és NK2 receptor antagonistával blokkolható volt [349]. SP agonisták a PAG-ba vagy a lateralis septumba injektálva szorongáskeltő hatásúnak bizonyultak [71,110]. Kimutatták az SP anxiogén hatását az AMed-ben is, Emelt keresztpalló tesztben [82]. SP antagonista önmagában adva anxiolitikusnak bizonyult szociális-interakció teszt során, valamint Emelt keresztpalló tesztben [56,349]. Újabb vizsgálatokban az SP szisztémás (i.p.) adása, valamint az NBM területére történő mikroinjekciója - az előzőekkel ellentétben - anxiolitikusnak bizonyult, amely hatást NK1 receptor antagonista előkezelés blokkolta [139,267].

Az SP hatásai, a többi peptidhez hasonlóan, dóziszfüggést mutatnak. Általában fordított U-alakú dózis-hatás összefüggést kaptak különböző dózisok beadását követően, számos paradigmában. A különböző paradigmákban az SP alacsony dózisa (0,1 és 5 ng.) és nagy dózisa (75, 100, és 370 ng) hatástalan volt, míg a közepes dózisa (0,75; 1,0; 7,5; 25 és 50 ng) fejtett ki hatást [133,158,349]. Az SP dóziséből is

függött továbbá, hogy az SP hatása pozitív megerősítő-jutalmazó vagy averzív, illetve anxiolitikus vagy anxiogén volt. Alacsony dózisa bizonyult pozitív megerősítő és szorongás-oldó hatásúnak, míg nagy dózisa averzív illetve szorongás-fokozó volt.

*Az SP és receptorai tehát számos agyterületen előfordulnak, közöttük a GP, ACE és ABL területén is kimutathatóak. Az SP tanulást serkentő, pozitív és negatív megerősítő hatását kimutatták számos agyterületen, valamint igazolták, hogy szerepet játszik a félelemmel–szorongással kapcsolatos magatartási folyamatok szabályozásában. Az SP hatása azonban az említett magatartási folyamatokra a GP és az AMY területén nem ismert.*



## 2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Kimutatták az SP pozitív megerősítő hatását több agyterületen, köztük a BG területén. A GP ventralis-medialis területének a mozgás-szabályozás mellett szerepe van a jutalmazásos tanulási folyamatokban. Az ACE és ABL fontos szerepet játszik a jutalmazó-pozitív megerősítő folyamatokban, és egyes pszichostimulánsok hatásának közvetítésében. Ezért vizsgáltuk a GP ventromedialis részébe, valamint az AMY e két magjába adott SP pozitív megerősítő hatását Helypreferencia tesztben.
2. A Helypreferencia teszt során az állatok az apparátus egy adott részében több időt töltenek, mint a többi részen. Ez lehetne hipoaktivitás következménye is, amely magyarázható lehet az anyag szorongás-keltő, -fokozó hatásával. Az SP-nek mind szorongás-fokozó, mind szorongás-oldó hatását kimutatták, eltérő agyterületekre adva, különböző dózisban. Ezért megvizsgáltuk, hogy a fenti struktúrákba adott SP-nek van-e hatása az állatok szorongására Emelt keresztpalló tesztben.
3. A GP elektrolitikus és excitotoxikus lézióit követően tanulási zavarokat mutattak ki passzív és aktív elhárító paradigmákban. Az AMY egyes magjainak fontos szerepet tulajdonítanak a büntető szituációkban történő tanulási folyamatokban. Kimutatták továbbá az SP tanulást serkentő és rontó hatását is passzív és aktív elhárító tanulás során. Vizsgáltuk ezért a GP-be, az ACE-ba és az ABL-be adott SP hatását a tanulásra Passzív elhárító paradigmában, gyenge sokkot alkalmazva. Megvizsgáltuk továbbá az SP hatását a memóriára Passzív elhárító paradigmában, erős sokk adását követően.
4. Mivel mind a GP-ben, mind az ACE-ban és az ABL-ben NK1 receptorok nagy denzitásban elő fordulnak, ezért NK1 receptor antagonistákkal előkezeléssel próbáltuk igazolni e receptorok szerepét az SP jutalmazó-pozitív megerősítő, anxiolitikus vagy anxiogén, valamint tanulást serkentő hatásának közvetítésében.

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. Kísérleti állatok

Vizsgálatainkhoz összesen 570 db, a kísérletek kezdetekor 280-320g testtömegű, hím Wistar laboratóriumi patkányt használtunk. A műtétek előtt egy héttel az állatokat külön ketrecekben helyeztük el az állatházban, ahol 12 óra világos (reggel 6 órai kezdettel) és 12 óra sötét periódus váltotta egymást. Az állatház klimatizált hőmérséklete  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , páratartalma  $55 \pm 10\%$  volt. A kísérletek alatt a patkányok vizet és szilárd tápot (CRLT/N egységes rágcsálótáp, Bioplan Bt., Budapest, Magyarország) szabadon fogyaszthattak. A magatartási tesztek a nappali periódusban végeztük, 08:00 és 17:00 h között. Az állatokat az egyetemen ill. a nemzetközileg érvényes állatetikai szabványoknak megfelelően kezeltük (Pécsi Tudományegyetem, ill. European Union Council Directive 86/609/EEC, National Institutes of Health Guidelines for Laboratory Animals).

#### 3.2. Műtétek

A műtétek során a narkózishoz ketamin és diazepam keverékét alkalmaztunk 4:1 arányban, intraperitoneális injekcióban (ketamin: Calypsol, 80 mg/ testtömeg kg; diazepam: Seduxen, 20 mg/ testtömeg kg; Richter Gedeon Rt., Magyarország). Sztereotaxikus műtétek során bilaterálisan 22 gauge (0,644mm) átmérőjű rozsdamentes acél vezetőkanyulokat ültettünk be a GP ventralis részéhez, az ACE-hoz, és az ABL-hez, a kanyulok vége mindegyik struktúra esetén 1 mm-rel a célterület fölött volt. A célterületek koordinátái Paxinos és Watson sztereotaxikus atlasza [286] szerint a következők voltak: a GP ventralis része esetében: AP: - 1,4mm, ML:  $\pm 3,4\text{mm}$ , DV: - 6,4mm; az ACE esetében: AP: - 2,3mm, ML:  $\pm 4,1\text{mm}$ , DV: - 6,5mm; az ABL esetében: AP: - 2,8mm, ML:  $\pm 5,0\text{mm}$ , DV: - 6,6mm; a bregmához viszonyítva, illetve a dura felszínétől számítva. A vezetőkanyulokat két rozsdamentes csavarral és fogászati akriláttal (Duracryl, Dental, Csehország) rögzítettük a koponyacsontoz. A kísérletek megkezdéséig a vezetőkanyulokat 27 gauge (0,361mm) átmérőjű rozsdamentes acéldugóval zártuk le. Műtét után öt napot pihentek az állatok. Az ötödik posztoperatív napra testtömegük elérte vagy meghaladta a preoperatív értéket,

ami jelezte, hogy felépültek a műtétből. Ez idő alatt az állatokat a kísérleteket végzők kezéhez szoktattuk (handling).

### 3.3. Anyagok

Kísérleteink során az SP-t (S 6883, Sigma-Aldrich Co., USA) két különböző dózisban alkalmaztuk: 10 ng-os (7,42 pmol) és 100 ng-os (74,2 pmol) dózist injektáltuk 0,4 µl térfogatban. A peptidet 0,01M Na-acetátot és 0,01M foszfát puffert tartalmazó fiziológiás NaCl oldatban oldottuk fel (pH 7,4). A kontroll állatok ezt a vivőanyagot kapták (*Veh1*) bilaterálisan, az SP injekciókkal azonos térfogatban. A nem peptid típusú NK1 receptor antagonistá W-103 (WIN51,708 (W-103, Sigma-Aldrich Co., USA) a hatékony SP dózissal közel ekvimoláris, 5 ng (11,4 pmol) dózist használtuk szintén 0,4 µl-ben. Az antagonistát 0,3% dimetil-szulfoxidot (DMSO) és 0,01M foszfát puffert tartalmazó fiziológiás NaCl oldatban oldottuk fel (pH 7,4), ezt az oldatot (*Veh2*) injektáltuk a Kontroll állatok esetében bilaterálisan az antagonistá injekciókkal azonos térfogatban. Az oldatokat tartalmazó csöveket a kísérletek ideje alatt + 4°C-on tartottuk.

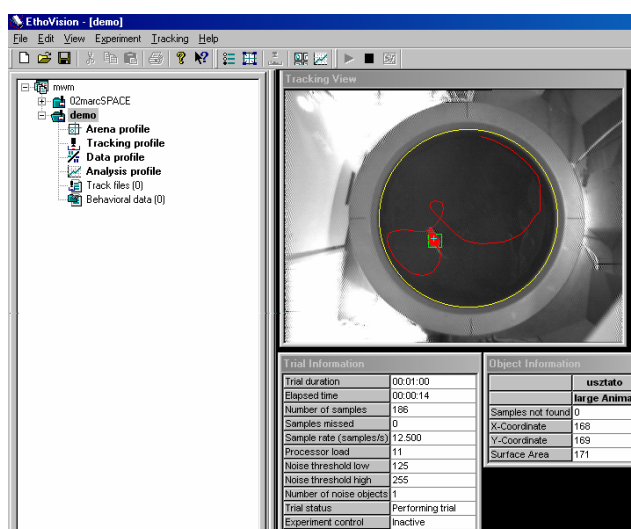
Az SP-vel végzett kísérletek során a következő csoportokba soroltuk a patkányokat: SP 10 ng: 10 ng SP-t kapott állatok, SP 100 ng: 100 ng SP-t kapott állatok, Kontroll: *Veh1*-et kapott állatok. Az NK1 receptor antagonistával végzett kísérletek során a következő csoportokat alakítottuk ki: ANT: 5 ng NK1 receptor antagonistával kezelt csoport, ANT+SP: 5 ng antagonistával előkezelt 10 ng SP-t kapott csoport, SP: 10 ng SP-t kapott csoport, Kontroll: csak vehiculum injekciót kapott csoport. Az ANT csoport állatai 5 ng WIN51,708-at kaptak, majd az SP vivőanyagát (antagonista + *Veh1*), az ANT+SP csoportban 5 ng WIN51,708-at kaptak a patkányok a 10 ng SP injektálása előtt (antagonista + SP), az SP csoport az antagonistá vivőanyagát kapta, majd 10 ng SP-t (*Veh2* + SP), a Kontroll csoport két vehiculum injekciót kapott (*Veh2* + *Veh1*). Az antagonistá vagy *Veh2* beadása mindig 15 perccel az SP vagy *Veh1* injekciók előtt történt. A dózisok minden esetben az egyik oldalra történt injekciók dózist jelentik, az állatok tehát összesen mindig az említett dózisok kétszeresét kapták.

Az oldatokat az előzőleg beépített vezetőkánülbe helyezett beadókánülön keresztül juttattuk a célterületre, a 30 gauge (0,255mm) átmérőjű beadókánülok vége

1,0 mm-rel nyúlt túl a vezetőkanülök végén. A beadókanülök polietilén csövön (PE-10) keresztül csatlakoztak a 10 µl-es Hamilton-fecskendőkhöz (Hamilton Co., Bonaduz, Svájc), amelyek az anyagokat tartalmazták. Az injektlást digitálisan programozható mikroinfúziós pumpával (Cole Parmer IITC, Life Sci. Instruments, California, USA) végeztük. A beadott térfogat 0,4 µl volt, amelyet a gép 40 s alatt pumpált be. Az injekció befejezése után a beadókanült további 60 s-on keresztül a vezetőkanülben hagytuk, hogy megakadályozzuk a beadott anyag visszafolyását a vezetőkanülbe és lehetővé tegyük annak diffundálását a környező szövetekbe. Az anyagokat kézben tartott, éber állatoknak adtuk be.

### 3.4. Magatartási tesztek

A kísérleteket hangszigetelt kísérleti szobában végeztük. Az állatok viselkedését az apparátusok fölé helyezett videokamera segítségével figyeltük, és egyidejűleg videomagnó segítségével rögzítettük. Az egyes paramétereket egy speciális számítógépes program, az 'EthoVision Basic' segítségével mértük (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, Hollandia). Ez a program követi és digitálisan rögzíti az állat mozgását az általunk kijelölt területen, online és off-line analízisre is lehetőséget ad (1. ábra). Számos paraméter számoltatható ki a program segítségével (megtett út, sebesség, idő, belépések száma, első belépés latenciája, stb.), akár a teljes apparátus területén, akár az apparátus egyes általunk kijelölt zónáiban.



1. ábra: Az Ethovision számítógépes program. Az állat mozgását követhetjük a monitoron, miközben a program rögzíti azt.

### 3.4.1. Helypreferencia teszt

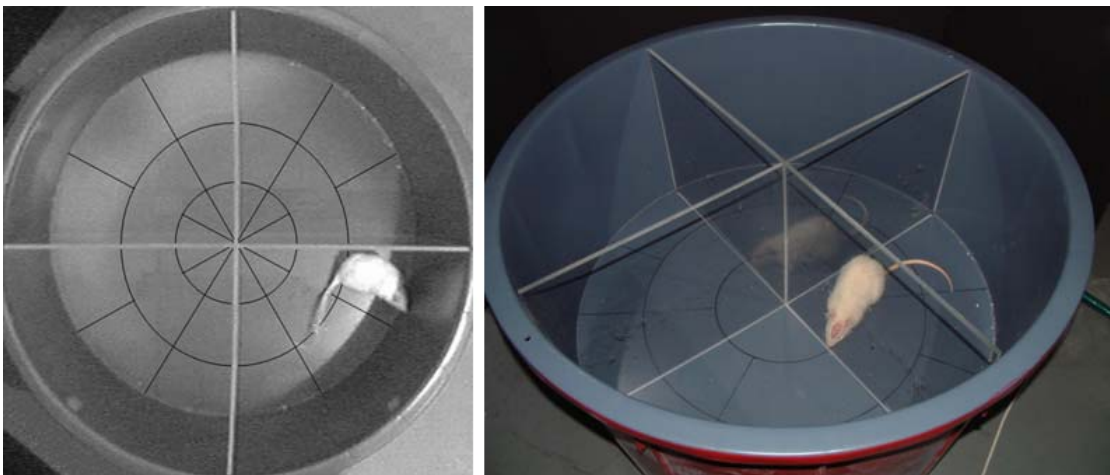
Kísérleteink során a Huston és munkacsoportja által kidolgozott, úgynevezett „corral” (karám) -metódust alkalmaztuk [133]. Ezen szituációban egy 85cm átmérőjű, 40cm magas falú, henger alakú dobozt használtunk (egy kör alakú 'open field' dobozt). Az apparátust fekete vonalak osztották különböző részekre. Két egymást keresztező vonal a dobozt négy egyenlő nagyságú kvadránsra osztotta, amelyek aljátát és falát azonos színűre (sötétszürkére) festettük (2. ábra). Az állatok térbeli orientációját a kísérleti berendezés körül elhelyezkedő számos tárgy - külső „jelek”, úgynevezett 'cue'-k - segítették. A kísérletek során az apparátust 40 W-os izzóval világítottuk meg. A dobozt minden egyes ülés után kimostuk és megszáritottuk.



2. ábra: A helypreferencia apparátusa a Habitúció és a Teszt során.

A Helypreferencia tesztet egymást követő négy napon végeztük. Az első napon történt a Habitúció, melynek során a patkányokat konstans irányban az apparátus közepére helyeztük, majd 10 percig (600s) szabadon mozoghattak az egész dobozban. Ez alatt mértük az egyes kvadránsokban töltött időt másodperc pontossággal (az anyagbeadásokat megelőzően a patkányoknál nem alakult ki preferencia, nem volt szignifikáns különbség az egyes kvadránsokban töltött idők között). A Kondicionálások során (a második és harmadik napon) azt a kvadránst (*Kezelő kvadráns*) választottuk ki a társításra, amelyben az állat a Habitúció 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

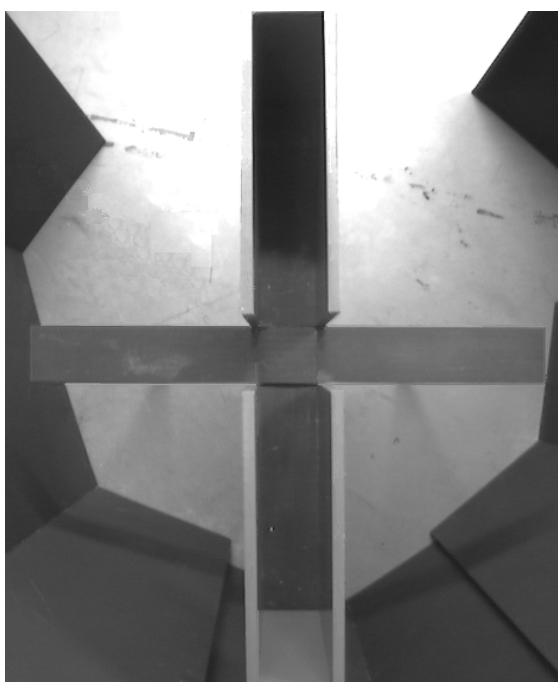
csoportokba véletlenszerűen soroltuk be. Az állatokat, a bilaterális SP, antagonista vagy vehiculum mikroinjekciót követően azonnal, 15 percre (900s) a Kezelő kvadránsba zártuk, egy plexi térelválasztó lap segítségével (3. ábra). Ez a plexilap biztosította, hogy az állat ne tudjon a többi kvadránsba átmenni. A Kezelő kvadránsban töltött idő alatt az állat összekapcsolhatta, társíthatta a beadott anyagok hatását a kvadránsban látott környezettel. A Teszt során (a negyedik napon) a plexi térelválasztó lapot eltávolítottuk, majd a patkányokat - anyagbeadás nélkül - az apparátus közepére helyeztük konstans testhelyzetben, és 10 percig (600s) újra szabadon mozoghattak az egész dobozban. Ekkor megint mértük az egyes kvadránsokban töltött időket másodperc pontossággal. A helypreferencia kiépülésének kritériuma volt, hogy egy patkány legalább 25%-kal több időt töltsön a Kezelő kvadránsban a Teszt során, mint a Habitáció alatt.



3. ábra: A Helypreferencia apparátusa a Kondicionálás során.

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

Az Emelt keresztpalló tesztet egyes anyagok szorongást oldó vagy azt fokozó hatásának tesztelésére használják. Előnye más tesztekkel szemben, hogy mind az anxiogén, mind az anxiolitikus hatások kimutatására alkalmas [148]. A kísérleti berendezés két Nyitott (50cm x 12cm) és két Zárt (50cm x 12cm x 40cm) karból állt. A Zárt kar oldala 40cm magas, teteje nyitott volt. A két Zárt, illetve két Nyitott kar egymással szemben helyezkedett el, kereszt alakban (4. ábra). Az apparátus 100 cm-rel emelkedett a földfelszín fölé, a megvilágítást egy 40 W-os piros fényű égő biztosította. Az apparátust minden egyes ülést követően kimostuk és megszáritottuk.



**4. ábra:** Az Emelt keresztpalló felépítése.

Az állatokat az anyagok beadása után 5 perccel az apparátus közepére (Centrális platform) helyeztük, orral az egyik Zárt kar felé. Ezt követően figyeltük az állatok mozgását 5 percig (300 s). Mértük a Zárt karon és a Nyitott karon töltött *időt*, a karokon *megtett út* hosszát, valamint a Zárt karra és a Nyitott karra történő *belépések számát*. Azon esetben tekintettük úgy, hogy az állat belépett egy karra, amikor mind a négy lába az adott karon volt. Kiszámoltuk a Nyitott karon töltött idő arányát a Zárt karon töltött időhöz viszonyítva, a Nyitott karra történő belépések számát a Zárt karra történő belépések számához viszonyítva, valamint az Összes belépések számát, amely a Zárt és Nyitott karra történő belépések számának összege. Mértük továbbá az állatok által 5 perc alatt *megtett út* teljes hosszát. E paraméterrel, valamint az Összes belépések számával az állatok általános aktivitását jellemeztük. Az anxiolitikus hatás további jellemzésére meghatároztuk a Nyitott kar végén töltött időt, az ott megtett utat és a Nyitott kar végére történő belépések számát is. Ez utóbbi paramétereket az anxiogén anyagok csökkentik, az anxiolitikus hatásúak viszont növelik. A kísérletek során minden egyes állatot csak egyszer teszteltünk.

### 3.4.3. Passzív elhárító teszt

A kísérleti berendezés egy nagyobb (60cm x 60cm x 60cm), világosszürkére festett falú, és egy hozzá csatlakozó kisebb (15cm x 15cm x 15cm), sötét színű dobozból állt, amelynek teteje levehető volt (5. ábra). A kisebb doboz aljába sokkoló rácsot építettünk, melyen keresztül különböző erősségű elektromos áramütést alkalmaztunk az állatok kondicionálására. A két dobozt egy csapóajtó választotta el. A kísérletek alatt a nyitott doboz erős megvilágítását az apparátus fölé helyezett 100 W-os izzó biztosította. Minden egyes ülés után kimostuk és megszáritottuk az apparátust.



**5. ábra:** A Passzív elhárító apparátus felépítése.

A Passzív elhárító tanulási teszt 16 napig tartott, Habitúáció, Kondicionálás és Teszt ülésekből állt, amelyek maximum 3 percig (180s) tartottak. A Habitúáció során (első nap) az állatokat a nagyobb, világos doboz közepére helyeztük, majd az állatok szabadon mozoghattak az egész apparátusban. A Kondicionálás során (második nap) az állatokat újra a világos doboz közepére helyeztük és mértük azt az időt másodpercekben, amely alatt beléptek a sötét dobozba (*Belépési latencia*). Ha az állat nem lépett be a sötét dobozba 60 másodpercen belül, kizártuk a kísérletből. Miután az állatok beléptek a sötét dobozba, bezártuk oda azokat, majd ezt követően elektromos áramütést (sokkot) kaptak. A kondicionálás kétféle kísérletben különböző erősségű árammal történt: gyenge sokk esetén 0,5 mA, erős sokk esetén 2,0 mA áramerősséggel, mindkét erősségű sokk esetében háromszor 1 s-ig tartó áramütéssel.



Közvetlenül a sokk után a patkányokat kivettük a dobozból, ezt követően bilaterálisan injektáltuk a különböző anyagokat (SP, antagonista vagy vehiculum). A Tesztek során az állatokat újra a világos dobozba helyeztük, és szintén mértük a Belépési latenciát. Ha az állat a 3 perces perióduson belül nem lépett be a sötét dobozba, az ülést befejeztük, és a Belépési latenciát 180s-nak értékeltük. Az állatok a sötét dobozba való belépést követően nem kaptak áramütést a Tesztek során. A gyenge sokkal (0,5 mA) végzett kísérletekben a Tesztek a Kondicionálást követően 24 órával (harmadik nap - Teszt1) és egy héttel (kilencedik nap - Teszt2) végeztük. Az erős sokkal (2,0 mA) végzett kísérletekben a Kondicionálást követően 24 órával (harmadik nap - Teszt1), egy héttel (kilencedik nap - Teszt2) és két héttel (tizenhatodik nap - Teszt3) végeztünk Tesztek.

### **3.5. Az adatok kiértékelése**

#### **3.5.1. Szövettan**

A kísérletek befejezését követően az állatokat uretán narkózisban (1,4 g/ testtömeg kg) először fiziológias sóoldattal, majd fiziológias sóoldatban oldott 10%-os formaldehiddel transzkardiálisan perfundáltuk. A kivett agyakat egy hét posztfixációs periódust követően fagyasztottuk, majd fagyasztó mikrotommal 40 µm-es metszeteket készítettünk és Krezil-ibolyával festettük. Az injekciók helyét Paxinos és Watson sztereotaxikus atlaszának [286] felhasználásával rekonstruáltuk. Kizártuk az analízisből azon állatokat, amelyek esetében a kanül nem a célterületen volt.

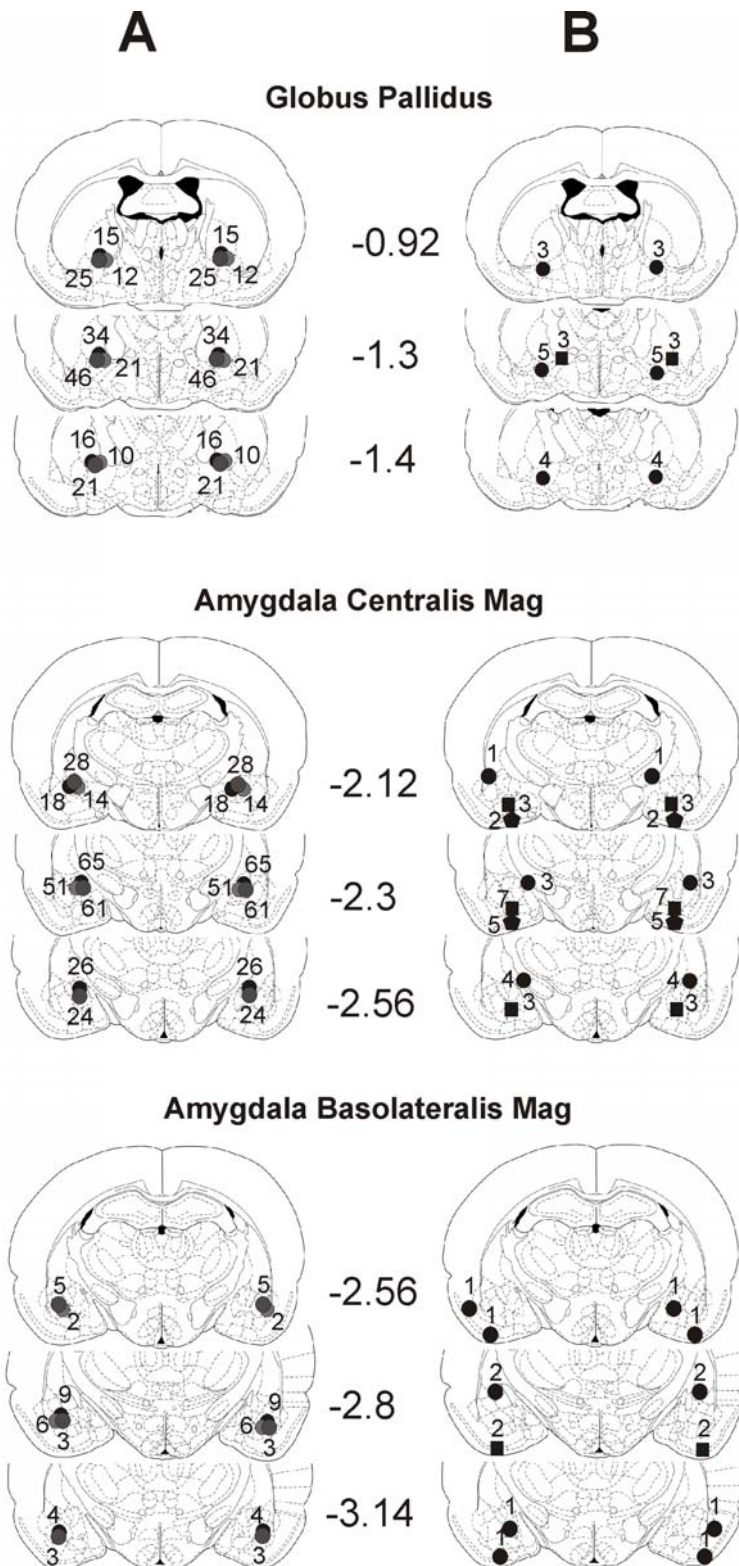
#### **3.5.2. Statisztika**

A mérési adatok statisztikai analízisét az 'SPSS 15.0 for Windows' programmal végeztük el. Kísérleti eredményeinket egy-szemponos és két-szemponos variancia-analízissel (ANOVA) dolgoztuk fel. Ezt követően, szignifikáns különbségek esetén, 'post-hoc' Tukey tesztet végeztünk az eredmények további analízisére. Ahol a csoportok, vagy az ülések száma nem tette lehetővé, az eredmények összehasonlítására Student-féle független mintás t-próbát, illetve párosított t-próbát használtunk. Szignifikánsnak tekintettük a különbséget, ha a p érték 0,05 alatt volt. A szignifikáns különbséget szimbólumokkal (\*,<sup>Δ</sup>) jelöltük az ábrákon és a táblázatokban.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Szövetteni értékelés

Az eredmények szövetteni feldolgozása alapján a kísérletekben felhasznált 570 db Wistar patkányból 519 esetben megfelelő helyen voltak a bilaterális kanülok, a fennmaradó 51 db patkánynál a célterületen kívül estek a kanülok pozíciói. A *GP* esetében 215 db patkány közül 200 esetben megfelelő helyen voltak a kanülok, míg 15 db patkány esetében a célterületen kívül helyezkedtek el. 12 esetben a kanülok szimmetrikusan a célterülettől ventralisan végződtek, a *substantia innominata* területén. 3 esetben a kanülok aszimmetrikusan, lateralisán, az egyik oldalon a *capsula interna* területén, a másik oldalon a *commissura anterior* hátsó kötegének intersticiális magjában értek véget. Az *ACE*-ban a kanülok pozíciói 315 db patkány közül 287 db esetében feleltek meg a kritériumnak, míg 28 esetben nem. Ezek közül 13 db patkánynál a kanülok szimmetrikusan a célterülettől ventralisan végződtek, az injekciók a *basomedialis* és *intecalaris* *AMY* magok területét érték. 7 patkány esetében a kanülok az agyalapon a *liquor térbe* értek, további 8 esetben aszimmetrikusan, lateralisán végződtek, az egyik oldalon az *EPN - substantia innominata* területét, a másik oldalon a *CPU ventralis* részét és a *lateralis* *AMY* mag *dorsalis* részét érték az anyagbeadások. Az *ABL* esetében 40 db patkány közül a kanülok 32 esetben a célterületen, míg 8 db patkánynál azon kívül végződtek. Ezek között 4 esetben a kanülok vége az agyalapon a *liquor térbe* ért. További 2 esetben a kanülok szimmetrikusan *dorsalisán* végződtek, a *CPU ventralis* részét érték az injekciók, míg 2 esetben aszimmetrikusan, lateralisán, az egyik oldalon *BNST*-ben és az *intecalaris* *AMY* magban, míg a másik oldalon az *endopiriform* mag *dorsalis* részén végződtek a kanülok. A beadások elhelyezkedésének sematikus illusztrációja a 6. ábrán látható.

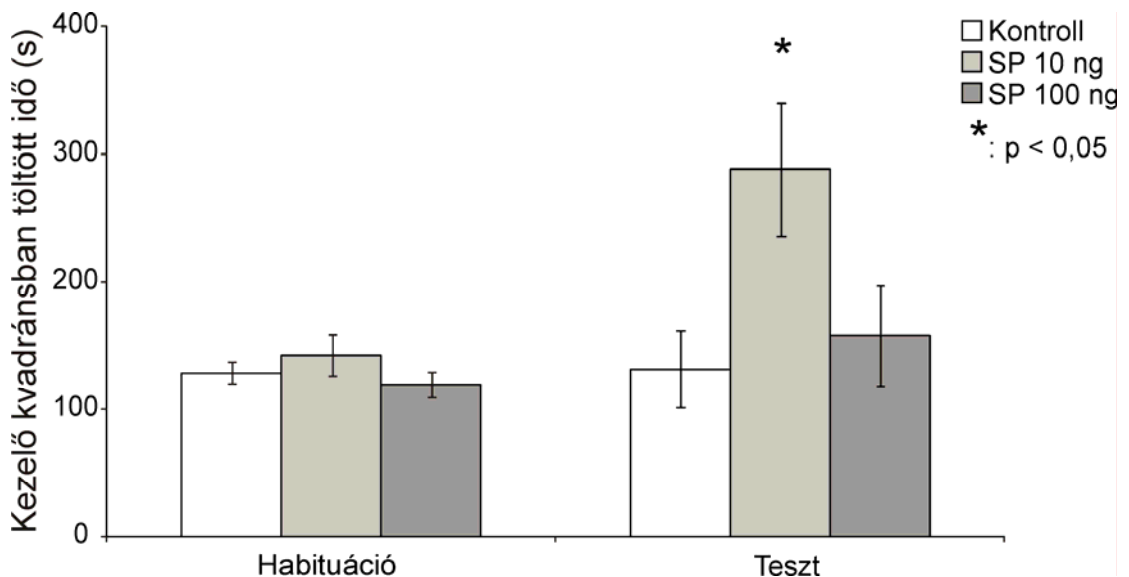


**6. ábra:** Az injekciók elhelyezkedése az egyes agyterületeken. **A** panel: az azonos árnyalatú körök a korrekt bilaterális injekciók helyeit jelölik a GP, ACE és ABL esetében (n= 519). **B** panel: az azonos szimbólumok a nem megfelelő pozícióban lévő bilaterális kanülök végének helyeit jelölik (n= 51). A szimbólumok melletti számok azon állatok számát jelentik, amelyek esetében az injekció a megjelölt helyre történt. A középen elhelyezkedő számok a bregmához viszonyított távolságot jelölik. Az ábrák Paxinos és Watson atlaszának nyomán készültek [286].

## 4.2. Globus pallidus

### 4.2.1. Helypreferencia teszt

A Helypreferencia teszttel egy anyag jutalmazó-megerősítő hatását tudjuk vizsgálni. A GP-be adott SP-kezelések hatását az állatok helypreferenciájára a 7. ábrán mutatjuk be. Szignifikáns különbséget találtunk az ülések között [ANOVA,  $F(1, 28) = 6,286$ ;  $p < 0,05$ ] és a kezelések között [ $F(2, 20) = 4,403$ ;  $p < 0,05$ ]. A kezelések és ülések közötti interakció azonban nem volt szignifikáns [ $F(2, 56) = 2,824$ ;  $p = 0,069$ ]. A 10 ng SP-t kapott csoport szignifikánsan különbözött a Kontroll és a 100 ng SP-t kapott csoporttól ( $p < 0,05$ ). A Habitáció során nem alakult ki előzetes preferencia egyik csoportba tartozó állatok esetében sem, nem volt különbség az egyes kvadránsokban töltött időben (az adatokat nem ábrázoltuk).

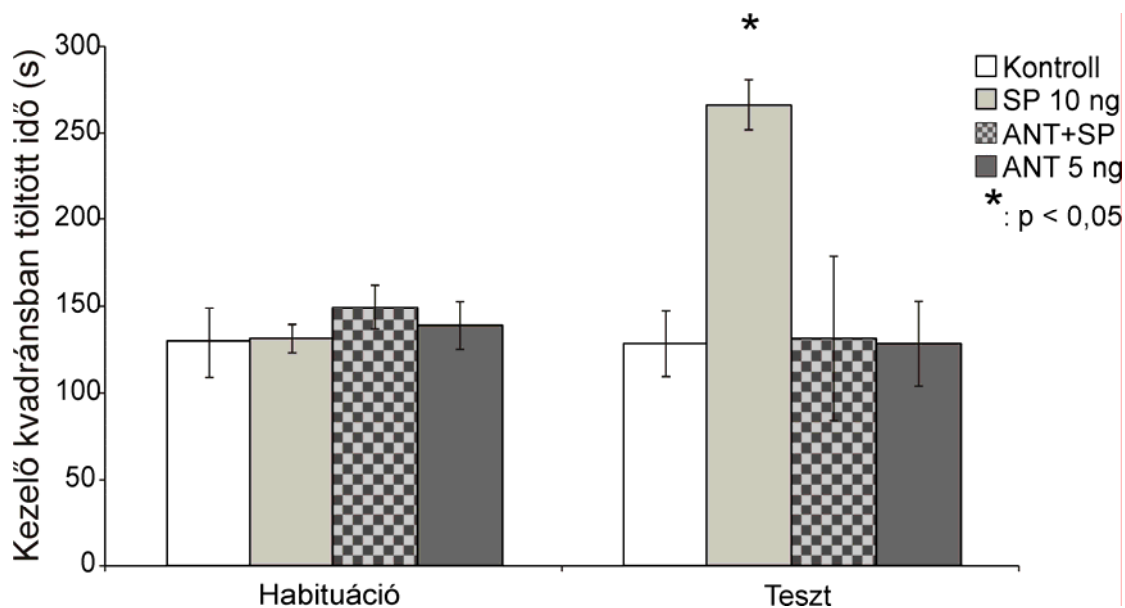


7. ábra: A globus pallidusba adott substance P hatása Helypreferencia tesztben.

Nem találtunk eltérést a Habitáció során a Kezelő kvadránsban töltött időben sem a három csoport között. A Teszt során azonban szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között [ANOVA,  $F(2, 25) = 3,827$ ;  $p < 0,05$ ]. A 10 ng SP-vel kezelt állatok ( $n = 8$ ) szignifikánsan több időt töltöttek a droggal társított (Kezelő) kvadránsban a Kontrollokhoz ( $n = 10$ ) képest ( $p < 0,05$ ). A 100 ng SP-vel kezelt állatok ( $n = 10$ ) által a Kezelő kvadránsban töltött idő kisebb volt, mint a 10 ng SP-t kapott állatok esetében, ez azonban csak tendenciaként jelentkezett, a különbség nem volt szignifikáns ( $p = 0,094$ ). A Kontroll és nagy dózisu SP-t kapott csoport között sem

volt szignifikáns különbség. A kis dózisú SP pozitív megerősítő hatását az is jelezte a szituációban, hogy a patkányok mintegy 63%-a a legtöbb időt az előzőleg ezen anyaggal párosított kvadránsban töltötte. A Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő a 10 ng SP-vel kezelt csoportban szignifikánsan nagyobb volt, mint a Habitáció során ( $p < 0,05$ ), míg a Kontroll csoport esetében és a 100 ng SP-vel kezelt csoportnál ez az idő nem változott.

A következő kísérletben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP pozitív megerősítő hatásának közvetítésében, eredményeink a 8. ábrán láthatóak. Az ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a kezelések között [ $F(3, 22) = 3,422$ ;  $p < 0,05$ ], valamint a kezelés x ülés interakció is szignifikáns volt [ $F(3, 74) = 5,217$ ;  $p < 0,01$ ]. Az ülések közötti különbséget azonban nem találtuk szignifikánsnak [ $F(1, 37) = 1,417$ ;  $p = 0,238$ ]. A Habitáció során a különböző csoportba tartozó állatok hasonló időt töltöttek a négy kvadránsban (az adatokat nem ábrázoltuk), nem volt eltérő a Habitáció során a Kezelő kvadránsban töltött idő sem a négy csoport között. A Teszt során viszont szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között [ANOVA,  $F(3, 33) = 5,392$ ;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP intra-amygdalaris injekciójának hatására ( $n = 8$ ) megnőtt az állatok által a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő a Habitációkor mérthez képest ( $p < 0,05$ ). Az SP-vel kezelt állatok mintegy 50%-a a Teszt során a korábban SP-vel társított kvadránsban töltötte a legtöbb időt. Szignifikáns különbség volt a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött időben az SP-t kapott csoport és a Kontroll csoport ( $n = 9$ ) között ( $p < 0,01$ ). 5 ng WIN51,708-at adva 15 perccel az SP-kezelést megelőzően (ANT+SP,  $n = 11$ ), az NK1 receptor antagonistája kivédte az SP pozitív megerősítő hatását: a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő szignifikánsan különbözött a csak SP-t kapott csoporttól ( $p < 0,05$ ), és nem tért el a Kontrollokétól. Az 5 ng dózisú NK1 receptor antagonistának önmagában (ANT,  $n = 9$ ) nem volt hatása az állatok viselkedésére, a Kezelő kvadránsban töltött idő nem nőtt, de nem is csökkent kezelést követően. A Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő nem különbözött sem a Habitációkor mért időtől, sem a Kontrollok által ott töltött időtől, szignifikánsan különbözött viszont az SP-vel kezelt csoport által a Kezelő kvadránsban töltött időtől ( $p < 0,05$ ).



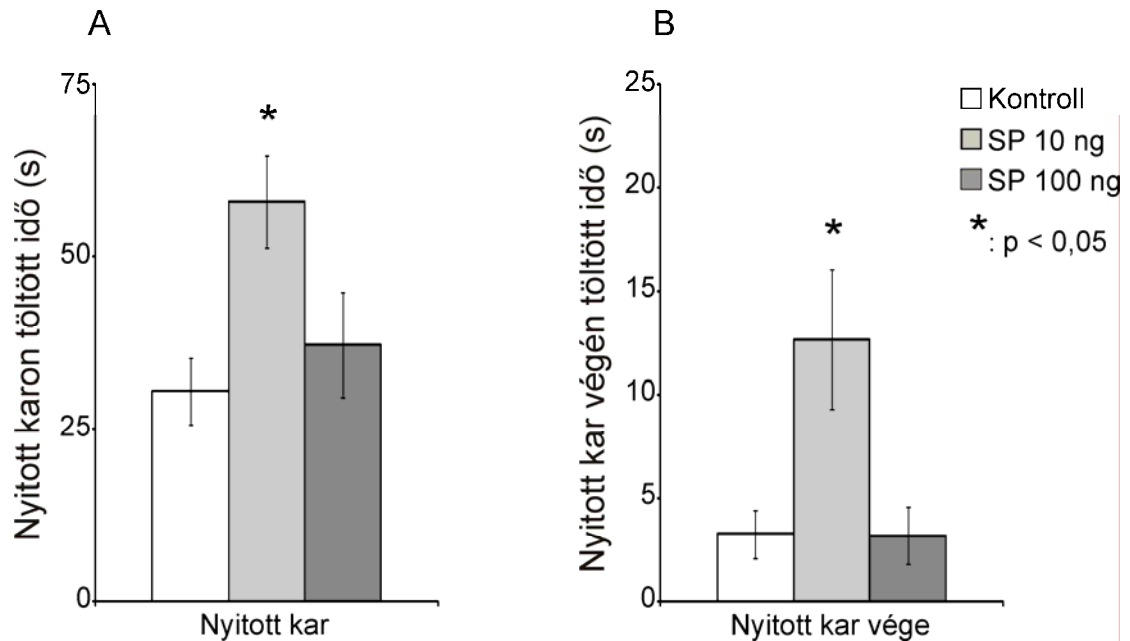
8. ábra: A globus pallidusba adott NK1-receptor antagonistá hatása Helypreferencia tesztben.

*A Helypreferencia teszt során a GP-be adott SP-t pozitív megerősítő hatásának találtuk, a kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Kezelő kvadránsban töltött idő, míg a nagy dózis nem befolyásolta az állatok viselkedését. Az SP e jutalmazó hatása specifikus NK1 receptor antagonistá előkezeléssel kivédhető volt, így azt feltehetően NK1 receptorok közvetítik.*

#### 4.2.2. Emelt keresztpalló teszt

A GP-be adott SP anxiolitikus illetve anxiogén hatásának tesztelésére elvégeztük az Emelt keresztpalló tesztet, a kapott eredmények 9. ábrán és a II. Táblázatban láthatóak. Szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között a Nyitott karon töltött időben [ANOVA,  $F(2, 35) = 4,654$ ;  $p < 0,05$ ], valamint a Nyitott kar végén töltött időben [ $F(2, 35) = 6,098$ ;  $p < 0,01$ ]. 10 ng SP hatására ( $n = 12$ ) szignifikánsan nőtt a Nyitott karon töltött idő, valamint a Nyitott kar végén töltött idő a Kontrollokhoz képest ( $n = 13$ ,  $p < 0,05$ ). A 100 ng SP ( $n = 13$ ) hatására kis mértékben nőtt ugyan a Nyitott karon töltött idő a Kontrollokhoz viszonyítva, a két csoport között azonban nem volt szignifikáns a különbség, a Nyitott kar végén töltött idő nem változott a nagy dózisú SP hatására. A 10 ng és 100 ng SP-vel kezelt csoportok közötti különbségeket nem találtuk szignifikánsnak. A Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan különbözött a csoportok között [ $F(2, 35) = 4,184$ ;  $p <$

0,05]. A kis dózisú SP kezelés hatására nőtt a Nyitott karon töltött idő aránya a Kontroll csoportéhoz képest ( $p < 0,05$ ), a nagy dózisú SP kezelés hatására szintén nőtt ez az arány, a különbség azonban nem volt szignifikáns ( $p = 0,097$ ). A Zárt karon töltött idő nem változott az SP kezelések hatására (II. Táblázat).



9. ábra: A globus pallidusba adott substance P hatása Emelt keresztpalló tesztben.

Szignifikáns különbséget találtunk a Nyitott karon [ $F(2, 35) = 3,951$ ;  $p < 0,05$ ], és a Nyitott kar végén megtett útban is [ $F(2, 35) = 6,932$ ;  $p < 0,01$ ]. Hasonlóan a karon töltött idők esetében tapasztaltakhoz, a 10 ng SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út a Kontrollokhoz képest ( $p < 0,05$  és  $p < 0,01$ ). A 100 ng dózisú SP hatására kis mértékben nőtt ugyan a Nyitott karon megtett út a Kontrollokhoz képest, a két csoport között azonban nem volt szignifikáns különbség, a Nyitott kar végén megtett út nem változott. A 10 ng és 100 ng SP-vel kezelt csoportok közötti különbségek nem voltak szignifikánsak (II. Táblázat).

Az SP kezelések nem befolyásolták sem az Összes belépések számát, sem az állatok által Összesen megtett utat (II. Táblázat), nem volt szignifikáns különbség a paraméterekben a csoportok között. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a kezelések az állatok általános aktivitására nem voltak hatással. Szignifikánsan nőtt ugyanakkor a Nyitott kar látogatási gyakorisága [ $F(2, 35) = 3,633$ ;  $p < 0,05$ ]. A 10 ng

dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karra történő belépések száma a 100 ng SP-t kapott csoporthoz képest ( $p < 0,05$ ), a Kontrollokhoz képest is nőtt ugyan, ez a különbség azonban nem volt szignifikáns ( $p = 0,089$ ). A Nyitott kar végére történő belépések száma szintén nőtt, azonban ez csak tendenciaként mutatkozott, a különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet [ $F(2, 35) = 2,760$ ;  $p = 0,077$ ] (II. Táblázat).

**II. Táblázat:** A globus pallidusba adott substance P hatása Emelt keresztállás tesztben.

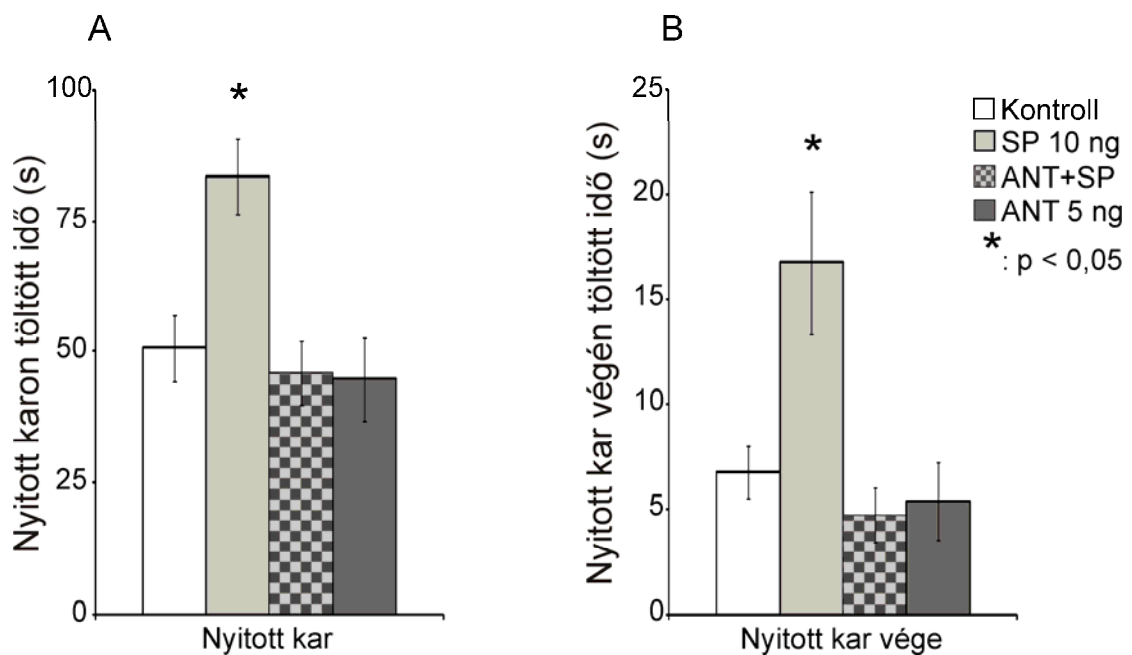
	Kontroll	SP 10 ng	SP 100 ng
<b>Karon töltött idő (s)</b>			
Zárt kar	169,13 ± 9,85	146,57 ± 8,47	167,72 ± 8,98
Nyitott kar/ Zárt kar	0,202 ± 0,041	<b>0,441 ± 0,073*</b>	0,257 ± 0,063
<b>Megtett út (cm)</b>			
Összes	1753,16 ± 239,34	2140,39 ± 261,72	1873,32 ± 166,07
Zárt kar	1162,06 ± 128,37	1230,09 ± 117,20	1262,07 ± 122,84
Nyitott kar	187,94 ± 57,02	<b>433,79 ± 90,48*</b>	209,06 ± 49,83
Nyitott kar vége	16,24 ± 7,61	<b>81,49 ± 23,39*</b>	12,79 ± 6,51
<b>Belépések száma</b>			
Összes	17,77 ± 1,11	18,08 ± 0,77	17,50 ± 0,95
Zárt kar	13,15 ± 1,03	10,58 ± 1,02	12,83 ± 0,91
Nyitott kar	4,62 ± 0,59	<b>6,75 ± 0,41<sup>Δ</sup></b>	5,09 ± 0,83
Nyitott kar vége	1,54 ± 0,79	3,17 ± 0,63	1,45 ± 0,38
Nyitott kar/ Zárt kar	0,391 ± 0,066	0,906 ± 0,278	0,412 ± 0,097

\* :  $p < 0,05$ , a Kontrollhoz képest, <sup>Δ</sup> :  $p < 0,05$ , a 100 ng SP csoporthoz képest

A Nyitott és Zárt karra történő belépések aránya szintén kis mértékben különbözött az egyes csoportok esetében, a 10 ng SP-t kapott csoport esetében az arány nagyobb volt, mint a másik két csoportnál, a különbség azonban nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet [ $F(2, 35) = 2,706$ ;  $p = 0,081$ ]. Ezen eredmények azt sugallják, hogy a 10 ng dózisú SP hatására megnőtt a belépések száma, így valószínűleg az az idő, amit az állatok egy-egy belépés alkalmával a Nyitott karon, illetve a Nyitott kar végén töltöttek nem változott jelentősen.



A következő kísérletben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP anxiolitikus hatásainak közvetítésében, eredményeink a 10. ábrán és III. Táblázatban láthatóak. Szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között a Nyitott karon töltött időben [ANOVA,  $F(3, 37) = 7,054$ ;  $p < 0,01$ ], a Zárt karon töltött időben [ $F(3, 37) = 5,092$ ;  $p < 0,01$ ], valamint a Nyitott kar végén töltött időben [ $F(3, 37) = 6,568$ ;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng dózisú SP hatására ( $n = 9$ ) szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő és szignifikánsan csökkent a Zárt karon töltött idő ( $p < 0,05$ ) a Kontrollokhoz képest ( $n = 9$ ).



10. ábra: A globus pallidusba adott NK1-receptor antagonist hatása Emelt keresztpalló tesztben.

Az NK1 receptor antagonistát 15 perccel az SP-kezelést megelőzően adva (ANT+SP,  $n = 12$ ), az 5 ng dózisú WIN51,708 kivédte az SP szorongásoldó hatását. Az állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő szignifikánsan különbözött az SP-vel kezelt csoport esetében mért értékektől ( $p < 0,01$ ). A Zárt karon töltött idő nagyobb volt, mint az SP-vel kezelt csoportban, a különbség azonban nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet ( $p = 0,052$ ), ugyanakkor a Zárt karon, a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő nem különbözött a Kontrollokétól. Az antagonistát önmagában adva (ANT,  $n = 11$ ) nem volt hatással az állatok viselkedésére az apparátusban, a karokon töltött idők nem különböztek a Kontroll csoportnál mért értékektől, azonban szignifikánsan különböztek az SP-t

kapott állatok által a Zárt illetve Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött időtől ( $p < 0,01$ ). A Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan különbözött a csoportok között [ $F(3, 37) = 7,918$ ;  $p < 0,001$ ]. Az SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon töltött idő aránya a Kontroll csoporthoz képest ( $p < 0,01$ ), az NK1 receptor antagonistá előkezelés ezt a hatást is kivédte ( $p < 0,01$ ). Az antagonistának önmagában nem volt hatása e paraméterre sem, a Zárt és Nyitott karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan eltért az SP-t kapott csoportétól ( $p < 0,01$ ), és nem különbözött a Kontrollokétól.

Szignifikáns különbséget találtunk továbbá a Nyitott karon [ $F(3, 37) = 5,621$ ;  $p < 0,01$ ], és a Nyitott kar végén megtett útban [ $F(3, 37) = 6,331$ ;  $p < 0,01$ ]. Hasonlóan a karon töltött idők esetében tapasztaltakhoz, a 10 ng SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út a Kontrollokhoz képest ( $p < 0,05$ ; III. Táblázat). 5 ng NK1 receptor antagonistá kezelés 15 perccel az SP beadását megelőzően kivédte az SP hatását a fenti paraméterekre is, az állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út szignifikánsan különbözött az SP-vel kezelt csoport esetében mért értékektől ( $p < 0,05$  és  $p < 0,01$ ). Az antagonistá önmagában nem befolyásolta az állatok viselkedését, a karokon megtett utak nem különböztek a Kontroll csoportnál mértektől, szignifikánsan különböztek azonban az SP-t kapott állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett úttól ( $p < 0,01$ ).

Az SP kezelés e kísérletben szintén nem befolyásolta sem az állatok által Összesen megtett utat, sem az Összes belépések számát (III. Táblázat). Az SP-t kapott csoport esetében kis mértékben nőtt az Összes megtett út, az Összes belépések száma viszont kevesebb volt a Kontroll csoport esetében mért értéknél, a különbség azonban egyik esetben sem volt szignifikáns. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a kezelések az állatok általános aktivitására nem voltak jelentős hatással. Szignifikánsan nőtt ugyanakkor a Nyitott kar végének látogatási gyakorisága [ $F(3, 37) = 3,075$ ;  $p < 0,05$ ], valamint csökkent a Zárt kar látogatási gyakorisága [ $F(3, 37) = 8,167$ ;  $p < 0,001$ ]. Az SP kezelés hatására szignifikánsan csökkent a Zárt karra történő belépések száma a Kontroll és ANT+SP csoportokhoz képest ( $p < 0,05$  és  $p < 0,001$ ), az ANT csoport esetében a különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet ( $p = 0,074$ ).

**III. Táblázat:** A globus pallidusba adott NK1-receptor antagonistá hatása Emelt keresztállító tesztben.

	Kontroll	SP 10 ng	Ant + SP	Ant 5 ng
<b>Karon töltött idő (s)</b>				
Zárt kar	155,01 ± 10,99	<b>112,83 ± 7,91*</b>	144,80 ± 7,84	155,57 ± 8,49
Nyitott kar/ Zárt kar	0,357 ± 0,063	<b>0,830 ± 0,134*<sup>Δ</sup></b>	0,340 ± 0,058	0,310 ± 0,063
<b>Megtett út (cm)</b>				
Összes	2104,78 ± 271,71	2323,08 ± 298,26	1939,02 ± 116,47	1691,81 ± 111,59
Zárt kar	1324,75 ± 143,56	1210,34 ± 146,65	1179,84 ± 61,17	1096,82 ± 66,47
Nyitott kar	312,59 ± 55,29	<b>559,07 ± 86,84*<sup>Δ</sup></b>	281,43 ± 48,53	221,71 ± 48,21
Karvég	26,27 ± 9,07	<b>97,20 ± 26,78*<sup>Δ</sup></b>	15,32 ± 4,77	18,51 ± 8,73
<b>Belépések száma</b>				
Összes	20,44 ± 1,47	17,44 ± 0,74	20,83 ± 1,31	18,36 ± 1,45
Zárt kar	12,78 ± 1,16	<b>9,33 ± 0,61*<sup>Δ</sup></b>	15,17 ± 1,01	12,36 ± 0,58
Nyitott kar	7,67 ± 1,36	8,11 ± 0,63	5,67 ± 0,72	6,00 ± 1,22
Karvég	3,22 ± 0,91	3,67 ± 0,28	2,00 ± 0,38	1,73 ± 0,52
Nyitott kar/ Zárt kar	0,684 ± 0,169	<b>0,922 ± 0,104<sup>Δ</sup></b>	0,380 ± 0,046	0,480 ± 0,102

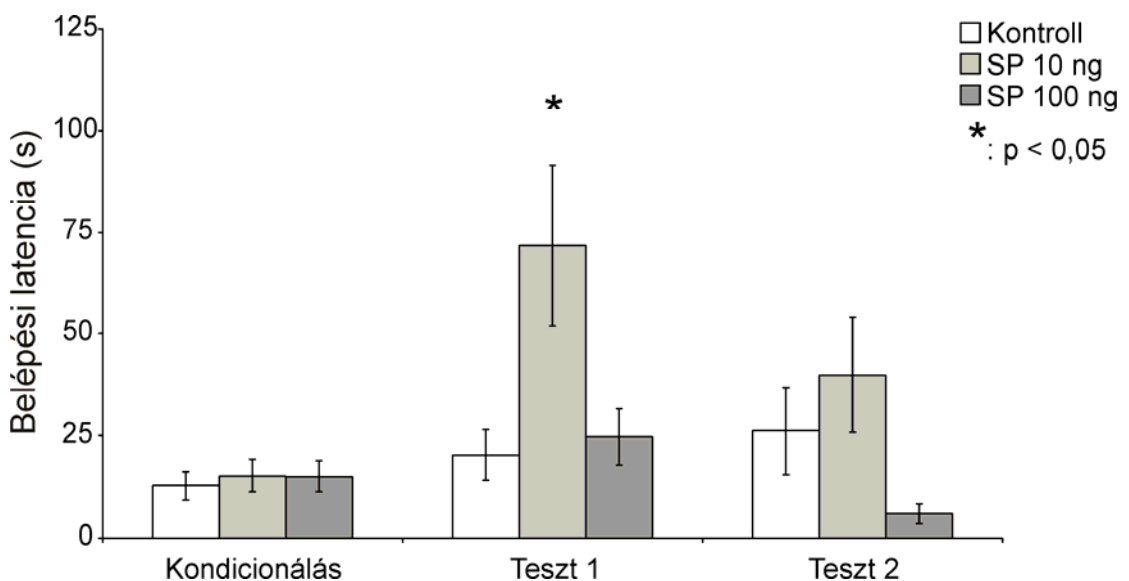
\*:  $p < 0.05$ , a Kontrollhoz képest, <sup>Δ</sup>:  $p < 0.05$ , az ANT+SP csoporthoz képest

10 ng SP hatására nőtt a Nyitott kar végére történő belépések száma az ANT és ANT+SP csoportokhoz képest, a Kontrollokhoz képest is nőtt ugyan kis mértékben, a különbség azonban egyik esetben sem volt szignifikáns. A Nyitott kar esetében is nőtt a belépések száma, azonban ez a különbség sem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet (III. Táblázat). A Nyitott és Zárt karra történő belépések aránya szintén szignifikánsan különbözött az egyes csoportok esetében [ $F(3, 37) = 5,035$ ;  $p = 0,01$ ]. Az SP-t kapott csoport esetében az arány nagyobb volt, mint a másik három csoport esetében, a különbség a Kontrollokhoz képest azonban nem volt szignifikáns, csak az ANT+SP és az ANT csoporthoz képest ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ). Ezen eredmények azt mutatják, hogy a 10 ng SP hatására nem nőtt meg a belépések száma, így valószínűleg az az idő nőtt, amit az állatok egy-egy belépés alkalmával a Nyitott karon, vagy a Nyitott kar végén töltöttek.

*Az Emelt keresztpalló teszt során a GP-be adott SP-t szorongásoldó hatásúnak találtuk, a kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út. A kezelés ugyanakkor az állatok aktivitását nem változtatta meg. Az SP ezen anxiolitikus hatása specifikus antagonistá előkezeléssel kivédhető volt, így azt feltehetően NK1 receptorok közvetítik. A karokra történő belépések számának elemzése alapján az is elmondható, hogy nem változott a belépések száma a kezelések hatására, inkább az állatok által egy-egy belépés alkalmával ott töltött idő nőtt.*

#### **4.2.3. Passzív elhárító teszt**

Kísérletünk során a GP-be injektált SP hatásait vizsgáltuk a Passzív elhárító tanulásra, gyenge sokk (0,5 mA) alkalmazását követően, eredményeink 11. ábrán láthatóak. Szignifikáns különbséget találtunk a kezelések között [ANOVA,  $F(2, 34) = 6,208$ ;  $p < 0,01$ ], az ülések között [ $F(2, 39) = 6,207$ ;  $p < 0,01$ ], valamint a kezelések és ülések közötti interakció is szignifikáns volt [ $F(4, 89) = 2,612$ ;  $p < 0,05$ ].

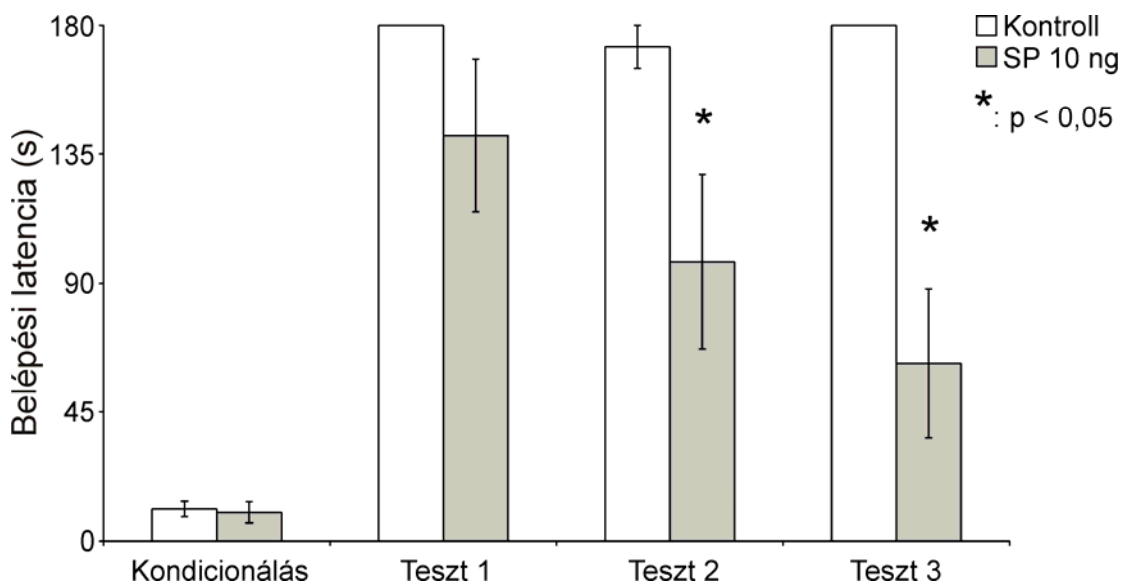


**11. ábra:** A globus pallidusba adott substance P hatása a passzív elhárító tanulásra, gyenge sokk alkalmazásakor.

A Kondicionálás során nem volt eltérés a csoportok Belépési latenciájának átlagai között, a 10 ng SP kezelés ( $n = 13$ ) hatására azonban az állatok szignifikánsan jobban tanultak a Kontroll ( $n = 13$ ) és a 100 ng SP-vel kezelt ( $n = 13$ ) csoporthoz viszonyítva ( $p < 0,01$ ). Kondicionáláskor nem volt szignifikáns eltérés a csoportok

között, a Teszt1 során mért Belépési latenciában azonban szignifikáns volt a különbség [ $F(2, 36) = 6,123$ ;  $p < 0,01$ ], míg a Teszt2 során megint nem volt eltérés a csoportok között. A 10 ng SP-t kapott csoport esetében a Belépési latencia szignifikánsan nagyobb volt 24 órával a sokkolás után (Teszt1), mint a másik két csoport esetében ( $p < 0,05$ ). A kis dózisú SP e tanulást serkentő hatása azonban csak átmeneti volt, ugyanis a Belépési latencia egy héttel a sokkolást követően (Teszt2) nem különbözött szignifikánsan a másik két csoport esetében mért latenciától. A kis dózisú SP-vel kezelt csoport esetében a Teszt1 során mért Belépési latencia szignifikánsan nagyobb volt a Kondicionáláskor mérthez képest ( $p < 0,01$ ), míg a Teszt2 során mért érték nem különbözött szignifikánsan attól. A Kontroll csoport esetében is megfigyelhető volt kismértékű latencia-növekedés a Teszt1 és Teszt2 során, de ez a növekedés nem volt szignifikáns. A 100 ng SP-t kapott csoportban latencia-növekedés csak a Teszt1 során volt látható, de ez sem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet.

Következő kísérletünkben nagy erősségű (2,0 mA) sokk alkalmazásakor vizsgáltuk az SP hatását a Passzív elhárító tanulásra. Csak a 10 ng SP hatását vizsgáltuk, mivel ez a dózis volt hatásos gyenge sokk esetén, a kapott eredményeket a 12. ábra mutatja.



**12. ábra:** A globus pallidusba adott t substance P hatása a passzív elhárító tanulásra, erős sokk alkalmazásakor.

A variancia-analízis szignifikáns tanulási hatást mutatott ki mind a Kontroll [F(3, 27)= 418,535;  $p < 0,001$ ], mind az SP-vel kezelt állatcsoportban [F(3, 31)= 5,961;  $p < 0,01$ ]. E szituációban minden állat tanult, a Belépési latencia a maximális érték (180 s) közelében volt a Teszt1 során, mindkét csoport esetében. A 10 ng SP (n= 9) azonban rontotta a tanultak megtartását, ugyanis a Belépési latencia az első és második Teszt során szignifikánsan nagyobb volt, mint a Kondicionáláskor mért érték ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ), míg a harmadik Teszt során (2 héttel a sokk után) nem tért el szignifikánsan attól. A 10 ng SP-t kapott állatok latenciája szignifikánsan kisebb volt a Kontroll csoport (n= 8) Belépési latenciájához képest a Teszt2 és Teszt3 során ( $p < 0,05$  és  $p < 0,01$ ).

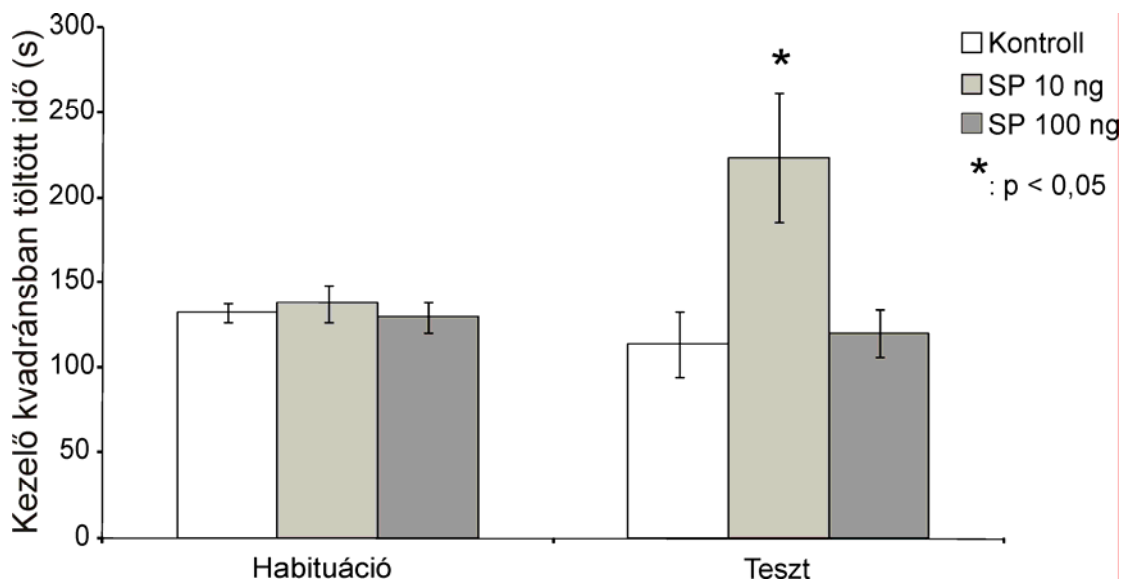
*A Passzív elhárító teszt során a GP-be adott SP tanulást facilitáló hatásának bizonyult. Gyenge sokk alkalmazásakor a kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, amely azt jelzi, hogy ezek az állatok jobban tanultak. Az SP e hatása azonban rövidtávú volt, egy héttel a Kondicionálás után már nem volt szignifikáns különbség a csoportok teljesítménye között. Erős sokk esetén azonban ugyanez a dózis szignifikánsan csökkentette a Belépési latenciát, ami azt jelzi, hogy a kis dózisú SP valamilyen módon interferál a hosszú távú memória kialakulásával, vagy megtartásával.*

### **4.3. Amygdala centralis mag**

#### **4.3.1. Helypreferencia teszt**

A Helypreferencia tesztet elvégeztük az ACE-ba adott SP jutalmazó hatásának tesztelésére is, a Habitáció és a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött időt a 13. ábrán mutatjuk be. Szignifikáns különbséget találtunk a kezelések között [ANOVA, F(2, 30)= 5,952;  $p < 0,01$ ], valamint a kezelések és ülések közötti interakció is szignifikánsnak bizonyult [F(2, 84)= 4,686;  $p < 0,05$ ]. Az ülések közötti különbség azonban nem volt szignifikáns [F(1, 42)= 1,496;  $p = 0,225$ ]. A 10 ng SP-t kapott csoport szignifikánsan különbözött mind a Kontroll, mind a 100 ng SP-t kapott csoporttól ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ). A Habitáció során nem volt különbség az egyes kvadránsokban töltött idők között egyik csoportba tartozó állatok esetében sem (az adatokat nem ábrázoltuk). Nem volt eltérés a Habitáció során a Kezelő kvadránsban töltött időben sem, míg a Teszt során szignifikáns különbséget találtunk a csoportok

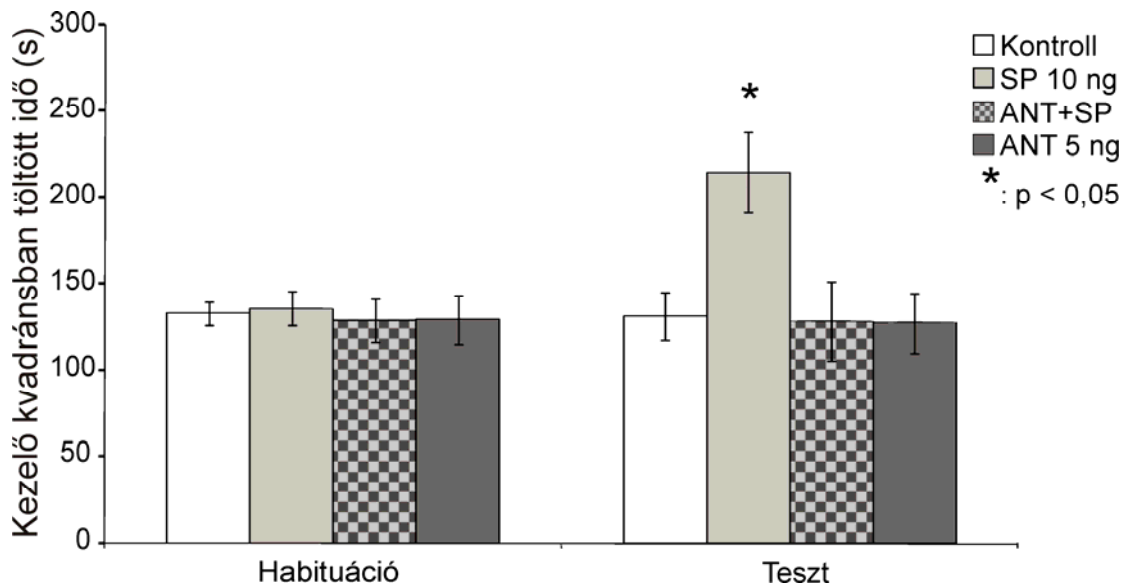
között [ $F(2, 39) = 5,887$ ;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP-vel kezelt állatok ( $n = 15$ ) szignifikánsan több időt töltöttek az anyagbeadással társított kvadránsban mind a Kontrollokhoz ( $n = 14$ ), mind a 100 ng SP-vel kezelt állatokhoz ( $n = 13$ ) képest ( $p < 0,05$ ). A Kontroll és a nagy dózisú SP-t kapott csoport között nem volt szignifikáns különbség. A Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő a 10 ng SP-vel kezelt csoportban szignifikánsan nagyobb volt, mint a Habitáció során ( $p < 0,05$ ), míg a Kontroll csoport esetében és a 100 ng SP-vel kezelt csoportnál nem változott. A kis dózisú SP pozitív megerősítő hatása nyilvánvaló volt e szituációban, a patkányok mintegy 53%-a a Teszt során a legtöbb időt az ezen anyaggal társított, Kezelő kvadránsban töltötte.



**13. ábra:** Az amygdala centralis magjába adott substance P hatása Helypreferencia tesztben.

A következő kísérletben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP pozitív megerősítő hatásának közvetítésében, eredményeink a 14. ábrán láthatóak. A variancia-analízis szignifikáns különbséget mutatott a kezelések között [ $F(3, 22) = 4,315$ ;  $p < 0,01$ ], továbbá a kezelés x ülés interakció is szignifikáns volt [ $F(3, 78) = 3,881$ ;  $p < 0,05$ ]. Az ülések között azonban nem találtunk szignifikáns eltérést [ $F(1, 39) = 1,701$ ;  $p = 1,960$ ]. A Habitáció során a különböző csoportba tartozó állatok hasonló időt töltöttek a négy kvadránsban (az adatokat nem ábrázoltuk). Nem volt eltérő a Habitáció során a Kezelő kvadránsban töltött idő sem a négy csoport között, a Teszt során azonban szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között [ $F(3,$

35)= 5,313;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP injekció hatására ( $n = 11$ ) megnőtt az állatok által a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő a Habitációkor mérthez képest ( $p < 0,01$ ). Az SP-vel kezelt állatok mintegy 45%-a a legtöbb időt az SP-vel társított Kezelő kvadránsban töltötte a Teszt során.



14. ábra: Az amygdala centralis magjába adott NK1-receptor antagonisták hatása Helypreferencia tesztben.

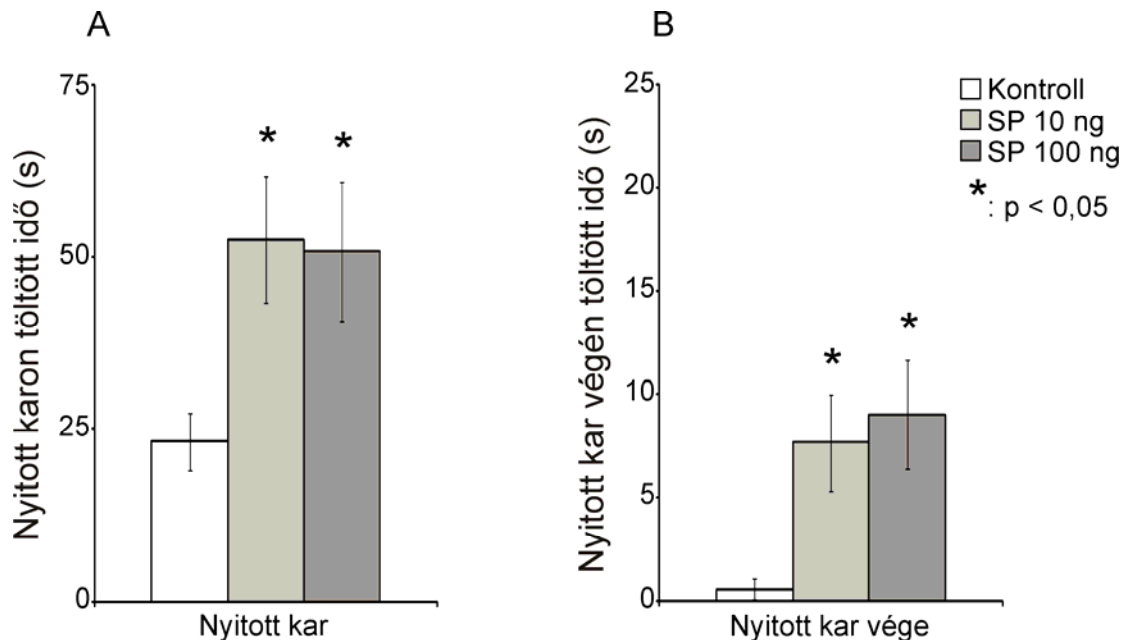
Szignifikáns különbség volt a Kezelő kvadránsban töltött időben az SP-t kapott csoport és a Kontroll csoport ( $n = 11$ ) között a Teszt során ( $p < 0,05$ ). Amikor 5 ng WIN51,708-at adtunk 15 perccel az SP-kezelést megelőzően (ANT+SP,  $n = 9$ ), az NK1 receptor antagonisták kivédte az SP pozitív megerősítő hatását. A Kezelő kvadránsban töltött idő szignifikánsan különbözött a csak SP-vel kezelt csoporttól ( $p < 0,05$ ), és nem tért el a Kontrollokétól. Az antagonistának önmagában (ANT,  $n = 9$ ) nem volt hatása az állatok viselkedésére, a Kezelő kvadránsban töltött idő nem nőtt, de nem is csökkent. A Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött idő nem különbözött sem a Habitációkor mért időtől, sem a Kontrollok által ott töltött időtől, szignifikánsan különbözött viszont az SP-vel kezelt csoporttól ( $p < 0,05$ ).

*A Helypreferencia teszt során az ACE-ba adott SP pozitív megerősítő hatásának bizonyult, a kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Kezelő kvadránsban töltött idő. Az SP e jutalmazó hatását feltehetően NK1 receptorok közvetítik, mivel az specifikus antagonisták előkezeléssel kivédhető volt.*



#### 4.3.2. Emelt keresztpalló teszt

Az ACE-ba adott SP lehetséges szorongásoldó illetve szorongás-fokozó hatásának tesztelésére végeztük el az Emelt keresztpalló tesztet, az eredmények a 15. ábrán és IV. Táblázatban találhatóak.



15. ábra: Az amygdala centralis magjába adott substance P hatása Emelt keresztpalló tesztben.

Szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között a Nyitott karon töltött időben [ANOVA,  $F(2, 29) = 4,642$ ;  $p < 0,05$ ], valamint a Nyitott kar végén töltött időben [ $F(2, 29) = 5,795$ ;  $p < 0,01$ ]. 10 ng SP hatására ( $n = 10$ ) szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő ( $p < 0,05$ ), a Kontrollokhoz képest ( $n = 12$ ). A 100 ng SP ( $n = 10$ ) hatására szintén szignifikánsan nőtt mind a Nyitott karon, mind a Nyitott kar végén töltött idő a Kontrollokhoz képest ( $p < 0,05$ ). A 10 ng és 100 ng SP-vel kezelt csoport között nem találtunk szignifikáns különbséget. A Zárt karon töltött idő nem változott szignifikánsan az SP kezelésekre hatására, bár tendencia mutatkozott a csökkenésre [ $F(2, 29) = 2,731$ ;  $p = 0,082$ ] (IV. Táblázat). A Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan különbözött a csoportok között [ $F(2, 29) = 3,860$ ;  $p < 0,05$ ]. A kis dózisu SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon töltött idő aránya a Kontroll csoportéhoz képest ( $p < 0,05$ ), a nagy dózisu SP kezelés hatására szintén nőtt ez az arány, a különbség azonban nem volt szignifikáns.

**IV. Táblázat:** Az amygdala centralis magjába adott substance P hatása Emelt keresztpalló tesztben.

	<b>Kontroll</b>	<b>SP 10 ng</b>	<b>SP 100 ng</b>
<b>Karon töltött idő (s)</b>			
Zárt kar	178,33 ± 12,09	144,81 ± 12,04	151,31 ± 8,86
Nyitott kar/ Zárt kar	0,148 ± 0,037	<b>0,437 ± 0,114*</b>	0,370 ± 0,074
<b>Megtett út (cm)</b>			
Összes	1340,27 ± 98,61	1554,44 ± 93,25	1581,13 ± 74,26
Zárt kar	944,53 ± 63,46	968,98 ± 84,59	950,59 ± 46,71
Nyitott kar	92,28 ± 23,93	<b>258,02 ± 46,22*</b>	<b>258,15 ± 49,01*</b>
Nyitott kar vége	2,16 ± 1,61	<b>27,71 ± 8,89*</b>	23,55 ± 8,10
<b>Belépések száma</b>			
Összes	14,25 ± 1,30	14,00 ± 1,26	15,60 ± 0,92
Zárt kar	11,08 ± 1,22	9,20 ± 1,22	11,50 ± 1,07
Nyitott kar	3,17 ± 0,54	4,80 ± 1,31	4,10 ± 0,69
Nyitott kar vége	0,08 ± 0,09	3,20 ± 1,85	1,30 ± 0,41
Nyitott kar/ Zárt kar	0,218 ± 0,042	0,331 ± 0,084	0,264 ± 0,042

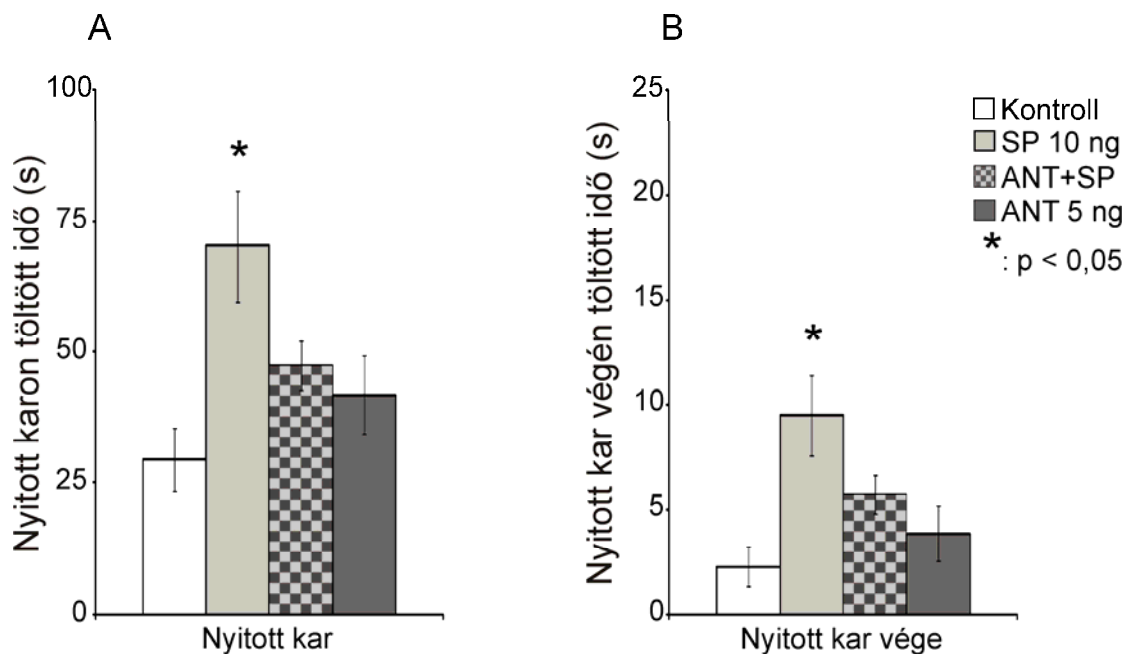
\*:  $p < 0,05$ , a Kontrollhoz képest

Szignifikáns különbséget találtunk a Nyitott karon [ $F(2, 29) = 6,176$ ;  $p < 0,01$ ], és a Nyitott kar végén megtett út esetében is [ $F(2, 29) = 4,583$ ;  $p < 0,05$ ]. Hasonlóan a karon töltött idők esetében tapasztaltakhoz, a 10 ng SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út a Kontrollokhoz képest ( $p < 0,05$ ). A 100 ng SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon megtett út ( $p < 0,05$ ), a Nyitott kar végén megtett út szintén nőtt a Kontrollokhoz képest, ez azonban csak tendencia volt, a különbség nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet ( $p = 0,068$ ). A 10 ng és 100 ng SP-vel kezelt csoportok között nem volt szignifikáns különbség (IV. Táblázat).

Az SP kezelés nem befolyásolta sem az Összes belépések számát, sem az állatok által Összesen megtett utat (IV. Táblázat), nem volt szignifikáns különbség a csoportok között a két paraméter tekintetében. Ezen adatok alapján arra következtethetünk, hogy a kezelések az állatok általános aktivitására nem voltak

hatással. Nem volt szignifikáns különbség a Nyitott kar látogatási gyakoriságában, a Nyitott kar végére történő belépések száma kis mértékben nőtt, azonban ez a különbség nem volt szignifikáns (IV. Táblázat). A Nyitott és Zárt karra történő belépések aránya szintén kis mértékben eltért az egyes csoportok esetében, a 10 ng SP-t kapott csoport esetében az arány nagyobb volt, mint a másik két csoportnál, a különbség azonban nem volt szignifikáns. Ezen utóbbi eredmények arra utalnak, hogy az SP kezelések hatására elsősorban nem a belépések száma nőtt meg, hanem inkább az az idő, amit az állatok egy-egy belépés alkalmával a Nyitott karon, illetve a Nyitott kar végén töltöttek.

A következő kísérletben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP anxiolitikus hatásának közvetítésében, eredményeink a 16. ábrán, és az V. Táblázatban láthatóak. A kísérletek során csak a 10 ng SP hatását próbáltuk antagonizálni, mivel a többi kísérletben is általában ez volt a hatásos dózis, illetve ebben a szituációban a kisebb dózisonak több paraméterre volt szignifikáns hatása (a Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya, valamint a Nyitott kar végén megtett út csak a 10 ng SP kezelés hatására nőtt meg szignifikánsan).



**16. ábra:** Az amygdala centralis magjába adott NK1-receptor antagonistá hatása Emelt keresztpalló tesztben.

Szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között a Nyitott karon [ $F(3, 41)= 5,539$ ;  $p < 0,01$ ], valamint a Nyitott kar végén töltött időben [ $F(3, 41)= 5,780$ ;  $p < 0,01$ ]. A Zárt karon töltött időben is volt eltérés a csoportok között, ez azonban nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet [ $F(3, 41)= 2,334$ ;  $p= 0,088$ ]. 10 ng SP hatására ( $n= 9$ ) szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő ( $p < 0,01$ ) a Kontrollokhoz képest ( $n= 9$ ). A Zárt karon töltött idő csökkent ugyan, ez azonban csak tendencia volt, az eltérés nem volt szignifikáns ( $p= 0,074$ ). 5 ng WIN51,708-at adva 15 perccel az SP-kezelést megelőzően (ANT + SP,  $n= 12$ ), az NK1 receptor antagonisták nem védte ki teljesen az SP szorongásoldó hatását. Az állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő csökkent ugyan, de nem különbözött szignifikánsan az SP-vel kezelt csoport esetében mért értéktől, ugyanakkor nem különbözött a Kontroll csoportnál kapott eredménytől sem. Az antagonistának önmagában (ANT,  $n = 11$ ) nem volt hatása az állatok viselkedésére, a karokon töltött idők nem különböztek a Kontroll csoportnál mért időktől, azonban szignifikánsan különböztek az SP-t kapott állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött időtől ( $p < 0,05$ ). A Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan különbözött a csoportok között [ $F(3, 41)= 4,911$ ;  $p < 0,01$ ]. Az SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon töltött idő aránya a Kontroll csoporthoz képest ( $p < 0,01$ ). Az antagonisták előkezelés ezt a hatást sem védte ki teljesen, az arány csökkent ugyan, de nem különbözött szignifikánsan sem az SP csoporttól, sem a Kontrollokétól. Az antagonistának önmagában nem volt hatása e paraméterre sem, a Nyitott és Zárt karon töltött idő aránya szintén szignifikánsan eltért az SP-t kapott csoporttól ( $p < 0,05$ ), és nem különbözött a Kontrollokétól.

Szignifikáns különbséget találtunk a Nyitott karon [ $F(3, 41)= 7,188$ ;  $p < 0,01$ ], és a Nyitott kar végén megtett út esetében is [ $F(3, 41)= 4,624$ ;  $p < 0,01$ ]. Hasonlóan a karokon töltött idők esetében tapasztaltakhoz, a 10 ng SP kezelés hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út ( $p < 0,001$  és  $p < 0,01$ ), a Kontrollokhoz képest (V. Táblázat). 5 ng NK1 receptor antagonisták kezelés 15 perccel az SP beadását megelőzően nem védte ki teljesen az SP hatását a fenti paraméterekre. Az állatok által a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén megtett út csökkent ugyan, de nem különbözött szignifikánsan az SP-vel kezelt csoport esetében mért értékektől, a Nyitott kar végén megtett út nem különbözött a

Kontroll csoport esetében kapott eredménytől, míg a Nyitott karon megtett út szignifikánsan nagyobb volt a Kontrollokénál ( $p < 0,05$ ). Az antagonistá, önmagában adva, nem volt hatással e paraméterekre, a karokon megtett út nem különbözött a Kontroll csoportnál mért értékektől. A Nyitott karon megtett út szignifikánsan különbözött az SP-t kapott állatok által ott megtett úttól ( $p < 0,01$ ), a Nyitott kar végén megtett út esetében a különbség nem volt szignifikáns ( $p = 0,096$ ).

**V. Táblázat:** Az amygdala centralis magjába adott NK1-receptor antagonistá hatása Emelt keresztpalló tesztben.

	Kontroll	SP 10 ng	Ant + SP	Ant 5 ng
<b>Karon töltött idő (s)</b>				
Zárt kar	174,63 ± 12,26	135,42 ± 14,24	144,41 ± 9,49	155,48 ± 8,78
Nyitott kar/ Zárt kar	0,197 ± 0,045	<b>0,675 ± 0,173*</b>	0,360 ± 0,052	0,300 ± 0,210
<b>Megtett út (cm)</b>				
Összes	1338,69 ± 100,28	1597,95 ± 64,08	<b>1703,06 ± 101,34*</b>	1558,87 ± 101,38
Zárt kar	957,74 ± 65,33	987,38 ± 74,82	1088,31 ± 75,98	1046,81 ± 77,07
Nyitott kar	102,78 ± 27,59	<b>308,90 ± 36,46*</b>	<b>229,81 ± 28,59*</b>	179,49 ± 38,19
Nyitott kar vége	5,11 ± 2,38	<b>33,07 ± 7,53*</b>	14,68 ± 3,86	14,88 ± 6,89
<b>Belépések száma</b>				
Összes	15,25 ± 1,26	18,72 ± 2,38	17,60 ± 1,65	15,08 ± 1,45
Zárt kar	11,00 ± 1,15	9,27 ± 1,22	11,70 ± 1,11	10,67 ± 0,82
Nyitott kar	4,25 ± 0,91	6,82 ± 1,39	5,90 ± 0,75	4,42 ± 1,04
Nyitott kar vége	0,58 ± 0,24	<b>3,82 ± 1,69*</b>	1,60 ± 0,31	0,83 ± 0,34
Nyitott kar/ Zárt kar	0,449 ± 0,137	1,143 ± 0,392	0,510 ± 0,064	0,420 ± 0,096

\*:  $p < 0,05$ , a Kontrollhoz képest

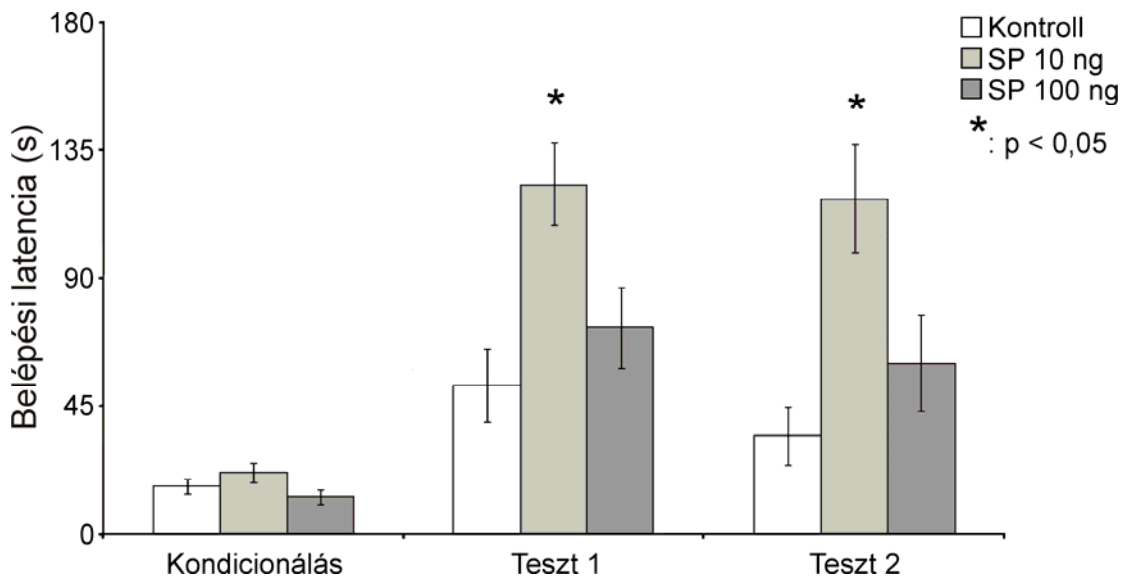
Az SP és antagonistá kezelés nem befolyásolta sem az állatok által Összesen megtett utat, sem az Összes belépések számát (V. Táblázat). Az Összes belépések száma kis mértékben növekedett az SP és az ANT+SP csoportok esetében, azonban a különbség nem volt szignifikáns. Az Összes megtett út esetében a csoportok közötti különbség éppen nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet [ $F(3, 41) = 2,724$ ;  $p = 0,057$ ]. Az SP-t kapott csoport esetében kis mértékben nőtt az Összes megtett út a

Kontroll csoporthoz képest, ez különbség azonban nem volt szignifikáns. Az ANT+SP csoport azonban szignifikánsan nagyobb utat tett meg, mint a Kontroll csoport ( $p < 0,05$ ). Ezen adatok alapján feltételezhetjük, hogy az antagonisták kezelése az állatok általános aktivitását fokozhatták, ami ellensúlyozhatta az SP hatását antagonizáló hatást. Szignifikánsan nőtt ugyanakkor a Nyitott kar végének látogatási gyakorisága [ $F(3, 41) = 3,167$ ;  $p < 0,05$ ]. 10 ng SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott kar végére történő belépések száma a Kontrollokhoz képest ( $p < 0,05$ ), az ANT és ANT+SP csoportokhoz képest is nőtt ugyan, ez a különbség azonban nem volt szignifikáns (V. Táblázat). Nem volt különbség ugyanakkor a Zárt illetve Nyitott karra történt belépések számában a csoportok között. A Nyitott és Zárt karra történő belépések aránya szintén különbözött kis mértékben az egyes csoportok között, ez az eltérés azonban éppen nem volt szignifikáns [ $F(3, 41) = 2,814$ ;  $p = 0,051$ ]. Az SP-t kapott csoport esetében az arány nagyobb volt, mint a másik három csoport esetében, a különbség azonban nem érte el a szignifikancia-szintet. Ezen eredmények azt sugallják, hogy a 10 ng SP hatására elsősorban nem a belépések száma nőtt meg, hanem inkább az az idő, amit az állatok egy-egy belépés alkalmával a Nyitott karon, illetve a Nyitott kar végén töltöttek.

*Az Emelt keresztpalló teszt során az ACE-ba adott SP szorongásoldó hatásának bizonyult. Az ACE-ban mind a kis dózisú, mind a nagy dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út. A kezelések ugyanakkor nem változtatták meg az állatok általános aktivitását. Az SP e szorongásoldó hatását a specifikus antagonisták előkezelés nem függesztette fel, csak gyengítette. A Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út csökkent ugyan az antagonistával történt előkezelés hatására, a különbség azonban nem volt szignifikáns, ugyanakkor az antagonistával történt előkezelés hatására eltűnt a szignifikáns különbség a Kontrollokhoz képest. Ezen eredmények alapján az anxiolitikus hatás közvetítésében az ACE-ban az NK1 receptorok csak részben játszanak szerepet, feltehetően az ott kis számban előforduló NK3 receptoroknak is szerepük van. A karokra történő belépések számának elemzése alapján az is elmondható, hogy a belépések száma nem nőtt meg a kezelések hatására, inkább az állatok által egy-egy belépés alkalmával ott töltött idő változott.*

#### 4.3.3. Passzív elhárító teszt

Az ACE-ba adott SP hatását mutatjuk be a 17. ábrán, Passzív elhárító szituációban gyenge sokk (0,5 mA) alkalmazását követően. A variancia-analízis eredménye alapján elmondhatjuk, hogy a kísérletben szignifikáns különbség volt az ülések között [F(2, 63)= 28,597;  $p < 0,001$ ], a kezelések között [F(2, 59)= 16,649;  $p < 0,001$ ], és szignifikáns interakció volt a kezelések és ülések között [F(4, 167)= 3,685;  $p < 0,01$ ]. A kísérletben mindhárom állatcsoport tanult, szignifikáns különbség volt az állatok Belépési latenciája között az egyes ülések során, mind a Kontroll [F(2, 56)= 3,916;  $p < 0,05$ ], mind a 10 ng SP-vel kezelt csoport [F(2, 55)= 22,251;  $p < 0,001$ ], mind a 100 ng SP-t kapott állatok esetében [F(2, 56)= 5,893;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP-vel kezelt csoport esetében a Belépési latencia szignifikánsan nagyobb volt a Kondicionáláskor mérthez képest mind a Teszt1, mind a Teszt2 során ( $p < 0,001$ ).

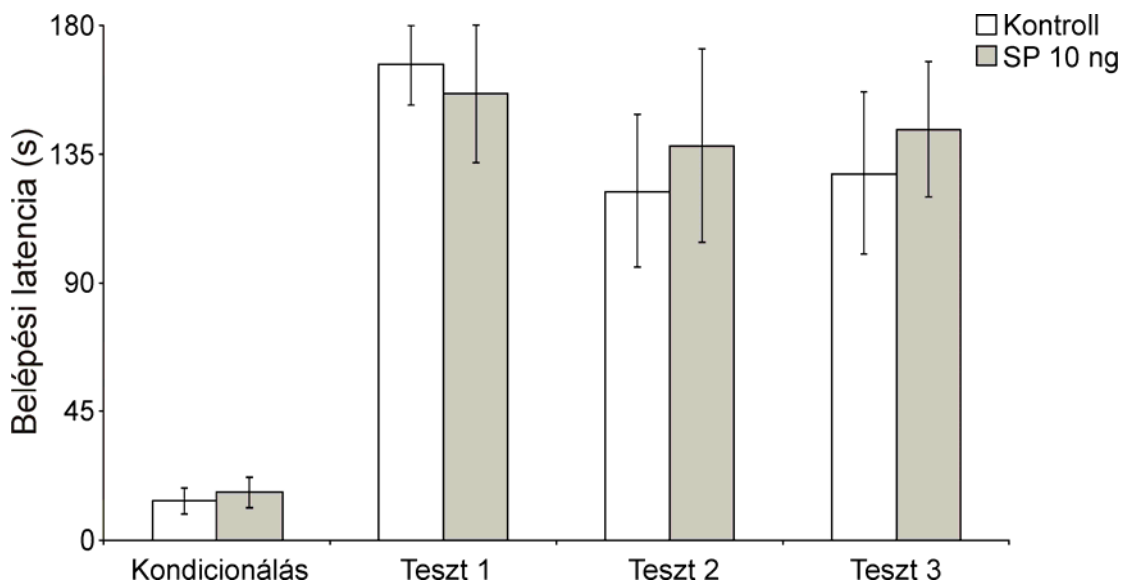


17. ábra: Az amygdala centralis magjába adott substance P hatása Passzív elhárító tesztben, gyenge sokkot alkalmazva.

A 100 ng SP-t kapott csoportban a Belépési latencia szintén szignifikánsan nőtt mind a Teszt1, mind a Teszt2 során ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ) a Kondicionáláshoz képest. A Kontroll csoport esetében is megfigyelhető volt a Belépési latencia növekedése a Kondicionáláskor mérthez képest, de csak a Teszt1 során volt szignifikáns a különbség ( $p < 0,05$ ), a Teszt2 esetében nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet. A 10 ng SP-t kapott állatok ( $n=22$ ) azonban szignifikánsan

jobban tanultak a Kontroll (n= 23,  $p < 0,001$ ) és a 100 ng SP-t kapott állatoknál is (n= 21,  $p < 0,001$ ). Kondicionáláskor nem volt szignifikáns eltérés a csoportok között, míg a Tesztek során mért Belépési latenciában szignifikáns volt a különbség, mind a Teszt1 [ $F(2, 63) = 7,487$ ;  $p < 0,01$ ], mind a Teszt2 során [ $F(2, 41) = 6, 849$ ;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP-vel kezelt állatok Belépési latenciája szignifikánsan nagyobb volt a Kontroll és a 100 ng SP-vel kezelt csoporthoz viszonyítva mind a Teszt1 ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ), mind a Teszt2 során ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ). A 100 ng SP kezelés hatására kis mértékben nőtt a Belépési latencia a Kontroll csoportnál mérthez képest a Tesztek során, azonban nem különbözött szignifikánsan azoktól.

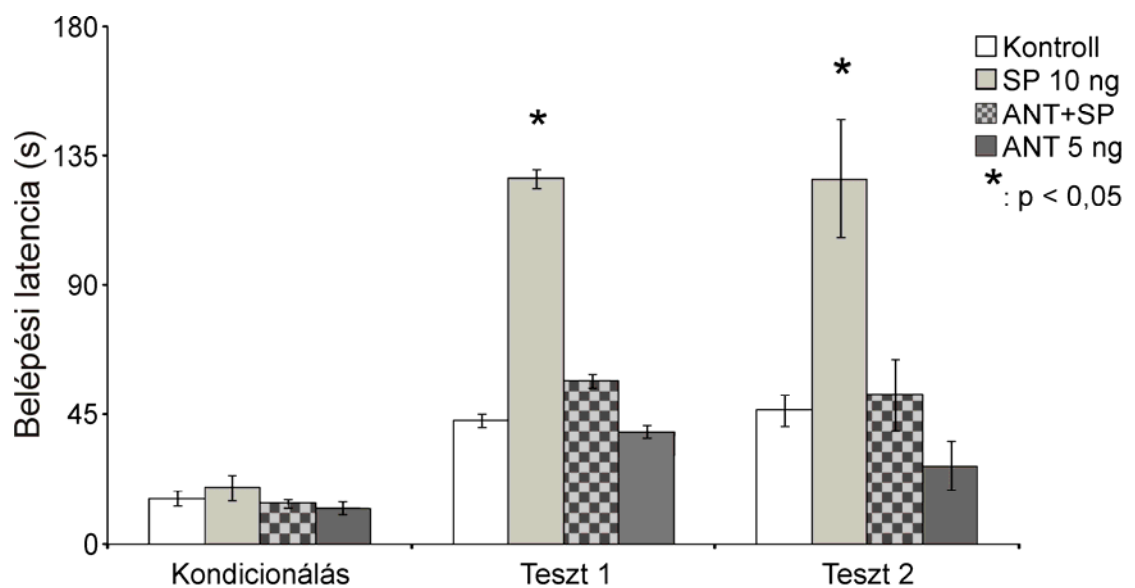
Következő kísérletünkben nagy erősségű sokkot alkalmazva vizsgáltuk a 10 ng SP hatását, az eredményeket a 18. ábrán jelenítettük meg. Csupán a kis dózisú SP hatását vizsgáltuk e szituációban, mivel gyenge sokk esetén is ez a dózis volt hatásos. A variancia-analízis kimutatta a szignifikáns tanulási hatást mind a Kontroll csoportban [ $F(3, 20) = 10,011$ ;  $p < 0,001$ ], mind a 10 ng SP-vel kezelt állatok esetében [ $F(3, 16) = 7,327$ ;  $p < 0,01$ ]. Minden állat megtanulta a paradigmát, a Belépési latencia a maximális érték (180 s) közelében volt minden Teszt során, mind a Kontroll (n= 6), mind az SP-vel kezelt csoportban (n= 5). Nem volt szignifikáns különbség a Belépési latenciák között sem a Kondicionáláskor, sem a három Teszt során a két csoport között.



**18. ábra:** Az amygdala centralis magjába adott substance P hatása Passzív elhárító tesztben, erős sokkot alkalmazva.



További kísérletünkben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP tanulást serkentő hatásának közvetítésében. Specifikus NK1 receptor antagonistá (WIN51,708) előkezelés alkalmazásával próbáltuk felfüggeszteni a 10 ng dózisu SP-kezelés hatását a Passzív elhárító tanulásra, a kapott eredmény a 19. ábrán látható. A variancia-analízis eredménye alapján elmondhatjuk, hogy a kísérletben szignifikáns különbség volt az ülések között [ $F(2, 51) = 17,547$ ;  $p < 0,001$ ], a kezelések között [ $F(3, 38) = 11,937$ ;  $p < 0,001$ ], és szignifikáns interakció volt a kezelések és ülések között [ $F(6, 120) = 2,732$ ;  $p < 0,05$ ]. A 10 ng SP-t kapott állatok (SP,  $n = 12$ ) szignifikánsan jobban tanultak mindhárom másik csoportnál ( $p < 0,001$ ). A Belépési latenciák átlagainak összehasonlításából kiderült, hogy a Kondicionálás során nem volt eltérés a csoportok között, míg szignifikáns volt a különbség a Teszt1 [ $F(3, 47) = 5,438$ ;  $p < 0,01$ ] és a Teszt2 során is [ $F(3, 26) = 4,892$ ;  $p < 0,01$ ]. A 10 ng SP szignifikánsan javította a tanulást a Kontrollokhoz képest ( $n = 14$ ), a két csoport Belépési latenciája szignifikánsan különbözött a Teszt1 és a Teszt2 során ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ).



**19. ábra:** Az amygdala centralis magjába adott NK1-receptor antagonistá hatása Passzív elhárító tesztben, gyenge sokkot alkalmazva.

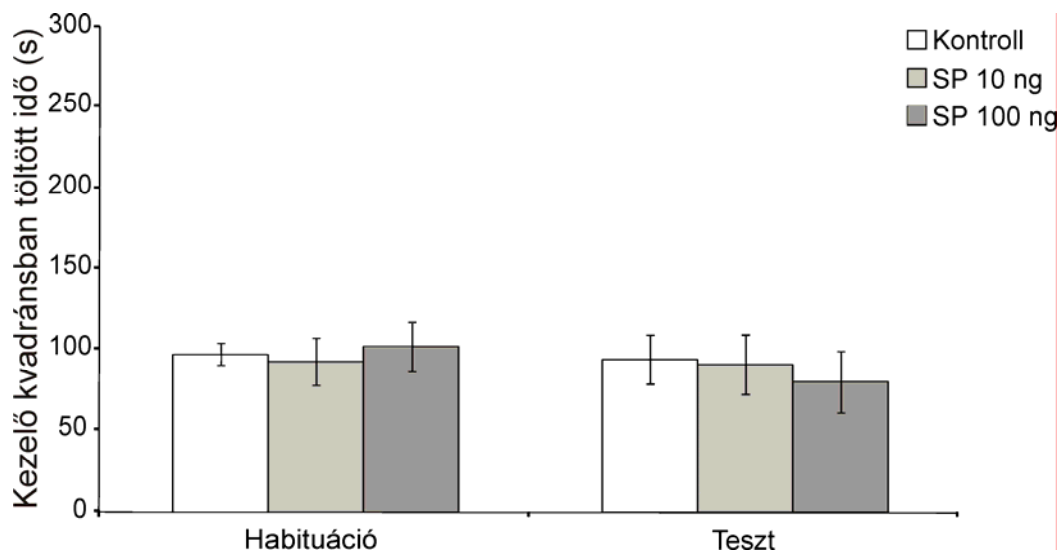
Az NK1 receptor antagonistista WIN51,708 előkezelés (ANT+SP, n= 15) kivédte az SP tanulást serkentő hatását, a Belépési latencia ebben a csoportban szignifikánsan kisebb volt a csak SP-vel kezelt csoportéhoz képest mindkét Teszt során ( $p < 0,05$ ), és nem különbözött a Kontroll csoport esetében mért értéktől. Az antagonistával való kezelés önmagában nem volt hatással a Passzív elhárító tanulásra, e csoport (ANT, n= 10) Belépési latenciája nem különbözött szignifikánsan a Kontroll csoportétól a Tesztek során, viszont szignifikánsan kisebb volt az SP-csoport Belépési latenciájánál, mindkét Teszt során ( $p < 0,01$  és  $p < 0,05$ ). Szignifikáns tanulási hatást találtunk az SP-vel kezelt csoport esetében [ $F(2, 29) = 14,385$ ;  $p < 0,001$ ]. A Kontroll [ $F(2, 34) = 2,509$ ;  $p = 0,096$ ] és az ANT+SP csoportoknál [ $F(2, 35) = 3,051$ ;  $p = 0,060$ ] csak a tendencia volt kimutatható, míg a csak antagonistát kapott állatok esetében a tendencia sem mutatkozott [ $F(2, 22) = 1,290$ ,  $p = 0,295$ ], az ülések közötti különbség azonban egyik csoport esetében sem volt szignifikáns. Az SP-vel kezelt csoport Belépési latenciája ugyanakkor szignifikánsan nagyobb volt az első és második Teszt során is a Kondicionáláskor mért latenciánál ( $p < 0,001$  és  $p < 0,01$ ). A másik három csoport (azaz a Kontroll, ANT és ANT+SP) esetében a Belépési latencia kis mértékű növekedése szintén megfigyelhető volt a két Teszt során. Az ANT+SP csoport esetében szignifikáns volt a latenciák különbsége a Kondicionálás és a Teszt1 között ( $p < 0,05$ ), míg a Teszt2 során a latencia-növekedés nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet. A Kontroll csoport esetében a Kondicionálás és a Teszt2 között találtunk szignifikáns eltérést ( $p < 0,05$ ), míg a Teszt1 esetében csak tendencia mutatkozott a latencia növekedésére ( $p = 0,055$ ). Az ANT csoport esetében nem volt szignifikáns a különbség az ülések között.

*A Passzív elhárító teszt során igazoltuk az ACE-ba adott SP tanulást facilitáló hatását. Gyenge sokk alkalmazásakor a kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, amely azt jelzi, hogy ezen állatok jobban tanultak. Az SP e hatása hosszabb távú volt, egy héttel a Teszt után is szignifikáns volt a különbség a csoportok között. Az SP tanulást serkentő hatását feltehetően NK1 receptorok közvetítik, mivel az specifikus antagonistával előkezeléssel kivédhető volt. Erős sokk esetén az SP nem csökkentette a Belépési latenciát, ami azt jelzi, hogy a kis dózisú SP az ACE-ban nem interferál a hosszú távú memóriával.*

#### 4.4. Amygdala basolateralis mag

##### 4.4.1. Helypreferencia teszt

A Helypreferencia tesztet elvégeztük az ABL-be adott SP pozitív megerősítő hatásának vizsgálatára is. A Habitúció és a Teszt során a Kezelő kvadránsban töltött időt a 20. ábrán mutatjuk be. A variancia-analízis nem mutatott szignifikáns különbséget sem a kezelések között [ $F(2, 12) = 0,046$ ;  $p = 0,955$ ], sem az ülések között [ $F(1, 16) = 0,478$ ;  $p = 0,495$ ], továbbá a kezelés x ülés interakció sem volt szignifikáns [ $F(2, 32) = 0,226$ ;  $p = 0,799$ ]. A Habitúció során nem találtunk különbséget az egyes kvadránsokban töltött időkből egyik csoportba tartozó állatok esetében sem (az adatokat nem ábrázoltuk). Nem volt eltérés a Kezelő kvadránsban töltött időben a csoportok között, sem a Habitúció, sem a Teszt során [ $F(2, 13) = 0,131$ ;  $p = 0,878$  és  $F(2, 13) = 0,138$ ;  $p = 0,872$ ]. Sem a Kontroll állatok ( $n = 6$ ), sem a 10 ng SP-t kapott csoport ( $n = 5$ ) nem töltött sem több, sem kevesebb időt a Kezelő kvadránsban a Teszt során, mint a Habitúciókor. A 100 ng SP-t kapott állatok ( $n = 5$ ) valamivel kevesebb időt töltöttek a Kezelő kvadránsban, a különbség azonban nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet.

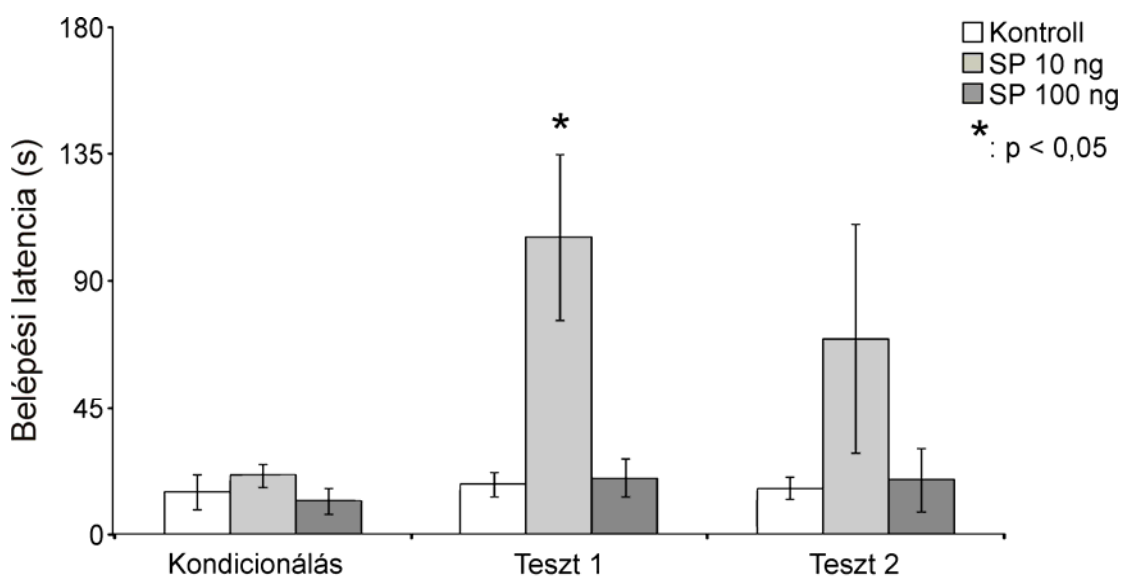


20. ábra: Az amygdala basolateralis magjába adott substance P hatása Helypreferencia tesztben..

*A Helypreferencia teszt során nem találtuk pozitív megerősítő hatásának az ABL-be adott SP-t, a kis dózis hatására nem változott a Kezelő kvadránsban töltött idő, a nagy dózisú SP hatására kissé csökkent ez az idő, a különbség azonban nem volt szignifikáns.*

#### 4.4.2. Passzív elhárító teszt

Az ABL-be adott SP hatását mutatja a 21. ábra Passzív elhárító paradigmában gyenge sokk (0,5 mA) alkalmazásakor. A variancia-analízis eredménye alapján elmondhatjuk, hogy a kísérletben szignifikáns különbség volt az ülések között [F(2, 13)= 3,392;  $p < 0,05$ ] és a kezelések között [F(2, 11)= 7,792;  $p < 0,01$ ]. A kezelések és ülések közötti interakció azonban nem volt szignifikáns, csak a tendencia mutatkozott [F(4, 35)= 2,206;  $p = 0,088$ ]. Kondicionáláskor nem volt különbség a csoportok között, míg az első Teszt során mért Belépési latenciák közötti különbség szignifikáns volt [F(2, 13)= 6,726;  $p < 0,05$ ]. A 10 ng SP-t kapott állatok ( $n = 6$ ) szignifikánsan jobban tanultak a Kontrolloknál ( $n = 5$ ,  $p < 0,01$ ) és a 100 ng SP-t kapott állatoknál ( $n = 5$ ,  $p < 0,01$ ). A 10 ng SP-vel kezelt állatok Belépési latenciája szignifikánsan nagyobb volt a Teszt1 során, mind a Kontroll és a 100 ng SP-vel kezelt csoporthoz viszonyítva ( $p < 0,05$ ), mind a Kondicionáláskor mért értékekhez képest ( $p < 0,05$ ).



21. ábra: Az amygdala basolaterális magjába adott substance P hatása Passzív elhárító tesztben, gyenge sokkot alkalmazva.

A második Teszt során a Belépési latencia csökkent, ekkor már nem volt szignifikáns a különbség sem a Kondicionáláskor mért latenciához képest, sem a másik két csoportéhoz viszonyítva. A 100 ng SP-t kapott csoportban a Belépési latencia csak kis mértékben nőtt mind a Teszt1, mind a Teszt2 során a

Kondicionáláshoz képest, míg a Kontroll csoport esetében ez a növekedés nem volt megfigyelhető.

*A Passzív elhárító teszt során az ABL-be adott SP-t tanulást serkentő hatásúnak találtuk. A kis dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, amely azt jelzi, hogy ezen állatok jobban tanultak. Az SP e hatása azonban rövidtávú volt, egy héttel a Teszt után már nem volt szignifikáns a különbség a csoportok teljesítménye között.*

## **5. DISZKUSSZIÓ**

### **5.1. Az eredmények értékelése**

#### **5.1.1. Helypreferencia teszt**

A kondicionált helypreferenciát széleskörűen használják egyes anyagok jutalmazó hatásának tesztelésére [356]. A két kompartmentes ketrecek szélésebb körben alkalmazzák, azonban az állatokban a kezelés előtt kialakul preferencia, az egyik térfélen több időt töltenek már a kezelés előtt is. A Huston és munkacsoportja által kifejlesztett és általunk is használt, kör alakú open fieldben végzett, úgynevezett „karám” ('corral') módszer előnye, hogy a környezet egyöntetűsége következtében nem alakul ki előzetes preferencia, az apparátus egyik részében sem töltenek szignifikánsan több időt az állatok a kezelése előtt. Mivel az SP irodalomból ismert pozitív megerősítő hatását a perifériás beadásokat követően és az NBM-be injektálva, valamint averzív hatását a PAG-ban szintén ezzel a módszerrel mutatták ki [72,133,137,268], így az eredmények összehasonlíthatósága érdekében e paradigmában vizsgáltuk a GP-be és AMY-ba adott SP jutalmazó szerepét is.

Eredményeink igazolták az SP pozitív megerősítő hatását Helypreferencia tesztben. A GP-ben a Teszt során mindkét SP dózis hatására nőtt a kezelő kvadránsban töltött idő, a különbség azonban csak a 10 ng esetében volt szignifikáns. Az ACE-ba adott SP-nek szintén volt jutalmazó hatása e paradigmában, ebben a struktúrában is a kisebb dózist találtuk hatásosnak, míg a 100 ng dózisú SP hatására nem változott az SP-vel társított negyedben töltött idő. Az ABL-ben az SP egyik dóziséval sem sikerült pozitív megerősítő hatást kimutatnunk. Az ACE-ban és GP-ben kapott eredményeink megfelelnek a korábbiakban tapasztalt dózis-hatás

összefüggésnek [133,158,272], kísérleteinkben a kisebb dózisú (10 ng) SP pozitív megerősítő hatásának bizonyult, míg a nagyobb dózis (100 ng) hatástalan volt.

A korábbi kísérletekben az SP jutalmazó hatása függött az alkalmazott dózistól, valamint attól is, hogy mely agyterületre adták. Az SP C-terminális heptapeptid analógjának (DiMeC7) averzív illetve jutalmazó hatása dózisfüggő volt, a kisebb dózist találták pozitív megerősítő hatásúnak, míg a nagyobb dózisokat averzívnek. A patkány neostriatumba injektált SP jutalmazó hatásának bizonyult a két kompartmentes helypreferencia tesztben. Az a csoport ugyanis, amelyik SP injekciókat kapott, több időt töltött az adott térfélen, mint a kontroll csoport. Operáns kondicionálás során kémiai öningerlést is sikerült kiépíteni SP-vel, e kísérletekben az anyagbeadás a caudatum-putamen komplex ventromedialis részébe történt [193]. Az SP pozitív megerősítő hatását igazolták az LH-ba, a medialis septumba, valamint az NBM-be injektálva különböző helypreferencia tesztekben [133,268,341]. Ugyanakkor hasonló dózisú SP averzívnek bizonyult a PAG területére injektálva, továbbá a lateralis septumban [72,110]. Az SN-be és az AMed-be injektált SP hatása a helypreferencia tesztben nem egyértelműen averzív, inkább kevert volt [341]. Az SN-be adott SP hatására az 50%-os véletlen szint körül ingadozott a droggal társított térfélen töltött idő. Az AMed-be injektált SP hatására az állatok az első ülés alkalmával gyakrabban mentek be az SP-vel társított dobozba, a további ülések során azonban a belépések száma fokozatosan csökkent. Az ACE-ban ugyanakkor kísérleteink során egyértelműen pozitív megerősítő hatásúnak bizonyult az SP. Mivel a két eredményt nem ugyanazon paradigmában kaptuk, ez is magyarázhatja az eltérő eredményeket. A Stäubli és Huston [341] által végzett kísérletben összesen hétszer adtak be SP-t, míg az általunk végzett teszt során csak kétszer kaptak az állatok injekciót. A fenti kísérlet során az első néhány SP injekció hatására még nagyobb volt az SP-vel társított kompartmentbe történő belépések száma, mint a kontrollok esetében, az csak később csökkent a kontroll szint alá. A többszöri anyagbeadás hatására megváltozhatott a receptor-tolerancia, vagy a receptorok érzékenysége; lehetséges az is, hogy egyes SP fragmentek akkumulálódnak a beadás helyén, amelyek gátolják a további beadások hatását. Az eltérő eredmények magyarázhatóak lehetnek azonban a két különböző AMY mag eltérő lokális neuronális hálózataival [292], az eltérő afferens és efferens kapcsolatrendszerével

[197,201,343,362,363,366], valamint az SP-immunreaktív elemek eltérő denzitásával vagy eloszlásával is [7,213,227,276,315,334]. Az AMY különböző magjai funkciójukat tekintve is heterogének, mint azt a Bevezetés fejezetben már leírtuk [107,359].

Vizsgáltuk a továbbiakban az SP-t legnagyobb affinitással kötő *NK1 receptorok* szerepét a hatások közvetítésében. Az SP elsősorban NK1 receptorokhoz köt, de a tachykininek kis szelektivitásúak és képesek mindhárom típusú receptorukat aktiválni [223]. Az NK receptor mRNS-ek regionális eloszlását vizsgálva, valamint immunhisztokémiai módszerekkel kimutatták patkányban, hogy az ACE-ban és a GP-ben is mind NK1, mind NK3 receptorok előfordulnak, bár ez utóbbiak kisebb denzitásban. Elmondható továbbá, hogy mind az NK1, mind az NK3 receptorok kisebb mennyiségben találhatóak meg a GP-ben, mint az ACE-ban [227,276,315,334]. Azonban, mivel mindkét receptor-típus mindegyik struktúrában előfordul, az SP bármelyikhez tud kapcsolódni, és azon keresztül hatást kifejteni. Kísérleti eredményeink azonban igazolják azon feltételezésünket, mely szerint az SP jutalmazó hatása specifikus az ACE-ban és a GP-ben, az NK1 receptor antagonistá előkezeléssel ugyanis sikerült kivédeni az ACE-ba és a GP-be adott SP pozitív megerősítő hatását. A kísérletek során a nem-peptid típusú specifikus NK1 receptor antagonistá WIN51,708-at alkalmaztunk. Ezen antagonisták előnye a peptid-típusúakkal szemben az, hogy stabilabbak, másrészt nincs parciális agonista hatásuk, mivel más a szerkezetük, mint magának az SP-nek. Kísérleti eredményeink alapján elmondhatjuk tehát, hogy mindkét struktúrában NK1 receptorok vesznek részt a jutalmazó hatások közvetítésében. Az antagonizáló hatás magyarázatára felmerül az a lehetőség, hogy ez az antagonistá averzív illetve anxiogén hatású, ezáltal csökkenti az adott térrészben töltött időt. Az SP-vel közel ekvimoláris dózisban alkalmazott NK1 receptor antagonistá WIN51,708-nak önmagában adva azonban nem volt hatása az állatok viselkedésére, nem okozott sem helypreferenciát, sem hely-averziót. Ez ellentmond azon feltételezésnek, hogy az antagonistá azáltal gyengítette az SP pozitív hatását, hogy averzív hatással rendelkezik. Nagyobb dózisú antagonistá előkezelést nem alkalmaztunk, a célunk ugyanis annak tesztelése volt, hogy az SP pozitív megerősítő hatása kivédhető-e az NK1 receptor antagonistá előkezeléssel. A nagyobb dózisban alkalmazott antagonistá averzív hatása tehát nem zárható ki.

A GP-t általában úgy tekintik, mint relé állomást a BG-okon belül, amelynek elsősorban a szenzoros-motoros integráció, a mozgások megtervezése és programozása, indítása az elsődleges feladata [140,208]. Számos adat utal azonban arra, hogy a BG-oknak szerepe lehet a jutalom előrejelzésében, motivációs folyamatokban, valamint a motivációk és a motoros funkciók integrációjában, amint azt a Bevezetés fejezetben leírtuk [20,60,150,274,325]. Kísérleti eredményeink alapján elmondható, hogy a GP-be injektált SP jutalmazó hatású volt a Helypreferencia tesztben is, ezen agyterületnek tehát szintén szerepe lehet a pozitív megerősítő folyamatokban. Eredményünk összhangban van számos irodalmi adattal, amelyek alátámasztják a GP szerepét a pozitív megerősítő – jutalmazó folyamatok szabályozásában [9,156,168,246,274,280,325]. Az ACE-ban kapott eredményeink egybehangzóak számos tanulmánnyal, amelyek az AMY, azon belül is az ACE fontos szerepét hangsúlyozzák a jutalmazás és az inger-jutalom asszociációs tanulás agyi folyamataiban [17,38,43,284,302,307,354,376,385]. Az ABL-ben nem tudtuk igazolni az SP pozitív megerősítő hatását. Bár egyes eredmények szerint az ABL-nek nincs szerepe a jutalmazásos tanulásban [182,284], számos irodalmi adat ellentmond ennek, amely az ABL szerepét igazolja a jutalmazó folyamatokban. Elektromos öningerlés az ABL-be helyezett elektródával is kiépíthető [271]. Amfetaminnal kiépíthető helypreferencia, az ABL-be injektált bipuvacain, amely lokális anesztetikus hatásának következtében időlegesen és reverzibilisen inaktiválja az adott területet, meggátolta a helypreferencia kialakulását [154]. ABL léziót követően megnőtt az i.v. kokain-önadagolási ráta, az ABL-irtott patkányok szignifikánsan többet nyomták az aktív pedált, amely után kokain infúziót kaptak, míg az inaktív pedálon nem változott a pedálnyomások száma [370]. DA D1-receptor antagonistá infúziója az ABL-be szintén fokozta a kokain-önadagolási rátát, nagyobb arányban, mint a NAC-ba injektálást követően. [241]. Az ABL-léziós állatok lassabban voltak képesek megtanulni a másodlagos megerősítést [370]. A NAC-ba történő amfetamin-injekciót követően a kontroll állatok többször nyomják a pedált a kondicionált másodlagos megerősítőért, míg az ABL excitotoxikus lézióit követően ez a hatás elmarad [41]. A jutalmazás mértékének csökkenésére szintén nem reagáltak ezek az állatok, míg az ACE lézióit követően nem volt hasonló változás egyik vizsgált paradigmában sem [141]. Az ABL-nek szerepet tulajdonítanak a drog-addikció



kialakulásában is [328]. Az általunk kapott eredmények, amelyek nem igazolták az SP jutalmazó hatását az ABL-ben, és az irodalomban talált adatok, amelyek az ABL jutalmazásban betöltött szerepét támasztják alá, azt a feltételezést erősítik, hogy, bár az ABL részt vesz a jutalmazó folyamatok szabályozásában, az SP-nek ebben nincs szerepe. Az ACE-ban és ABL-ben kapott eltérő eredmények magyarázata lehet egyrészt a két struktúra eltérő szerepe a pozitív megerősítő folyamatokban, amelyekre a fenti adatok utalnak. További magyarázatot adhat a két struktúra eltérő afferens és efferens kapcsolatrendszer, és/vagy különböző SP-erg beidegzése, valamint az eltérő NK-receptor denzitások, amelyeket már a Bevezetésben és e fejezetben korábban említettünk. Eltérő a két struktúra kapcsolatrendszer DA-erg struktúrákkal, ezt azonban a fejezet későbbi részében ismertetjük részletesebben.

Számos addiktív drogról kimutatták, hogy lokomotoros aktivitást fokozó hatásuk is van. Azon anyagok, amelyek fokozzák a lokomóciót, helypreferenciát is okozhatnak, míg olyan anyagok, amelyek hipoaktivitást okoznak, hely-averziót is indukálhatnak [332]. Vannak azonban ennek ellentmondó megfigyelések is. Brown és munkatársai vizsgálták kinolinsav-indukálta AMY léziók hatását a kokainnal kiváltott kondicionált lokomócióra és helypreferenciára. Az AMY léziók nem befolyásolták sem az alap-, sem a kokain-indukálta lokomóciót, ezzel szemben a kokainnal kiváltott helypreferenciát teljesen blokkolták [38]. E kísérleti adatok igazolják, hogy a kokain pszichomotoros stimuláló, valamint jutalmazó hatásait különbözőképpen befolyásolja az AMY-lézió. Egy másik kísérletben Huston és munkatársai vizsgálták az NBM-be adott SP hatását a lokomócióra és sztereotip viselkedési formákra. Az SP akut magatartási hatásai nem voltak összhangban a helypreferenciát okozó hatásokkal, így valószínűsíthető, hogy az SP motoros és jutalmazó hatása is elválik egymástól [157]. Kísérleteink során nem tapasztaltuk a motoros aktivitás változását egyik kezelt állatcsoport esetében sem, így ebben az esetben is elmondható, hogy az SP jutalmazó hatása nem a motoros aktivációnak tulajdonítható. Feltételezhető azonban az is, hogy egy állat azért tölt több időt az apparátus egy adott kvadránsában, mert sokat ül az adott helyen, ez a „hipoaktivitás” pedig egy anyag anxiogén hatásával is magyarázható lehet. A tesztek során a Kezelő kvadránsok kiegyenlítették voltak a csoportokon belül, mind a négy kvadránsban kondicionáltunk patkányokat, így a kialakuló helypreferencia független volt egy adott inger-konfigurációtól. Az e

módszerrel kapott adatok tehát nem magyarázhatóak olyan nem-asszociatív tényezőkkel, mint az anyagok anxiolitikus hatása, és/vagy a kevésbé preferált oldal averzív hatásának csökkenése, amelyek gyakran igazolhatóak a két kompartmentes helypreferencia tesztek során [135]. Az SP-nek kimutatták mind anxiogén, mind anxiolitikus hatását, az alkalmazott dózistól és a beadás helyétől függően, eredményeink azonban ellentmondanak a feltételezésnek, ugyanis az állatok nem voltak kevésbé aktívak az SP kezelést követően. Az Emelt keresztpalló tesztek során bebizonyosodott az is, hogy az SP-nek az e paradigmában hatásos dózisa nem anxiogén hatású, ezen eredményeket a következő fejezetben ismertetjük.

Felmerül a kérdés, hogy az SP pozitív megerősítő hatása hogyan alakulhat ki. Irodalmi adatok alapján a *mezolimbikus DA rendszer* (MLDR) kulcsfontosságú a jutalmazó, pozitív megerősítő folyamatokban, az inger-jutalom asszociációs tanulásban, továbbá a drogok és természetes jutalmak megerősítő hatásainak közvetítésében [188]. E folyamatokban fontos szerepet tulajdonítanak a NAC-ban és az AMY-ban történő DA-felszabadulásnak. A központi idegrendszeren belül SP-immunreaktív sejtek sok olyan régióban előfordulnak, amelyeknek az emóciók szabályozásában és a jutalmazó hatások közvetítésében fontos szerepük van, így a striatum, HT, VP/NBM és az AMY területén. Ezen agyi régiók sejtjeiben az SP gyakran együtt fordul elő más neurokininekkel, és a „klasszikus” neurotranszmitterekkel, mint az ACh, 5-HT, glutaminsav, GABA vagy a DA. Kimutatták továbbá, hogy a fent említett területeken az SP szoros kölcsönhatásban van e transzmitterekkel, szabályozza azok felszabadulását, és/vagy gátolja, illetve serkenti hatásait [276]. Az SN-ben sok SP-tartalmú terminálist találtak, amelyek közvetlenül a DA-erg sejtek sejttestein és dendritjein szinaptizáltak [53]. Igazolták az SP hatását a DA-transzmisszióra, az SP intra-nigralis beadása stimulálta a DA-erg sejteket, és a DA szint emelkedését okozta az ipsilaterális striatumban [300]. Egy másik kísérletben az SN-be injektált SP hatására magatartási változások, mint például a lokomotoros aktivitás fokozódása, jöttek létre [181]. NK1 receptorokat találtak DA-erg neuronokon, bizonyított továbbá a DA és SP együttes előfordulása egyes idegsejtekben [189]. Az SP pozitív megerősítő hatásainak közvetítésében szintén a NAC-ban történő DA-felszabadulásnak tulajdonítanak szerepet. Az SP perifériás adása befolyásolja a mezolimbikus és mezostriatális terminálisokban a DA-

felszabadulást [32]. Kísérleti adatok alapján a perifériásan adott SP emelte az extracelluláris DA-szintet az MLDR terminális területein, ugyanakkor helypreferenciát is okozott [157]. A centrálisan, NBM-be adott SP szintén fokozta a NAC-ban a DA-felszabadulást, és helypreferenciát is indukált. Ebben az esetben csak azoknál az állatoknál alakult ki helypreferencia, ahol az SP injekciók hatására nőtt a NAC-ban az extracelluláris DA-szint [32,157].

Mint azt az előzőekben említettük, az MLDR kiemelkedően fontos szerepet játszik az inger-jutalom asszociációs tanulásban és a jutalmazó anyagok pozitív megerősítő hatásának közvetítésében. Mind a GP, mind az AMY reciprok kapcsolatban áll a NAC-kal és mindkét struktúrát beidegzi az MLDR. A GP-ben nagy denzitásban megtalálhatóak tirozin-hidroxiláz immunreaktív rostok [214]. A VTA a NAC és az AMY mellett a GP-be is küld DAerg rostokat, a GP DA-erg inputot kap továbbá az SN-ből, a nigrostriatalis rostok kollaterálisain keresztül [19]. Kimutatták különböző típusú DA receptorok előfordulását is a GP-ben [34,243]. Az SN-ből kapott DA-erg input direkt úton befolyásolja a pallidum sejtjeinek aktivitását, valamint peptid-expresszióját, az SN-ben végzett 6-hidroxi-DA léziót követően a GP-ben az ENK, NT és SP expresszió megnőtt, hasonlóan ahhoz, amit a striatumban korábban már leírtak [233,261]. In vivo mikrodialízis módszerével igazolták, hogy a pallidumban a DA neuronális eredetű, és felszabadulása a GP-ben részben Ca-függő folyamat, valamint hogy incentív ingerek (táplálék) és averzív stimulusok hatására felszabadul [101]. A GP-be adott D-amfetamin és kokain megváltoztatták a pallidum sejtjeinek tüzelési frekvenciáját, továbbá erőteljes DA-felszabadulást okoztak, dózifüggő módon [101,261]. Elmondható tehát, hogy a DA nem csak a PFC, NAC vagy CPU területén, de a GP-ben is fontos szerepet játszik a magatartás szabályozásában.

Kísérleti redmények alapján felvetették, hogy a mezo-amygdaloid DA pálya jelentősen befolyásolja az AMY funkcióit [132]. Az SN és a VTA DA-sejtcsoportjainak kiirtásával igazolható, hogy az AMY-t innerváló DA-erg rostok a VTA laterális és az SN medialis részéből erednek [21]. A DA sejtek axonterminálisai a basalis és intercalaris AMY magok, valamint az ACE területén koncentrálnak, a többi mag diffúzabb DA-erg inputot kap. Az AMY komplexen belül az ACE-ban mutatható ki a legmagasabb tirozin-hidroxiláz aktivitás és a legnagyobb DA

koncentráció [21,214]. Az ACE szintén küld rostokat a VTA-ba és az SN-be, az ACE-ből eredő pályák tehát fontos inputként szerepelnek ezeken a DAerg neuronokon [366]. Főleg a VTA és az SN dorzális része, valamint a retrorubralis area kap GABAerg bemenetet az ACE-ből [102,366]. A reciprok kapcsolatok alapján feltételezhetjük, hogy az ACE befolyásolni tudja a mezolimbikus és nigrostriatalis DA rendszerek működését. Kimutatták D1 és D2 DA receptor mRNS jelenlétét is az AMY-ban, D1 receptor mRNS a legnagyobb mennyiségben az ACE-ban fordult elő, D2 receptor mRNS elsősorban az ABL-ben [243]. A NAC-ban, valamint az ACE-ban található D1-es DA receptorok antagonizálása emeli a kokain-önadagolás rátáját, ami azt sugallja, hogy e kezelések DA-erg rendszereken keresztül gátolják a drog megerősítő hatását [43]. Más eredmények szerint, az AMY DA-erg elemeinek fontos szerepük van a morfin megerősítő hatásainak közvetítésében, az ACE-ban mind a D1-es, mind a D2-es DA receptorok blokája dóziszfüggő módon gátolta a helypreferencia kialakulását [302,385]. Ezen eredmények alapján feltételezhető, hogy a monoaminerg neurotranszmisszió közvetíti a pszichostimuláns drogok akut jutalmazó hatását, mind a NAC-ban, mind az ACE-ben. Vannak adatok, amelyek az ABL-ben található DA receptorok szerepét igazolják a pozitív megerősítő folyamatokban. DA D1-receptor antagonistá infúziója az ABL-be szintén fokozta a kokain-önadagolási rátát, nagyobb arányban, mint a NAC-ba injektálást követően [241,328]. Az ACE és az ABL DA-erg beidegzése azonban jelentősen eltérő. Az MLDR ugyan a teljes AMY-t beidegzi, az egyes magok DA tartalma azonban nem egyforma, az ABL-ben és a laterális magban jóval kisebb, mint az ACE-ban [21].

Mivel az SP gyakran együtt fordul elő nem csak a DA-nal, hanem más „klasszikus” neurotranszmitterekkel, mint az ACh, 5-HT, GABA vagy a glutaminsav, nem zárható ki, hogy az SP jutalmazó hatása e transzmitterekkel való kölcsönhatás révén alakul ki. Helypreferencia tesztekben igazolták, hogy a cholinerg rendszernek is szerepe lehet a megerősítő folyamatokban [382]. Az SP-ACh interakcióra anatómiai, fiziológiai és magatartási kísérletek adatai utalnak [8,30,33,112,232,294]. Az SP perifériás adása hatással van az extracelluláris ACh szintekre is, mind a NAC-ban, mind a neostriatumban. Az ACh szintek változásai ellentétesnek tűnnek a DA-szint változásokkal [157], így az is lehetséges, hogy az SP pozitív megerősítő hatásának közvetítésében ACh-erg mechanizmus játszik szerepet. További eredmények alapján

feltételezhető az endogén opiát-rendszer szerepe is az SP jutalmazó hatásainak közvetítésében. A naloxonnal történő előkezelés ugyanis megakadályozta, hogy helypreferencia alakuljon ki az SP vagy C-terminális fragment beadását követően, ami igazolta, hogy mind az SP mind a C-terminális fragment jutalmazó hatásainak közvetítésében az endogén opioid mechanizmusok játszhatnak szerepet [134,157]. Kimutatták továbbá, hogy a GP-ben is szerepet játszhatnak az opiátok az SP jutalmazó hatásának közvetítésében [273].

**Kísérleteink eredményei alapján az SP jutalmazó hatású az ACE-ban és a GP-ben, míg az ABL-ben nem találtuk pozitív megerősítőnek. Igazoltuk továbbá, hogy mind az ACE-ban, mind a GP-ben az SP hatásának közvetítésében NK1 receptorok játszanak szerepet.** Az ACE-ba és ABL-be adott SP hatásában talált különbség oka feltehetően e két AMY mag eltérő DA-erg és SP-erg beidegzésében, valamint a különböző NK1 és NK3 receptor denzitásban keresendő. Az SP pozitív megerősítő hatásának kialakulásában valószínűleg az MLDR-rel való kölcsönhatás játszhat szerepet, mind a GP-ben, mind az ACE-ban. Azonban további kísérletek szükségesek az SP hatásainak pontosabb és részletesebb megismerésére, valamint a DA-val való esetleges interakcióinak feltérképezésére.

### ***5.1.2. Emelt keresztpalló teszt***

A helypreferencia tesztek során a jutalmazó hatást az jelzi számunkra, ha az állat a korábban nem preferált térrészen több időt tölt a kondicionálás után. Ekkor általában kevesebbet is mozog a patkány. Ennek oka lehet egyrészt az, hogy jól érzi magát a „jutalmazó” droghoz vezető helyen, másrészt feltételezhetjük azt is, hogy a drog szorongást vált ki abban a környezetben és ezért az állat „lefagy” (úgynevezett freezing), így kevesebbet mozog. Ezért meg kellett vizsgálnunk az SP esetleges szorongást kiváltó hatását is. Irodalmi adatok szerint az SP-nek lehet mind szorongás-keltő (anxiogén), mind *szorongásoldó* (anxiolitikus) hatása is, a beadás helyétől és az alkalmazott dózistól függően [71]. Egy anyag anxiogén vagy anxiolitikus hatásának tesztelésére szolgál az Emelt keresztpalló teszt [148]. A patkányok általában a zárt, sötét helyeken szeretnek tartózkodni, a nyitott tereken kevesebb időt töltenek. Egy anyag anxiolitikus hatását ebben a paradigmában az jelzi, ha az állatok többet mozognak, több időt töltenek el a Nyitott karon, mint a kontrollok, míg az anxiogén

hatást ennek az ellenkezője igazolja, azaz, hogy szinte ki sem mozdulnak a Zárt karból.

A kis dózisú (10 ng) SP hatására a Nyitott karon töltött idő nem csökkent, sőt szignifikáns mértékben növekedett mindkét struktúra esetében. Szignifikánsan nőtt továbbá az állatok által a Nyitott karon megtett út is. Kísérleteink eredményei alapján elmondhatjuk tehát, hogy az SP a Helypreferencia tesztben hatásos 10 ng-os dózisban nem volt anxiogén hatású sem a GP-ben, sem az ACE-ban, az állatok tehát nem azért tartózkodtak többet a korábban nem preferált helyen, mert szorongtak. Ugyanakkor az állatok általános aktivitásának fokozódásával is magyarázható lehet, hogy egy állat több időt tölt a Nyitott karon, ez az eredmény önmagában tehát nem támasztja alá egyértelműen az SP anxiolitikus hatását. Az állatok aktivitása azonban, amelyet az állatok által 5 perc alatt Összesen megtett úttal, valamint az Összes belépések számával jellemeztünk, nem változott a kezelések hatására. A kezelések motoros aktivitásra gyakorolt hatásának jellemzésére használják még a Zárt karra történő belépések számát is [139]. Az eredmények leírásakor ezt a paramétert nem emeltük ki, de a táblázatokban látható (II-V Táblázat), hogy a kezelések sem a GP-ben, sem az ACE-ban nem növelték, sőt inkább csökkentették a Zárt karra történő belépések számát. A GP-ben ez a különbség szignifikáns volt az antagonistával végzett kísérlet során, a többi esetben azonban nem volt szignifikáns az eltérés. Ez alapján tehát a kis dózisú SP szorongás-oldó hatásúnak bizonyult. Ezt támasztja alá továbbá, hogy mind a GP-be, mind az ACE-ba injektált 10 ng dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott kar végén töltött idő és az ott megtett út is. A Nyitott karon töltött idő mellett ez a paraméter szintén jó jelzője egy anyag anxiolitikus hatásának [139]. A két struktúrát illetően azonban különbség volt az anxiolitikus hatások között. Az ACE esetében ugyanis a 100 ng dózisú SP hatására is szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út, ugyanakkor a nagyobb dózisú SP kezelés sem változtatta meg az állatok általános aktivitását. A GP-ben ezzel szemben a nagy dózisú SP-nek nem volt sem anxiolitikus, sem anxiogén hatása.

A továbbiakban vizsgáltuk az *NK1 receptorok* szerepét az anxiolitikus hatás közvetítésében. A kísérletek során a nem-peptid típusú, specifikus NK1 receptor antagonistá alkalmazásával sikerült kivédeni az SP anxiolitikus hatását a GP esetében. Elmondhatjuk tehát, hogy a GP-ben NK1 receptorok vesznek részt az SP

szorongásoldó hatásának közvetítésében. Ez az eredmény összhangban van más munkacsoportok eredményeivel. Az NBM-be adott SP anxiolitikus hatása szintén gátolható volt specifikus NK1 receptor antagonistával előkezeléssel, tehát az SP hatását ebben a struktúrában is e receptorok közvetítik. Ennek ellentmond az ACE-ban kapott eredmény, az SP szorongásoldó hatását a specifikus antagonistával előkezelés ugyanis az ACE-ban nem függesztette fel, csak gyengítette. A Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út csökkent ugyan az antagonistával történt előkezelés hatására, a különbség azonban nem volt szignifikáns. Ugyanakkor az antagonistával történt előkezelés hatására eltűnt a szignifikáns különbség a Kontrollokhoz képest. Ezen eredmények alapján az anxiolitikus hatás közvetítésében az ACE-ban az NK1 receptorok feltehetően csak részben játszanak szerepet, az ott kis számban előforduló NK3 receptoroknak is szerepük lehet.

Korábbi eredmények alapján összefüggés van az SP pozitív megerősítő és anxiolitikus hatása között, ugyanis azon agyterületeken találták anxiolitikus hatásúnak az SP-t, ahol injekciója pozitív megerősítő hatásúnak bizonyult, például az NBM területén [158]. Azon agyterületre adva az SP-t, ahol averzívnek bizonyult Helypreferencia teszt során, például a PAG területén, anxiogén hatásúnak találták Emelt keresztpalló tesztben [71,72]. Ez az összefüggés feltehetően azzal magyarázható, hogy a jutalmazó hatású anyag az explorációs aktivitás jutalmazó értékét növeli, ezáltal a szorongást keltő szituációt „vonzóbbnak” találja az állat [95]. Eredményeink megfelelnek ennek a teóriának, az SP-nek anxiolitikus és pozitív megerősítő hatását is igazolni tudtuk ugyanazon struktúrában, nevezetesen az ACE-ban és a GP-ben is.

Az SP szorongással, félelemmel kapcsolatos magatartásban betöltött szerepét tekintve ellentmondásos eredmények születtek. Az AMY-ban kimutatták, hogy különböző stresszhatásokra (immobilizáció, neonatalis szeparáció, emelt platform) nő az SP receptorhoz kötődése, ami lokális SP-felszabadulásra utal [35,82,160]. Averzív stimuláció, emocionális és fizikai stresszorok, fájdalmas és ártalmas ingerek hatására megnőtt egyes agyterületek, így az AMY, HT, PAG, HPC, NAC és septum SP szintje, illetve az SP-IR denzitása [82,310,378]. Más szerzők azonban hasonló hatásokra az SP-tartalom csökkenését is tapasztalták [259]. SP és NK1 receptor agonisták adása szintén ellentmondásos eredményekhez vezetett. SP beadása menekülési reakciót

váltott ki és fokozta a vokalizációt tengerimalac kölykök esetében az anyától való elválasztást követően, továbbá potenciózta az akusztikusan kiváltott megrezzenési-reakciót [194,314]. Az SP anxiogén hatását igazolták Emelt keresztpalló tesztben is az oldalsó agykamrába, a PAG-ba, az AMed-be, és a lateralis septum területére injektálva [71,82,110,349]. Ugyanakkor az SP szisztémás injekciót követően, valamint az NBM-be adva anxiolitikusnak bizonyult patkányokban [139]. NK1 receptor antagonistákat egyes kutatók anxiogén hatásúnak találtak [387]. Ugyanakkor az irodalomban fellelhető adatok nagy része szerint az NK1 receptor antagonisták anxiolitikus hatásúak számos paradigmában (megrezzenési reakció, szociális interakciós teszt, Emelt keresztpalló teszt, maternális szeparációt követő vokalizációs teszt), és több faj esetében (egérben, patkányban, tengerimalacban, hörcsögben) [35,56,314,349,388]. Egy specifikus toxinnal, SP-saporinnal, igazolták, hogy az AMY SP-receptort expresszáló sejtjeinek kiirtása fokozza az állatok szorongását egerekben [104]. Ezzel ellentétben, patkányokban az ABL SP-receptort expresszáló sejtjeinek hasonló szelektív léziója szorongásoldó hatásúnak bizonyult [308]. Az eltérő eredmények a kísérletek során használt különböző állatkísérletes modellek, az eltérő fajok, az anyagbeadás módjának különbségei miatt is adódhatnak. Az SP hatása a szorongással kapcsolatos magatartásra függ továbbá az anyagbeadás pontos helyétől, és az alkalmazott dózistól is.

Kevés adat támasztja alá a BG, azon belül különösen a GP szerepét a szorongással kapcsolatos magatartás szabályozásában. Kimutatták, hogy amfetamin-kezelés hatására fokozódik a patkányok szorongásos viselkedése, amit egyes agyterületeken, többek között a striatumban és a GP-ben, tapasztalt szerotonin-szint és/vagy szerotonin-receptorszám csökkenéssel magyaráztak [123,242]. Az általunk tapasztalt anxiolitikus hatás a GP-ben tehát az első irodalmi adatok egyike erre vonatkozóan. Jóval kiterjedtebb az AMY szerepének vizsgálata a félelemmel és szorongással kapcsolatos magatartásban. Az AMY-t elsősorban a kondicionált félelemmel és az anticipátoros szorongással kapcsolatos folyamatok szabályozásában tartják fontos struktúrának [115]. Az AMY egyes magjainak léziója, így az ACE és az AMed kiirtása szorongásoldó hatású, fokozza a szedált ragadozóval történő kontaktusok számát [27]. Mind az ABL, mind az ACE lézióját követően fokozódik az explorációs aktivitás open-field tesztben, amit szintén szorongásoldó hatásként



tartanak számon [120]. Az ABL léziója fokozza a szociális interakciók számát patkányban [373]. Számos további kísérleti eredmény alátámasztja szerepét e folyamatok szabályozásában [70,355,379].

Az anxiolitikus hatás valószínűleg eltérő kölcsönhatás útján jöhet létre, mint a korábbiakban ismertetett pozitív megerősítő hatás. Egyik feltételezésünk, hogy ez a mechanizmus az SP és *serotonin* (5-HT) interakciója révén valósul meg. Számos kísérlet támasztja alá az 5-HT-erg rendszer szerepét a szorongás és félelem szabályozásában [119]. Az 5-HT transzporter termelésben mutatott egyéni variációk összefüggét mutattak az egyének szorongásos magatartásával [210]. Egyes agyterületeken, így a HPC-ban és a NAC-ban az 5-HT-erg neurotranszmisszió csökkenését mutatták ki Emelt keresztpalló tesztet követően [49]. Ismert a raphe magokban az 5-HT és az SP koexpressziója, továbbá az SP módosítani tudja az 5-HT felszabadulást [245,276]. A GP 5-HT-erg beidegzést kap a raphe magokból. Kimutattak 5-HT<sub>1</sub> és 5-HT<sub>2</sub> receptorokat is e struktúrában [296]. Az 5-HT-szintet 5,7-dihydroxi-tryptamin kezeléssel csökkentve a striatumban, fokozódott ezen állatok szorongása [129]. Amfetamin kezelés hatására az 5-HT<sub>1B</sub> receptorok szintjének csökkenését írták le a GP-ben, az 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptorszint csökkenését a CPU-ban továbbá az 5-HT szint 40-50%-os csökkenését mutatták ki a striatumban. Igazolták szociális interakció és Emelt keresztpalló tesztben, hogy ezen állatok fokozottabban szoronganak. A szerzők feltételezése szerint az 5-HT rendszerben tapasztalt változások lehetnek felelősek az állatok fokozott szorongásáért [242,252]. Az AMY denz 5-HT-erg beidegzést kap a DR-ból, továbbá számos receptor-típust kimutattak a különböző AMY magokban, köztük az ACE-ban és az ABL-ben is [250,375]. Félelmi kondicionálás során nő az AMY 5-HT szintje [163]. Az 5-HT az AMY-ban szorongás-fokozó hatású, 5-HT és 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonista adása fokozta a szorongást szociális interakció és Geller-féle konfliktus teszt során [114]. 5-HT<sub>3</sub> receptor agonisták intra-amygdalaris infúziója szintén szorongás-fokozó hatású volt különböző tesztekben [64]. Az AMY 5-HT-mediálta működésének csökkentése, például 5-HT<sub>2</sub> vagy 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonistá infúziója, anxiolitikus hatásúnak bizonyult [64,115]. Ennek ellentmondó eredmények is születtek azonban, az AMed-be adott 5-HT<sub>2</sub> receptor agonisták anxiolitikus hatásúak voltak szociális interakció és Emelt keresztpalló tesztben [80].

Egy másik lehetséges mechanizmus a *corticosteroidok* szintjének befolyásolása [62]. Krónikusan félnék és szorongó majmokban emelkedett basalis cortisol-szintet mutattak ki a plazmában és emelkedett corticotrop-releasing faktor (CRF) szintet a cerebrospinalis folyadékban (CSF) [171,172]. A CRF alapvetően fontos szerepet játszik a stresszre adott válaszokban. Stresszorok hatására emelkedik a HT-ban a CRF mRNS szintje, továbbá CRF i.c.v. infúziója a stresszorok által okozottakhoz hasonló endokrinológiai, fiziológiai és magatartásbeli változásokat idézett elő [79]. SP agonista i.c.v. adását követően csökkent plazma adrenocorticotrop-hormon (ACTH) -szintet mértek, az SP injekció gátolta továbbá a CRF-felszabadulást patkány HT agyszelet preparátumban [57,91]. SP antagonisták alkalmazásakor nőtt a plazma ACTH-, és kortikoszteron-szintje, valamint a HT paraventricularis magjában a CRF mRNS szint is [200]. Az AMY (ACE) léziójának hatására nem jön létre a plazma kortizol-szintjének emelkedése immobilizációs stressz hatására [18]. Kimutatták továbbá, hogy immobilizációs stressz hatására az ACE-ban megnőtt a CRF felszabadulás [244]. CRF agonisták intra-amygdalaris injekciója anxiogén hatású volt, míg antagonistái anxiolitikusnak bizonyultak [212,344].

Az irodalomban széles körben ismert a *benzodiazepinek* anxiolitikus hatása. A BZD agonisták anxiolitikus hatásúak, míg az inverz agonisták anxiogének [321]. Az AMY különösen gazdag BZD-receptorokban, az ACE-ban és ABL-ben azonban csak közepes sűrűségben mutatták ki [266,383]. Az ABL-be adott BZD-k anxiolitikus hatását számos anxiétás-tesztben igazolták [288,323]. A BZD-k hatására feltehetően fokozódik a GABA-erg gátlás, kimutatták e hatásukat az ABL-ben is [323]. Azonban nem csak az ABL, hanem az ACE esetében is leírták a GABA-erg rendszer és a szorongásos magatartás kapcsolatát, BZD agonisták anxiolitikus hatását igazolták az ACE-ba történő mikroinjekciót követően [288,330]. A GABA-erg agonista muscimol injekciója az ACE-ba anxiolitikus hatásúnak bizonyult Emelt keresztpalló tesztben, továbbá fokozta az 5-HT és 5-HIAA szintet a HPC-ban [251]. Az ABL-be adott muscimolnak nem igazolták hasonló hatását. Ezzel ellentétben a BZD agonista midazolam ABL-be történő injekciójának hatására nőtt a nyitott karon töltött idő, míg az ACE-ba adva nem volt hatása [288]. Úgy tűnik azonban, hogy az SP-nek inkább az anxiogén hatásával lehet kapcsolatban e rendszer. In vitro kísérletekben kimutatták, hogy NK1 receptor agonisták fokozzák a GABA-felszabadulást számos agyterületen,

így az ABL interneuronjaiban is [235]. Igazolták továbbá, hogy i.c.v. SP beadás visszafordítja a diazepam anxiolitikus hatását [81].

További lehetséges mechanizmus az endokannabinoidokkal való kölcsönhatás. Kimutatták egérben, hogy félelmi kondicionálást követően nő az endokannabinoid-szint ABL-ben [231]. A BG területén elsősorban a CPU-ban mutattak ki CB1 receptorokat, a GP-ben és az SN-ben nem találtak CB1 receptor mRNS-t [169]. Felmerülhet továbbá az opiát-rendszerrel való kölcsönhatás is. Az SP jutalmazó hatásainak közvetítésében feltételezhető az endogén opiát-rendszer szerepe, naloxonnal történő előkezelés megakadályozta, hogy helypreferencia alakuljon ki az SP beadását követően [134]. Mikroinjekciós és léziós kísérletek igazolják a GP és a VP szerepét az opiátok jutalmazó hatásának közvetítésében [156]. Az ACE-ban és ABL-ben közepes denzitásban mutattak ki opioid receptorokat, elsősorban  $\mu$ -receptorokat, és néhány  $\delta$ -típusút is [226]. Opiát agonisták ACE-ba történő infúziója anxiolitikus volt, hatására megnőtt a szociális interakciók gyakorisága [96].

Az ABL-ben nem vizsgáltuk az SP hatását az anxietásra, mivel itt nem tapasztaltunk pozitív megerősítő hatást. Felmerülhet azonban ennek a szükségessége is. Egyrészt a BZD receptorok eloszlása alapján, mivel e receptorok nagyobb számban fordulnak elő az ABL-ben, mint az ACE-ban [266]. Másrészt azon irodalmi adatok alapján, amelyek szerint mind az ACE, mind az ABL részt vesz, bár eltérő módon, egyes anxiolitikumok hatásainak közvetítésében [251,288]. Ezen kérdések megválaszolásához további kísérletek szükségesek.

**Kísérleteink eredményei alapján tehát az SP szorongásoldó hatású az ACE-ban és a GP-ben. Igazoltuk továbbá, hogy a GP-ben az SP hatásának közvetítésében NK1 receptorok játszanak szerepet, míg az ACE-ban feltehetően az NK1 receptorok mellett NK3 receptorok is szerepet játszhatnak az anxiolitikus hatás közvetítésében.** Az SP szorongásoldó hatásának kialakulásában szerepet játszhat a szerotoninerg, opiáterg, GABA-BZD és/ vagy endokannabinoid rendszerekkel való kölcsönhatása is. Keveset tudunk azonban a GP-ben és az ACE-ban a hatásmechanizmusról, ezért további kísérletek szükségesek az SP és a többi neurotransmitter rendszer interakcióinak feltérképezésére. Újabb kísérletekre lehet szükség annak eldöntésére is, hogy az ABL-be adott SP-nek van-e szorongáskeltő vagy szorongásoldó hatása.

### 5.1.3. Passzív elhárító teszt

A helypreferencia teszttel egyes anyagok jutalmazó és pozitív megerősítő hatását vizsgáltuk, azonban ez a paradigma egyfajta helytanulásként is értelmezhető. Az állatnak ugyanis meg kell jegyeznie az összefüggést az adott anyag hatása és a tér azon része között, ahol éppen akkor tartózkodott. Miután az SP e pozitív szituációban elősegítette a tanulást, teszteltük hatását büntető jellegű, *negatív megerősítéses* tanulási paradigmában: passzív elhárító tesztben is. A büntető szituációk többségének kulcseleme a valamilyen formában alkalmazott elektromos sokk, amely fájdalmat okoz az állatnak. Számos szerző igazolta az SP szerepét a fájdalom-transzmisszióban, amint azt a Bevezetésben leírtuk [4,73,78,161,265], valamint az SP több olyan központi idegrendszeri struktúrában is megtalálható, amelynek szerepe van a fájdalom kontrollálásában [211]. Ezek alapján feltételezhető lenne, hogy az SP a passzív elhárító szituációban valójában nem a tanulásra, vagy a memóriára hat, hanem a tanulást facilitáló hatását azáltal fejtí ki, hogy csökkenti a fájdalom-küszöböt, vagy befolyásolja a fájdalom-transzmissziót. Mivel az SP-t minden esetben az elektromos sokkolást követően, az állatokat a sokkoló-dobozból kivéve adtuk be, ezért kizárható, hogy a tanulásra kifejtett pozitív hatása a fájdalom-küszöb változásából vagy más, olyan tanulással kapcsolatos nem specifikus változók módosításából adódik, amelyek befolyásolják az állat tanulási teljesítményét (pl. figyelem, percepció, motiváció).

Kísérleteink során az SP büntető szituációban is hatásosnak bizonyult. Kis erősségű (0,5 mA) sokk alkalmazása minimális tanulást eredményez, a Kontroll állatok esetében a Belépési latencia csak minimálisan növekszik, így egy anyag tanulásra kifejtett facilitáló hatása kimutatható – ez esetben nagyobb lesz a latencia növekedése a Kontrollokhoz viszonyítva [177]. *Gyenge sokkot* alkalmazva az SP 10 ng-os dózisának hatására mindhárom struktúra, azaz a GP, az ACE, és az ABL esetében is szignifikánsan nagyobb volt a sokkoló dobozba való belépés latenciája 24 órával a Kondicionálás után, mint a sokk előtt. A kis dózisú SP sokkot követő infúziója tehát szignifikánsan fokozta a passzív elhárító tanulást mind a GP-ben, mind az ACE-ban és az ABL-ben, míg a 100 ng-os dózis mindegyik esetben hatástalan volt. Látható ugyan a latencia kis mértékű növekedése a nagy dózisú SP-vel kezelt csoportokban, azonban ez a növekedés a Kontrollok esetében is megfigyelhető volt.

Ez a kis mértékű latencia-növekedés azt jelzi, hogy már ezen állatok esetében is van bizonyos mértékű tanulás, viszont a 10 ng SP-t kapott állatok szignifikánsan jobban teljesítettek, mindkét csoporthoz viszonyítva. Eredményeink megfelelnek az irodalomban fellelhető adatoknak. Számos kísérletben igazolták a perifériásan vagy centrálisan adott SP hatását a tanulásra, aktív és passzív elhárító szituációban is [136,157,159,342]. Kísérleteink során az irodalomban említettekhez hasonló dózisban alkalmaztuk az SP-t. Az ACE-ban, ABL-ben és a GP-ben kapott eredményeink ezért megegyeznek a korábbi adatokkal, azaz a kisebb dózisu (10 ng) SP bizonyult negatív megerősítő hatásúnak, a nagyobb dózisban (100 ng) alkalmazott SP hatástalan volt.

További kísérletünkben az NK1 receptorok szerepét vizsgáltuk az SP tanulásra kifejtett hatásainak közvetítésében, egyelőre csak az ACE-ban. Az NK1 receptorok nagy affinitással kötik az SP-t, azonban mindegyik tachykinin képes aktiválni mindhárom receptortípust, a tachykininek és receptoraik kis szelektivitásúak [223]. Mivel mindhárom struktúrában vannak NK1 és NK3 receptorok is, különböző denzitásban, így az SP nem csak az NK1, hanem NK3 receptorokhoz is kötődhet, és bármelyikén keresztül kifejtheti hatását. Kísérleti adataink azonban igazolják azon feltételezésünket, mely szerint az SP hatása specifikus az ACE-ban, a tanulást facilitáló hatást NK1 receptorok közvetítik, az NK1 receptor antagonistá WIN51,708 előkezelés ugyanis kivédte az ACE-ba adott SP tanulást facilitáló hatását. Szükséges lenne a továbbiakban annak vizsgálata is, hogy az ABL-ben, illetve a GP-ben mely receptor(ok) közvetíti(k) az SP hatását, mivel e két struktúrában szintén mindkét receptor-típus előfordul.

A GP tanulásban és megerősítésben betöltött szerepét számos eredmény alátámasztja, amelyeket a Bevezetésben már említettünk [88,90,109,164,176,248,319,350]. Kísérleti eredményeink tehát összhangban vannak az irodalomban fellelhető adatokkal, amelyek szerint a GP nem csak az extrapyramidalis motoros rendszer kulcsfontosságú struktúrája, hanem fontos szerepet játszik a tanulási és memóriefolyamatok szabályozásában is. Eredményeink egybehangzóak az irodalomban található számos azon közleménnyel is, amelyek az AMY tanulási és memóriefolyamatokban betöltött szerepét igazolják [17,42,70,107,202,240]. A kísérleti adatok alapján feltételezik, hogy az AMY a memórianyomok tárolását közvetve, efferenseinek aktiválásán keresztül módosítja,

azáltal, hogy más agyi területek működését befolyásolja [240]. Az ACE-t az alsó agytörzsbe futó projekciói alapján különböztetik meg, ezen efferenseken keresztül fejt ki szabályozó hatását az asszociatív tanulás során az vegetatív és magatartási válaszokra [197,202]. Az agytörzsi struktúrák mellett számos felszálló pályarendszer kap bemenetet az ACE-ből, többek között a monoaminerg (noradrenalinerg, szerotoninerg vagy dopaminerg) rendszerek, a ponto-mesencephalo-tegmentalis areák vagy a basalis előagyi rendszer, valamint a HT, annak elsősorban lateralis része. Feltételezik, hogy az ACE e pályákon keresztül szabályozza tanulás során az előagyi folyamatokat [107,240]. Az ABL szintén kapcsolatban van az LH-val, és a HT medialis részével is, valamint a basalis előagyi területekkel, továbbá számos olyan agyterületre küld rostokat, amely területekre az SN és a VTA DA-erg rostjai is vetülnek, így medialis prefrontalis kéregterületekre, az agranularis insularis kéregbe, a prelimbikus és infralimbikus kérgi területekre. Fontos az összeköttetése a ventralis striatummal is, a NAC, a ventralis CPU és tuberculum olfactorium is kap rostokat az ABL-ből [197,374]. Feltételezhető tehát, hogy az ABL e kapcsolatain keresztül befolyásolhatja a tanulási- és memória-folyamatokat. Eredményeinkkel ellentétben, egy korábbi kísérletben az SP AMY-ba történő beadása rontotta a tanulást [159]. Ebben a tanulmányban azonban a célterület eltérő volt, nevezetesen, az SP-t Huston és Stäubli kísérletük során az AMed-be injektálták, míg kísérletünkben az ACE és az ABL volt a célterület. A különböző AMY magokban változó az SP idegrostok, sejtestek és receptorok sűrűsége. Az egyes AMY magok, mint azt már a Bevezetésben és a Diskusszió előző fejezeteiben említettük, különböznek lokális neuronális kapcsolataikban, az afferens és efferens projekcióikban, valamint az egyes AMY régiók funkciójukat tekintve is eltérőek. A kapott eredmények közötti különbség tehát ezen eltérésekkel is magyarázható.

Jelen eredményeink igazolták az SP tanulást facilitáló hatását mind a GP-ben, mind az ACE-ban. Voltak azonban különbségek az SP hosszabb távú hatásaiban a két struktúra vonatkozásában. Gyenge sokk után egy héttel a tanultak megtartása csökkent a GP kísérletben, míg az ACE esetében még mindig szignifikáns volt. A GP esetében egy héttel a Kondicionálás után a 10 ng SP-t kapott állatok Belépési latenciája csökkent, ekkor már nem volt különbség a csoportok teljesítménye között. Az ACE esetében ezzel szemben egy héttel a sokk után is szignifikánsan nagyobb volt

a 10 ng SP-t kapott állatok Belépési latenciája, mint a másik két csoporté, csökkenés nem volt megfigyelhető. Az ACE-ba adott SP hatása tehát hosszabban fennállt, mint a GP-be adotté. Az egyik lehetőség a különbség magyarázatára, hogy a sokk hatékonysága különbözött a két kísérletben. A sokk erőssége ugyanakkora volt, mégis különböző szintű tanulást eredményezhetett. Mivel nagyszámú állaton végeztük a vizsgálatokat, ezért az ACE-ben végzett kísérletet hónapokkal később végeztük, mint a GP kísérleteket, így a körülmények némileg eltérhettek a két kísérlet során, ami a sokk hatásosságának különbségéhez vezethetett [177]. Az eredmények azonban ellentmondanak annak a lehetőségnek, hogy különbségek csak a sokk hatékonyságának különbségéből adódhattak. Volt ugyan különbség a Teszt1 során az ACE és GP Kontroll állatok között - ugyanis az ACE Kontrollok szignifikánsan tanultak, míg a GP Kontrollok nem - a 10 ng SP azonban mind az ACE-ban, mind a GP-ben javította a tanulást a Kontrollokhoz képest. Egy héttel később (Teszt2) a Kontroll csoportok Belépési latenciája nem különbözött szignifikánsan a Kondicionáláskor mértékhez képest, az ACE esetében sem. Úgy tűnik tehát, hogy a Kontrollok esetében a memória nem volt megtartott. Ugyanakkor a 10 ng SP-t kapott állatok esetében a sokk után egy héttel az ACE-ban a memória megtartott volt, a GP esetében nem. Ez alapján feltételezhetjük tehát, hogy az SP passzív elhárító szituációban mind a tanulást, mind az emléknymok megtartását javítja az ACE-ben, míg a GP-ben csak a tanulást serkenti, a retenciót nem.

Ez utóbbi feltételezésünket támasztják alá az *erős sokkal* végzett kísérleteink is. Csupán a 10 ng SP ilyen hatását teszteltük, mivel gyenge sokk esetén is csak ez a dózis volt hatásos. Nagy erősségű sokk (2,0 mA) alkalmazásakor minden állat jól megtanulja a paradigmát, így a kezelések negatív hatása mutatható ki. Ekkor minden állat - a Kontrollok is - megtanulták a feladatot, a Kondicionálás után a Belépési latenciák a maximum (180 s) közelében voltak mindkét struktúra esetében, mindegyik csoportban, 24 órával a sokk után. Ezen kísérletekben is különbség volt azonban a két struktúra között az SP hosszabb távú hatásában. A GP-be injektált SP rontotta az állatok teljesítményét, ugyanis egy, illetve két héttel a sokkolás után (Teszt2 és Teszt3 során) a GP-be adott 10 ng SP hatására a Belépési latencia szignifikánsan csökkent a Kontroll csoporthoz viszonyítva. Ezen eredmény magyarázatára több hipotézis is felállítható. Az egyik feltevés szerint, mivel a Kontrollok is maximálisan megtanulják

a feladatot, ezen már semmilyen anyag nem tud javítani, sőt minden beavatkozás inkább rontani fogja az emlékezést. Másrészt azonban az sem zárható ki, hogy a GP-be adott SP, bár a tanulást rövidtávon javítja, azonban valamilyen módon interferál a memórianyomok megszilárdulásával, konszolidációjával, esetleg a kialakult memórianyomok hosszabb távú megtartásával. Az ACE-ban erős sokkal végzett kísérlet során a Belépési latenciák szintén a maximum (180 s) közelében voltak, azonban nem csak 24 órával, hanem egy és két héttel a sokk után is, mind a Kontroll, mind az SP-vel kezelt állatok esetében. Az SP kezelés tehát az ACE esetében nem okozott latencia-csökkenést egyik Teszt során sem (Teszt1, 2 és 3). A GP-ben kapott eredményekkel ellentétben tehát az SP nem gyengítette a memóriát az ACE-ban nagy erősségű sokk esetén. Ez alapján az első hipotézist nagy valószínűséggel elvethetjük, a második magyarázat tűnik valószínűnek, amely szerint a GP-ben az SP a tanulást facilitálja, míg a memóriát inkább rontja, az ACE-ban ezzel szemben nem csak a tanulást, hanem a memória-konszolidációt is serkenti. Néhány kísérletben az SP gátolta a tanulást passzív elhárító szituációban; gyengítette a tanulást SP injekciója az AMed-be, valamint az SN-be [31,159]. Az SP tanulást facilitáló vagy gyengítő hatása összhangban volt a sokkolást követően alkalmazott elektromos ingerlés hatásával, nevezetesen, az SN és az AMed ingerlése amnéziát okozott [37,94]. Az SN elektromos ingerlését követő retrográd amnézia valószínűleg a nigrostriatalis DA-erg köteg aktivációjából és az annak eredményeként a caudatumban bekövetkező túlzott DA felszabadulásból ered [94]. A GP-ben hasonló mechanizmust feltételezhetünk, azaz, a GP tartalmaz SP-IR neuronokat, amelyek az SN-be vetülnek [166], az iontoforetikusan adott SP pedig az SN DA-erg sejteire excitátoros hatású [69]. Ezen adatok alapján feltételezzük, hogy a GP szintén aktiválni képes a nigrostriatalis köteget és ezáltal okozhat amnéziát. Szükséges lenne azonban e hipotetikus mechanizmus igazolása.

Gyenge sokk után egy héttel a tanultak megtartása csökkent az ABL kísérletben is, a 10 ng SP-t kapott állatok Belépési latenciája csökkent, nem különbözött szignifikánsan a Kondicionáláskor mért értéktől. Az ABL-ben végzett kísérlet során azonban a kis állatszám miatt az eredmények nagy szórást mutattak, leginkább a Teszt2 során, azaz egy héttel a Kondicionálást követően. Így ezen eredmények alapján elhamarkodott lenne következtetni az ABL-be adott SP hosszú távú hatására



vonatkozóan. Annak eldöntésére, hogy az SP ebben az esetben is interferál-e a hosszú távú memória kialakulásával, szükséges lenne elvégezni a Passzív elhárító kísérletet erős sokkal ebben a struktúrában is.

A Helypreferencia és aktív illetve passzív elhárításos kísérletek eredményei alapján úgy tűnik, hogy összefüggés van az SP pozitív megerősítő és tanulást javító hatása között. Azon agyterületeken facilitálta az SP injekció passzív vagy aktív elhárításos paradigmákban a tanulást, ahol kimutatták az SP pozitív megerősítő hatását is, például az LH, a medialis septum és az NBM területén [158]. Eredményeink részben megfelelnek ennek a teóriának, az SP-nek tanulást facilitáló és pozitív megerősítő hatását is igazolni tudtuk ugyanazon struktúrában, nevezetesen az ACE-ban és a GP-ben is, az ABL-ben azonban nem. Az ACE-ban és ABL-ben kapott eltérő eredmények magyarázhatóak lehetnek a két AMY mag eltérő NK1 és NK3 receptor eloszlásával, továbbá a korábban említett különbségekkel a lokális neuronális kapcsolataikban, vagy az afferens és efferens projekcióikban.

Felmerül a kérdés, hogy az SP negatív megerősítő hatása milyen mechanizmussal jöhet létre. Számos kísérleti eredmény utal arra, hogy a DA fontos szerepet tölt be a tanulási folyamatokban, az SP és DA rendszer közötti interakciókat a Diskusszió 5.1.1. fejezetében már részleteztük, így ezekre nem térünk ki. Farmakológiai kísérletek adatai utalnak azonban az ACh tanulási és memória folyamatokban betöltött fontos szerepére is [113,293]. E fejezetben így az SP és ACh közötti kölcsönhatásokra fókuszálunk. Számos agyterületen kimutatták, hogy a cholinerg neuronok azon régiókban fordulnak elő nagy denzitásban, ahol az SP-IR is nagy mennyiségben található, például nucleus caudatusban, putamen posterior régiójában, valamint a GP területén [232]. Igazolták továbbá, hogy SP-kötőhelyek a striatum és a basalis előagy területén szelektíven a ACh-erg sejteken találhatóak, kimutatták továbbá, hogy a cholinerg interneuronokon mindhárom NK receptor-típus előfordul [112,294]. Immuncitokémiai módszerrel igazolták, hogy a CPU, medialis GP és a VP cholinerg sejtjein SP-IR terminálisok szinaptizálnak, amelyek feltehetően a CPU-ban és a NAC-ban erednek [33]. Több tanulmány is alátámasztja, hogy az SP hatással van a cholinerg idegelemek működésére, az SP ACh felszabadulást okoz a striatumban. Egér striatum cholinerg interneuronjai direkt aktiválhatóak mindhárom típusú szelektív NK receptor agonistával, amely ACh-felszabadulást indukál in vitro

[8,294]. Igazolták in vivo kísérletben is, hogy a striatumba adott SP hatására nő az extracelluláris ACh szint, a hatás NK1 receptor antagonistával blokkolható volt [6]. SP perifériás adása hatással volt az extracelluláris ACh szintekre egy másik in vivo kísérletben is, az SP injekció hatására azonban csökkent mind a NAC, mind a striatum extracelluláris ACh szintje. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a perifériásan adott SP indirekt úton, más mechanizmuson keresztül hat, nem direkt a striatum vagy a NAC sejteire [30]. Cholinerg agonisták szintén hatással vannak az SP-erg neurotranszmisszióra, 10 perccel a perifériás nikotin-injekció után az SP-immunreaktivitás 60-70%-kal csökkent a CPU, a NAC és az SN területén, amely nikotin-indukálta SP felszabadulásra utal ezen agyterületeken [255]. I.c.v. SP injekció szignifikánsan javította a cholinerg antagonistá scopolamin által indukált teljesítmény-romlást a spontán alternáló tanulásra Y-labirintusban, a hatás NK1 receptorokon keresztül jött létre, ugyanis a specifikus NK1 receptor antagonistá WIN62,577 előkezeléssel kivédhető volt [357].

Az AMY-ban a cholin-acetyl transzferáz (ChAT) -aktivitás főleg az axonterminálisokban mutatható ki, a BG struktúráiban a sejtek tartalmazzák elsősorban. Kimutatták M1 és M2 típusú muscarinos, továbbá nikotinos cholinerg receptorokat is a BG területén. Muscarinos receptorokat a striatum efferens neuronjain találtak [25], nikotinos ACh-erg receptorokat szintén találtak a striatumban, sejtesteken és a DA-erg afferens rostokon, továbbá az SNc DA-erg sejtein [59]. Igazolták továbbá, hogy az SN és a GP cholinerg beidegzése a PPN-ből ered [372]. Az SNc-be adott nikotin fokozta a DA-erg sejtek tüzelési frekvenciáját és 'burst'-ös aktivitását, továbbá fokozta a DA-felszabadulást a striatumban [118]. A GP ventromedialis szegélyén találhatóak nagy acetylcholin-esterase (AChE) pozitív sejtek, amelyek az NBM-hoz tartoznak. Számos adat utal arra, hogy patkányban az agykéreg mélyebb rétegeiben található ACh-tartalmú rostok az NBM-ben erednek [77]. Nem kizárható, hogy a léziós kísérletekben tapasztalt tanulási zavarok kialakulásában az innen a kéregbe vetülő cholinerg rostok kiesése játszik szerepet. Thompson és munkatársai kísérletük során azonban nem találtak összefüggést a kéreg cholinerg aktivitásának változása és a tanulási deficit mértéke között, amiből azt a következtetést vonták le, hogy a GP sejteinek van szerepe a tanulás romlásában, és az nem az NBM cholinerg sejteinek véletlen roncsolása miatt jött létre [350].

Kísérletünk során nem erre a területre adtuk az SP-t, azonban nem kizárható, hogy a hatás létrejöttében e sejtek is szerepet játszhatnak, ha az SP diffúzióval erre a területre is eljutott.

Az AMY ACh-erg innervációja főként a bazális előagyban, az NBM-ben ered, a PPN-ből, formatio reticularisból, és a sub-coeruleus régióból eredő rostok kisebb jelentőségűek [371]. Kimutattak intrinzik ACh-erg sejteket is az AMY-ban, az ACE-ban és az ABL-ben is, ezek azonban csak kis számban vannak jelen [269]. Autoradiográfiával kimutatták, hogy az NBM fő bemenete az AMY-ban ered, tehát a két struktúra között reciprok összeköttetés van [2]. Az AMY-ban cholinocéptív sejteket találtak, amely sejtek ACh hatására megváltoztatták aktivitásukat, a sejtek nagy része tüzelési frekvencia-fokozódással válaszolt. Ezen ACh-érzékeny sejtek nagy része a tanulási paradigma különböző fázisai (fény, pedálnyomás, hang, jutalom) során is mutatott aktivitás-változást, nem tapasztaltak azonban eloszlásbeli különbséget, e sejtek az AMY teljes területén előfordultak [209]. Az ABL-ben nagy ChAT-aktivitás és AChE-pozitív festődés mutatható ki, míg az ACE-ban ezek jóval kisebb intenzitásúak [22,86]. Az ABL-ben ChAT-immunreaktív axonok találhatóak denz varikozitásokkal, azonban kevés sejt található itt [215]. M2-es muscarinos cholinerg receptorok nagy denzitásban fordulnak elő, főleg az ALat és ABL magokban [338]. Az ACE-ban kevés sejt tartalmaz AChE-t, más eredmények szerint egyáltalán nem mutatható ki e magban [335]. ChAT-immunreaktív neuronok nem találhatóak az ACE-ban, míg rostok és feltehetően néhány terminális igen, a rostok nagyobb része azonban áthalad e magon [5]. Az ACE-ban kis-közepes denzitásban előforduló muscarinos cholinerg receptorok elsősorban M1-es típusúak [338], nikotinos ACh receptorokat szintén kis denzitásban találtak [59]. Azok az excitotoxikus NBM-léziók okozzák a legnagyobb memória-deficitet, amelyek az AMY-ban okozták a legnagyobb ChAT aktivitás csökkenést [230]. Az NBM ftálsavval végzett léziójának következtében az AMY-ban jelentősen csökkent a ChAT-aktivitás, míg a kéregben nem változott jelentősen. A kettős-Y labirintusban történő tanulás során a referencia-memóriát nem befolyásolta a lézió, míg a munka-memória romlott [225]. Az AMY-ba adott cholinerg antagonistá scopolamin jelentősen rontotta az állatok munka-memóriáját [162]. Aktív shock-elkerülési paradigma hatására szignifikáns, hosszú távú változások jönnek létre az AMY egyes

magjainak muscarinos cholinerg receptor-immunreaktivitásában [309]. További kísérletek szükségesek azonban az ACh, SP és antagonistáik kombinált alkalmazásával ahhoz, hogy az AMY-ban az ACh-SP interakciók mibenlétét, magatartási hatásait megismerjük.

**Kísérleteink eredményei alapján tehát az SP tanulást elősegítő hatású akár az ACE-ban, akár az ABL-ben, akár a GP-ben. Az ACE és a GP azonban eltérő módon vesz részt a tanulási és memória folyamatok szabályozásában. Az SP a GP-be injektálva javítja a tanulást, azonban valamilyen módon gátolja a hosszú-távú memóriába írást, vagy az emléknymok megtartását. Az ACE-ba adott SP mind a tanulást, mind az emléknymok megtartását elősegíti. Azon mechanizmusok tehát, amelyeken keresztül az SP kifejti a tanulásra és a memóriefolyamatokra gyakorolt pozitív hatását különbözőek az ACE és a GP esetében. E mechanizmusok pontosabb felderítése azonban további vizsgálatokat igényel. Újabb kísérletekre lenne szükség annak eldöntésére, hogy az ABL-be adott SP-nek van-e memóriát gyengítő hatása erős sokk esetében. Az ACE esetében igazoltuk, hogy az SP hatásának közvetítésében NK1 receptorok játszanak szerepet, ugyanis specifikus NK1 receptor antagonistával az SP hatása felfüggeszthető volt.** További vizsgálatot igényel hogy az ABL és a GP esetében is kivédhető-e az SP hatása NK1 receptor antagonistával.

## 5.2. Az eredmények klinikai jelentősége

Az emlős tachykinineknek számos patológiás mechanizmusban szerepet tulajdonítanak. Jelentős szerepük lehet egyes gyulladásos megbetegedésekben, így a rheumatoid arthritis, az allergiás rhinitis, allergiás bőrreakciók, asztma, vagy az irritábilis bél-szindróma kialakulásában [14,76,126,185,228]. A migrénes fejfájás létrejöttében szerepet játszó, agyi szövetekben kialakuló neurogén gyulladásokban szintén szerepet tulajdonítanak az SP-nek [253]. Számos tanulmány alapján az SP szerepet játszhat egyes neurodegeneratív betegségek, így a Parkinson-, Huntington-, vagy Alzheimer-kór patomechanizmusában. Huntington- kóros betegek agyában csökkent az SP és más tachykininek szintje az SN, a GP, valamint a CPU területén [386]. Parkinson- kórban jelentősen csökken az SP szintje az SN-ben és a GPe-ben, míg a GPi és a CPU complex SP-tartalma nem változik szignifikánsan [61,386]. A

csökkent SP tartalom adódhat a striato-nigralis SP rostok degenerációjából, vagy a nigro-striatalis DA-rendszer degenerációja miatt megváltozott SP-metabolizusból. Alzheimer-kórban elsősorban a HPC-ban találtak változásokat, a gyrus dentatus területén a rostokban és terminálisokban csökkent az SP-tartalom [61]. Szintén kimutatták az SP-szint csökkenését az agykéregben található sejtekben és rostokban [61,295]. Más tanulmányok csökkent SP denzitást találtak az AMY-ban, továbbá az SNc területén [23,61]. Alzheimer kóros betegek agyában a basalis előagy SP és ACh tartalmának szimultán csökkenését is kimutatták [318]. Az Alzheimer-kór kialakulásában feltételezhetően szerepet játszó  $\beta$ -amyloid protein patkány agykéregben kifejezett neurodegeneratív elváltozásokat okozott, amelyek SP szisztémás, vagy i.c.v. adásával megelőzhetőek voltak [191]. További kísérletekben kimutatták, hogy a  $\beta$ -amyloid hatásai HPC sejt kultúrában tachykinin antagonistákkal utánozhatóak, míg agonistákkal a hatások teljes mértékben visszafordíthatóak [381].

Az SP szerepet játszhat továbbá egyes neuropszichiátriai megbetegedésekben. Az SP stimuláló hatású a DA-erg rendszerekre, ez alapján a tachykininek hiperfunkciójának szerepet tulajdonítanak a schizophrenia etiológiájában. Feltehetően az SP-nek a pozitív szimptomák (téveszmék és hallucinációk), míg az NKA-nak a negatív szimptomák (apátia és érzelmi sivárság) kialakulásában van szerepe [75]. Schizophren betegek agyszövetének post mortem vizsgálatai azonban ellentmondásos eredményekre vezettek, egyes szerzők nem találtak eltérést a normál SP-szintekhez képest, míg mások az SP-szint emelkedését írták le a HPC, az SN, a CPU, a GP, és az OBF területén [352,386]. Az NK1 receptor denzitást is emelkedettnek találták a CPU-ban és NAC-ban, valamint a PFC területén [351,352]. További vizsgálatok azonban az AMY-ban az SP-tartalom, illetve a PPT-A mRNS szintjének csökkenését mutatták ki [46]. NK3R antagonisták hatásosságát tesztelték preklinikai vizsgálatok során schizofren betegeken, az eredmények azonban ellentmondásosak [339]. Az SP működésének hiányossága a monoaminerg rendszerek csökkent aktivitását eredményezheti, ami depresszió kialakulásához vezethet. Krónikus antidepresszáns (imipramin, desipramin, clomipramin, amoxapin, mianserin) -kezelés következtében csökkent a striatum, az SN és az AMY SP-tartalma [333]. Szubkrónikus lítium kezelés hatására emelkedett az SP-szint a frontális kéregben, a NAC-ban és a striatumban, krónikus kezelés hatására emelkedett SP-

szintet találtak a striatumban és a HT elülső részében [153]. A post mortem vizsgálatok a depressziós betegek esetében is ellentmondásosak voltak, egyes szerzők emelkedett SP-szintet találtak a CSF-ben, mások nem találtak SP-szint változást [26,304]. Egy vizsgálat a bipoláris betegségben szenvedőkben csökkent PPT-A mRNS szintet talált az ABL-ben [46]. NK1 receptor antagonisták hatásosnak bizonyultak depressziós betegek kezelésében, egy újabb vizsgálat azonban nem erősítette meg ezt az eredményt [180,192].

A fent idézett eredmények alapján valószínűsíthető, hogy az SP számos megbetegedés patomechanizmusában szerepet játszhat. A GP-ben bekövetkező változásoknak feltehetően a Parkinson-kór és a Huntington-kór, továbbá esetleg a schizophrenia kialakulásában lehet szerepük, az AMY-ban kimutatott SP-szint változások szerepet játszhatnak az Alzheimer-kór, a schizophrenia és a depresszió létrejöttében. Az SP pontosabb szerepének megismerése tehát hozzájárulhat újabb hatásos gyógyszerek tervezéséhez.

## 6. AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEGZÉSE

Eredményeink szerint az SP facilitálja a tanulást negatív megerősítő (büntetéses) és pozitív megerősítő szituációkban. Kimutattuk továbbá anxiolitikus hatását emelt keresztpalló tesztben. Specifikus receptor antagonistá kezeléssel igazoltuk az NK1 receptorok szerepét az SP hatásainak közvetítésében. Eredményeink azt mutatják, hogy az SP hatásai dóziszfüggőek, a kis dózisu (10 ng) SP bizonyult hatásosnak a tesztekben, míg nagy dózisa (100 ng) hatástalan volt.

Az SP hatása azonban eltérő volt az egyes struktúrákat tekintve. A GP-be és az ACE-ba injektált kis dózisu SP szignifikáns *pozitív megerősítő* hatásának bizonyult, az ABL-ben azonban nem alakult ki hatására helypreferencia. Az Emelt keresztpalló teszt során a GP-be adott kis dózisu SP-t *szorongásoldó* hatásának találtuk, az SP ezen anxiolitikus hatása specifikus NK1 receptor antagonistá előkezeléssel kivédhető volt. Az ACE-ban, ezzel ellentétben, mind a kis dózisu, mind a nagy dózisu SP szorongás-oldó hatásának bizonyult, a hatást a specifikus antagonistá előkezelés nem függesztette fel, csak gyengítette. Az ACE-ban tehát az NK1 receptorok csak részben játszanak szerepet az anxiolitikus hatás közvetítésében, feltehetően az ott előforduló NK3 receptoroknak is szerepük van ebben. Az SP mind a GP-ben, mind az AMY-ban fokozta a *negatív megerősítéses tanulást*. Az SP az ACE-ban valószínűleg fokozza a tanulást és a hosszú távú memória kialakításában is szerepe lehet, ezzel szemben a GP-be adott SP a tanulást ugyan facilitálja, az emléknymok megőrzését, hosszú távú memóriába írását azonban nem. Az ABL-be adott SP szintén elősegíti a passzív elhárító tanulást, azonban további vizsgálatot igényel annak eldöntése, hogy van-e memóriát gyengítő hatása.

Az SP hatásmechanizmusának pontosabb feltárásához további kísérletekre lesz szükség, amelyekben vizsgálni szeretnénk az SP kölcsönhatásait a DA-erg, ACh-erg és szerotninerger rendszerekkel. Reméljük, e kísérleti eredmények hozzájárulnak a tanulási-, és memória-folyamatok pontosabb megismeréséhez, és egyes központi idegrendszeri betegségek patomechanizmusának jobb megértéséhez.

## 7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni köszönetemet **Lénárd László** akadémikusnak, témavezetőmnek, az MTA Idegéletani Kutatócsoport vezetőjének, aki a témaválasztásban, a kísérletes munka során, valamint a disszertáció elkészítése során nyújtott hasznos tanácsokat, szakmai segítséget.

A kísérletes munkában, valamint a disszertáció elkészítése során nyújtott segítségükért és szakmai tanácsaikért köszönettel tartozom továbbá **Karádi Zoltán** egyetemi tanárnak, a PTE ÁOK Élettani Intézet vezetőjének, továbbá **Gálosi Rita** adjunktusnak, és **László Kristóf** tanársegédnek.

Köszönetet szeretnék mondani **Kohári Orsolya**, **Takács Tiborné** és **Károlyi Enikő** laboratóriumi asszisztensnőknek a magatartási kísérletek kivitelezése során nyújtott kiváló technikai segítségükért, valamint **Schulteisz Anna** és **Hegedűs Jánosné** laboratóriumi asszisztensnőknek a szövettani munkák magas szintű kivitelezéséért. Ugyancsak köszönet illeti munkatársamat, **Belvárác András**t a disszertáció ábráinak elkészítésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm továbbá az Intézet többi munkatársának és családomnak, valamint barátaimnak, akik észrevételeikkel és tanácsaikkal segítettek az értekezés elkészítését.



## 8. A DISSZERTÁCIÓBAN HASZNÁLT RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

5-HT	szerotonin	HPC	hippocampus
ABL	nucleus basolateralis amygdalae	HT	hypothalamus
ACE	nucleus centralis amygdalae	LC	locus coeruleus
ACh	acetylcholin	LH	lateralis hypothalamus
AChE	acetylcholin-esterase	MLDR	mesolimbicus dopamin rendszer
ALat	nucleus lateralis amygdalae	NAC	nucleus accumbens
AMed	nucleus medialis amygdalae	NBM	nucleus basalis magnocellularis
AMY	amygdaloid complex	NK	neurokinin
BG	basalis ganglionok	NKA	neurokinin A
BNST	a stria terminalis beágyazott magja	NKB	neurokinin B
BZD	benzodiazepin	NPK	neuropeptid K
ChAT	cholin-acetyl-transzferáz	NP $\gamma$	neuropeptid $\gamma$
CGRP	calcitonin-gén rokon peptid	OBF	orbitofrontalis kéreg
CPU	caudatum-putamen complex	PAG	periaqueductalis szürkeállomány
CSF	cerebrospinalis folyadék	PFC	prefrontalis kéreg
CRF	corticotropin-releasing faktor	PPN	pedunculopontin tegmentalis mag
DA	dopamin	PPT	preprotachykinin
DR	nucleus raphe dorsalis	SN	substantia nigra
ENK	enkefalin	SNC	substantia nigra pars compacta
EPN	entopeduncularis mag	SNr	substantia nigra pars reticularis
GABA	$\gamma$ -amino-vajsav	SP	substance P
GP	globus pallidus	SP-IR	substance P-immunreaktivitás
GPe	globus pallidus pars externa	STN	nucleus subthalamicus
GPi	globus pallidus pars interna	VP	ventralis pallidum

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] J.P. Aggleton, A description of the amygdalo-hippocampal interconnections in the macaque monkey, *Exp Brain Res* 64 (1986) 515-526.
- [2] J.P. Aggleton, D.P. Friedman and M. Mishkin, A comparison between the connections of the amygdala and hippocampus with the basal forebrain in the macaque, *Exp Brain Res* 67 (1987) 556-568.
- [3] L.D. Aimone, K.C. Appel, S.C. Chippari, A.L. Harris and S.C. Ward, Novel non-peptide substance antagonists in the rat., *Soc Neurosci Abstratcts* 17 (1991) 805.
- [4] B. Akerman, S. Rosell and K. Folkers, Intrathecal (D-Pro2,D-Trp7,9)-SP elicits hypoalgesia and motor blockade in the rat and antagonizes noxious responses induced by substance-P, *Acta Physiol. Scand.* 114 (1982) 631-633.
- [5] D.G. Amaral and J.L. Bassett, Cholinergic innervation of the monkey amygdala: an immunohistochemical analysis with antisera to choline acetyltransferase, *Journal of Comparative Neurology* 281 (1989) 337-361.
- [6] J.J. Anderson, S. Kuo, T.N. Chase and T.M. Engber, Dopamine D-1 receptor-stimulated release of acetylcholine in rat striatum is mediated indirectly by activation of striatal neurokinin(1) receptors, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 269 (1994) 1144-1151.
- [7] H. Arai and P.C. Emson, Regional distribution of neuropeptide-K and other tachykinins (neurokinin-A, neurokinin-B and substance-P) in rat central-nervous-system, *Brain Res.* 399 (1986) 240-249.
- [8] E. Arenas, J. Alberch, E. Pereznavarro, C. Solsona and J. Marsal, Neurokinin receptors differentially mediate endogenous acetylcholine-release evoked by tachykinins in the neostriatum, *J. Neurosci.* 11 (1991) 2332-2338.
- [9] D. Arkadir, G. Morris, E. Vaadia and H. Bergman, Independent coding of movement direction and reward prediction by single pallidal neurons, *J. Neurosci.* 24 (2004) 10047-10056.
- [10] A.V. Azaryan and A.A. Galoyan, Substrate specificity of cerebral cathepsin D and high-Mr aspartic endopeptidase, *J Neurosci Res* 19 (1988) 268-271.
- [11] É.E. Bagi, A folyadékfelvétel angiotenzinergias mechanizmusainak szabályozása a zona incertában és az amygdala centrális magjában., PhD disszertáció (2004).
- [12] M. Balaskó, M. Székely and Z. Szelényi, The effect of CP-96,345, a non-peptide substance-P antagonist, on thermoregulation and the development of endotoxin-fever in rats, *J. Therm. Biol.* 25 (2000) 1-4.
- [13] A. Bánvölgyi, G. Pozsgai, S.D. Brain, Z.S. Helyes, J. Szolcsányi, M. Ghosh, B. Melegh and E. Pintér, Mustard oil induces a transient receptor potential vanilloid 1 receptor-independent neurogenic inflammation and a non-neurogenic cellular inflammatory component in mice, *Neuroscience* 125 (2004) 449-459.
- [14] P.J. Barnes, Airway neuropeptides and airway disease, *Ann Ital Med Int* 2 (1987) 327-332.
- [15] L. Barthó, P. Holzer, F. Lembeck and J. Szolcsányi, Evidence that the contractile response of the guinea-pig ileum to capsaicin is due to substance P., *J Physiol* 332 (1982) 157-167.
- [16] L. Barthó, L. Lénárd, R. Patacchini, V. Halmai, M. Wilhelm, P. Holzer and C.A. Maggi, Tachykinin receptors are involved in the "local efferent" motor response to capsaicin in the guinea-pig small intestine and oesophagus, *Neuroscience* 90 (1999) 221-228.
- [17] M.G. Baxter and E.A. Murray, The amygdala and reward, *Nat. Rev. Neurosci.* 3 (2002) 563-573.
- [18] S. Beaulieu, T. Di Paolo, J. Cote and N. Barden, Participation of the central amygdaloid nucleus in the response of adrenocorticotropin secretion to immobilization stress: opposing roles of the noradrenergic and dopaminergic systems, *Neuroendocrinology* 45 (1987) 37-46.
- [19] R.M. Beckstead, V.B. Domesick and W.J. Nauta, Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat, *Brain Res* 175 (1979) 191-217.
- [20] D. Belin and B.J. Everitt, Cocaine seeking habits depend upon dopamine-dependent serial connectivity linking the ventral with the dorsal striatum, *Neuron* 57 (2008) 432-441.
- [21] Y. Ben-Ari, R.E. Zigmond and K.E. Moore, Regional distribution of tyrosine hydroxylase, norepinephrine and dopamine within the amygdaloid complex of the rat, *Brain Res* 87 (1975) 96-101.
- [22] Y. Ben-Ari, R.E. Zigmond, C.C.D. Shute and P.R. Lewis, Regional distribution of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase within the amygdaloid complex and stria terminalis system. , *Brain Res* 120 (1977) 435-445.
- [23] W.C. Benzing, E.J. Mufson and D.M. Armstrong, Immunocytochemical Distribution of Peptidergic and Cholinergic Fibers in the Human Amygdala - Their Depletion in Alzheimers-Disease and

- Morphologic Alteration in Nondemented Elderly with Numerous Senile Plaques, *Brain Res.* 625 (1993) 125-138.
- [24] I.J.M. Beresford, P.J. Birch, R.M. Hagan and S.J. Ireland, Investigation into species variants in tachykinin NK1 receptors by use of the nonpeptide antagonist, CP-96,345, *Br. J. Pharmacol.* 104 (1991) 292-293.
- [25] V. Bernard, E. Normand and B. Bloch, Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing muscarinic receptor genes, *J Neurosci* 12 (1992) 3591-3600.
- [26] W.H. Berrettini, D.R. Rubinow, J.I. Nurnberger, Jr., S. Simmons-Alling, R.M. Post and E.S. Gershon, CSF substance P immunoreactivity in affective disorders, *Biol Psychiatry* 20 (1985) 965-970.
- [27] 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.
- [28] D.C. Blanchard, R.J. Blanchard, E.M. Lee and S. Nakamura, Defensive behaviors in rats following septal and septal-amygdala lesions, *J Comp Physiol Psychol* 93 (1979) 378-390.
- [29] S. Blumberg, V.I. Teichberg, J.L. Charli, L.B. Hersh and J.F. McKelvy, Cleavage of substance-P to an N-terminal tetrapeptide and a C-terminal heptapeptide by a post-proline cleaving enzyme from bovine brain, *Brain Res.* 192 (1980) 477-486.
- [30] F. Boix, M. Pfister, J.P. Huston and R.K.W. Schwarting, Substance-P decreases extracellular concentrations of acetylcholine in neostriatum and nucleus-accumbens in-vivo - possible relevance for the central processing of reward and aversion, *Behav. Brain Res.* 63 (1994) 213-219.
- [31] F. Boix, P. Sándor, P.J. Nogueira, J.P. Huston and R.K. Schwarting, Retrograde amnesia produced by post-trial injection of substance P into the substantia nigra. , *Brain Res* 159 (1978) 468-472.
- [32] F. Boix, P. Sándor, P.J.C. Nogueira, J.P. Huston and R.K.W. Schwarting, Relationship between dopamine release in nucleus-accumbens and place preference induced by substance-P injected into the nucleus basalis magnocellularis region, *Neuroscience* 64 (1995) 1045-1055.
- [33] J.P. Bolam, C.A. Ingham, P.N. Izzo, A.I. Levey, D.B. Rye, A.D. Smith and B.H. Wainer, Substance P-containing terminals in synaptic contact with cholinergic neurons in the neostriatum and basal forebrain - a double immunocytochemical study in the rat, *Brain Res.* 397 (1986) 279-289.
- [34] M.L. Bouthenet, E. Souil, M.P. Martres, P. Sokoloff, B. Giros and J.C. Schwartz, Localization of dopamine D3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA, *Brain Res* 564 (1991) 203-219.
- [35] S. Boyce, D. Smith, E. Carlson, L. Hewson, M. Rigby, R. O'Donnell, T. Harrison and N.M. Rupniak, Intra-amygdala injection of the substance P [NK(1) receptor] antagonist L-760735 inhibits neonatal vocalisations in guinea-pigs, *Neuropharmacology* 41 (2001) 130-137.
- [36] S.D. Brain and T.J. Williams, Inflammatory oedema induced by synergism between calcitonin gene-related peptide (CGRP) and mediators of increased vascular permeability, *Br J Pharmacol* 86 (1985) 855-860.
- [37] E. Bresnahan and A. Routtenberg, Memory disruption by unilateral low level, sub-seizure stimulation of the medial amygdaloid nucleus., *Physiology and Behaviour* 9 (1972) 513-525.
- [38] 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* 113 (1993) 123-130.
- [39] S.H. Buck, E. Burcher, C.W. Shults, W. Lovenberg and T.L. O'Donohue, Novel pharmacology of substance K-binding sites: a third type of tachykinin receptor, *Science* 226 (1984) 987-989.
- [40] S.H. Buck, B.O. Fanger and P.L. van Giersbergen, Pharmacological and biochemical evidence for multiple types of tachykinin NK2 receptors, *Ann N Y Acad Sci* 632 (1991) 112-115.
- [41] M. Cador, T.W. Robbins and B.J. Everitt, Involvement of the amygdala in stimulus-reward associations: interaction with the ventral striatum, *Neuroscience* 30 (1989) 77-86.
- [42] L. Cahill, Neurobiological mechanisms of emotionally influenced, long-term memory, *Prog Brain Res* 126 (2000) 29-37.
- [43] 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.
- [44] T. Cao, E. Pinter, S. Al-Rashed, N. Gerard, J.R. Houtl and S.D. Brain, Neurokinin-1 receptor agonists are involved in mediating neutrophil accumulation in the inflamed, but not normal, cutaneous microvasculature: an in vivo study using neurokinin-1 receptor knockout mice, *J Immunol* 164 (2000) 5424-5429.

- [45] R.N. Cardinal, J.A. Parkinson, J. Hall and B.J. Everitt, Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26 (2002) 321-352.
- [46] R. Carletti, M. Corsi, S. Melotto and L. Caberlotto, Down-regulation of amygdala preprotachykinin A mRNA but not H-3-SP receptor binding sites in subjects affected by mood disorders and schizophrenia, *European Journal of Neuroscience* 21 (2005) 1712-1718.
- [47] M.B. Carpenter, Anatomical organisation of the corpus striatum and related nuclei., *Basal Ganglia*, Raven Press, New York, (1976) 1-35.
- [48] M.S. Carter and J.E. Krause, Structure, expression, and some regulatory mechanisms of the rat preprotachykinin gene encoding substance P, neurokinin A, neuropeptide K, and neuropeptide gamma, *J Neurosci* 10 (1990) 2203-2214.
- [49] M.C. Carvalho, L. Albrechet-Souza, S. Masson and M.L. Brandão, Changes in the biogenic amine content of the prefrontal cortex, amygdala, dorsal hippocampus, and nucleus accumbens of rats submitted to single and repeated sessions of the elevated plus-maze test, *Braz J Med Biol Res* 38 (2005) 1857-1866.
- [50] M.A. Cascieri, G.G. Chicchi and T. Liang, Demonstration of two distinct tachykinin receptors in rat brain cortex, *J Biol Chem* 260 (1985) 1501-1507.
- [51] M.D. Cassell, T.S. Gray and J.Z. Kiss, Neuronal architecture in the rat central nucleus of the amygdala - a cytological, hodological, and immunocytochemical study, *J. Comp. Neurol.* 246 (1986) 478-499.
- [52] V. Chan-Palay and S.L. Palay, Immunocytochemical identification of substance P cells and their processes in rat sensory ganglia and their terminals in the spinal cord: light microscopic studies, *Proc Natl Acad Sci U S A* 74 (1977) 3597-3601.
- [53] H.T. Chang, Substance-P dopamine relationship in the rat substantia nigra - a light and electron-microscopy study of double immunocytochemically labeled materials, *Brain Res.* 448 (1988) 391-396.
- [54] M.M. Chang and S.E. Leeman, Amino-acid sequence of substance P. , *Nature New Biol* 232 (1971) 86-87.
- [55] M.M. Chang and S.E. Leeman, Isolation of a sialogogic peptide from bovine hypothalamic tissue and its characterization as substance P, *J Biol Chem* 245 (1970) 4784-4790.
- [56] S. Cheeta, S. Tucci, J. Sandhu, A.R. Williams, N.M. Rupniak and S.E. File, Anxiolytic actions of the substance P (NK1) receptor antagonist L-760735 and the 5-HT1A agonist 8-OH-DPAT in the social interaction test in gerbils, *Brain Res* 915 (2001) 170-175.
- [57] H.S. Chowdrey, D.S. Jessop and S.L. Lightman, Substance-P stimulates arginine vasopressin and inhibits adrenocorticotropin release in vivo in the rat, *Neuroendocrinology* 52 (1990) 90-93.
- [58] I.W. Chubb, A.J. Hodgson and G.H. White, Acetylcholinesterase hydrolyzes substance P, *Neuroscience* 5 (1980) 2065-2072.
- [59] P.B. Clarke, C.B. Pert and A. Pert, Autoradiographic distribution of nicotine receptors in rat brain, *Brain Res* 323 (1984) 390-395.
- [60] R.M. Clavier and H.C. Fibiger, Role of ascending catecholaminergic projections in intracranial self-stimulation of substantia nigra, *Brain Res.* 131 (1977) 271-286.
- [61] R.A. Clevens and M.F. Beal, Substance-P-like immunoreactivity in brains with pathological features of Parkinsons and Alzheimers diseases, *Brain Res.* 486 (1989) 387-390.
- [62] A. Contarino, F. Dellu, G.F. Koob, G.W. Smith, K.F. Lee, W. Vale and L.H. Gold, Reduced anxiety-like and cognitive performance in mice lacking the corticotropin-releasing factor receptor 1, *Brain Res* 835 (1999) 1-9.
- [63] C.D. Corman, P.M. Meyer and D.R. Meyer, Open-field activity and exploration in rats with septal and amygdaloid lesions, *Brain Res* 5 (1967) 469-476.
- [64] B. Costall, M.E. Kelly, R.J. Naylor, E.S. Onaivi and M.B. Tyers, Neuroanatomical sites of action of 5-HT3 receptor agonist and antagonists for alteration of aversive behaviour in the mouse, *Br J Pharmacol* 96 (1989) 325-332.
- [65] A.C. Cuello, M. Del Fiacco and G. Paxinos, The central and peripheral ends of the substance P-containing sensory neurones in the rat trigeminal system, *Brain Res* 152 (1978) 499-500.
- [66] C. Da Cunha, E.C. Wietzikoski, P. Dombrowski, M. Bortolanza, L.M. Santos, S.L. Boschen and E. Miyoshi, Learning processing in the basal ganglia: A mosaic of broken mirrors, *Behav. Brain Res.* 199 (2009) 157-170.
- [67] T.V. Dam, E. Escher and R. Quirion, Evidence for the existence of three classes of neurokinin receptors in brain. Differential ontogeny of neurokinin-1, neurokinin-2 and neurokinin-3 binding sites in rat cerebral cortex, *Brain Res* 453 (1988) 372-376.

- [68] R.J. Davidson, H. Abercrombie, J.B. Nitschke and K. Putnam, Regional brain function, emotion and disorders of emotion, *Curr Opin Neurobiol* 9 (1999) 228-234.
- [69] J. Davies and A. Dray, Substance-P in substantia nigra, *Brain Res.* 107 (1976) 623-627.
- [70] M. Davis, The role of the amygdala in fear and anxiety, *Annual Review of Neuroscience* 15 (1992) 353-375.
- [71] J.E. De Araújo, J.P. Huston and M.L. Brandão, Opposite effects of substance P fragments C (anxiogenic) and N (anxiolytic) injected into dorsal periaqueductal gray, *Eur. J. Pharmacol.* 432 (2001) 43-51.
- [72] J.E. De Araújo, J.P. Huston and M.L. Brandão, Place aversion induced by microinjections of C-fragment of substance P into the dorsal periaqueductal gray of rats is mediated by tachykinin NK1 receptors, *Peptides* 22 (2001) 1447-1452.
- [73] Y. De Koninck and J.L. Henry, Substance P-mediated slow excitatory postsynaptic potential elicited in dorsal horn neurons in vivo by noxious stimulation., *Proc Nat Acad Sci USA* 88 (1991) 11344-11348.
- [74] A.F. DeFelice and A. Brousseau, Natriuretic and vasodilating activities of intrarenally administered atriopeptin II, substance P and bradykinin in the dog., *J Pharmacol Exp Ther* 246 (1988) 183-188.
- [75] A.Y. Deutch, J.E. Maggio, M.J. Bannon, P.W. Kalivas, S.Y. Tam, M. Goldstein and R.H. Roth, Substance K and substance P differentially modulate mesolimbic and mesocortical systems, *Peptides* 6 Suppl 2 (1985) 113-122.
- [76] P. DeVillier, J.F. Dessanges, F. Rakotosihanaka, A. Ghaem, H.A. Boushey, A. Lockhart and J. Marsac, Nasal response to substance P and methacholine in subjects with and without allergic rhinitis, *Eur Respir J* 1 (1988) 356-361.
- [77] I. Divac, Magnocellular nuclei of the basal forebrain project to neocortex, brain stem, and olfactory bulb. Review of some functional correlates, *Brain Res* 93 (1975) 385-398.
- [78] A.W. Duggan, I.A. Hendry, C.R. Morton, W.D. Hutchison and Z.Q. Zhao, Cutaneous stimuli releasing immunoreactive substance-P in the dorsal horn of the cat, *Brain Res.* 451 (1988) 261-273.
- [79] A.J. Dunn and C.W. Berridge, Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?, *Brain Res Brain Res Rev* 15 (1990) 71-100.
- [80] M.S. Duxon, G.A. Kennett, S. Lightowler, T.P. Blackburn and K.C. Fone, Activation of 5-HT<sub>2B</sub> receptors in the medial amygdala causes anxiolysis in the social interaction test in the rat, *Neuropharmacology* 36 (1997) 601-608.
- [81] M. Duzzioni, A.V. Calixto, F.S. Duarte and T.C. De Lima, Modulation of anxiety in rats evaluated in the elevated T-maze: evidence of the relationship between substance P and diazepam, *Behav Brain Res* 187 (2008) 140-145.
- [82] K. Ebner, N.M. Rupniak, A. Saria and N. Singewald, Substance P in the medial amygdala: emotional stress-sensitive release and modulation of anxiety-related behavior in rats, *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 (2004) 4280-4285.
- [83] P.J. Elliott and S.D. Iversen, Behavioural effects of tachykinins and related peptides, *Brain Res* 381 (1986) 68-76.
- [84] X. Emonds-Alt, D. Bichon, J.P. Ducoux, M. Heaulme, B. Miloux, M. Poncelet, V. Proietto, D. Van Broeck, P. Vilain, G. Neliat and et al., SR 142801, the first potent non-peptide antagonist of the tachykinin NK<sub>3</sub> receptor, *Life Sci* 56 (1995) PL27-32.
- [85] X. Emonds-Alt, P. Vilain, P. Goulaouic, V. Proietto, D. Van Broeck, C. Advenier, E. Naline, G. Neliat, G. Le Fur and J.C. Breliere, A potent and selective non-peptide antagonist of the neurokinin A (NK<sub>2</sub>) receptor, *Life Sci* 50 (1992) PL101-106.
- [86] M. Emre, S. Heckers, D.C. Mash, C. Geula and M.M. Mesulam, Cholinergic innervation of the amygdaloid complex in the human brain and its alterations in old age and Alzheimer's disease, *J Comp Neurol* 336 (1993) 117-134.
- [87] S. Endo, H. Yokosawa and S. Ishii, Purification and characterization of a substance P-degrading endopeptidase from rat brain, *J Biochem* 104 (1988) 999-1006.
- [88] A. Ennaceur, Effects of lesions of the substantia innominata/ventral pallidum, globus pallidus and medial septum on rat's performance in object-recognition and radial-maze tasks: physostigmine and amphetamine treatments, *Pharmacol Res* 38 (1998) 251-263.
- [89] V. Erspamer, P. Melchiorri, M. Broccardo, G.F. Erspamer, P. Falaschi, G. Improta, L. Negri and T. Renda, The brain-gut-skin triangle: new peptides, *Peptides* 2 Suppl 2 (1981) 7-16.
- [90] B.J. Everitt, T.W. Robbins, J.L. Evenden, H.M. Marston, G.H. Jones and T.E. Sirkia, The effects of excitotoxic lesions of the substantia innominata, ventral and dorsal globus pallidus on the acquisition

- and retention of a conditional visual discrimination: implications for cholinergic hypotheses of learning and memory, *Neuroscience* 22 (1987) 441-469.
- [91] M. Faria, P. Navarra, S. Tsagarakis, G.M. Besser and A.B. Grossman, Inhibition of CRH-41 release by substance P, but not substance K, from the rat hypothalamus in vitro, *Brain Res* 538 (1991) 76-78.
- [92] É. Fekete, J. Vigh, É.E. Bagi and L. Lénárd, Gastrin-releasing peptide microinjected into the amygdala inhibits feeding, *Brain Res* 955 (2002) 55-63.
- [93] C.M. Fewtrell, J.C. Foreman, C.C. Jordan, P. Oehme, H. Renner and J.M. Stewart, The effects of substance P on histamine and 5-hydroxytryptamine release in the rat, *J Physiol* 330 (1982) 393-411.
- [94] H.C. Fibiger and A.G. Phillips, Retrograde amnesia after electrical stimulation of the substantia nigra: mediation by the dopaminergic nigrostriatal bundle, *Brain Res* 116 (1976) 23-33.
- [95] S.E. File, Aversive and appetitive properties of anxiogenic and anxiolytic agents, *Behav Brain Res* 21 (1986) 189-194.
- [96] S.E. File and R.J. Rodgers, Partial anxiolytic action of morphine sulphate following microinjection into the central nucleus of the amygdala in rats, *Pharmacol Biochem Behav* 11 (1979) 313-318.
- [97] T. Fink and E. Weihe, Multiple neuropeptides in nerves supplying mammalian lymph nodes: messenger candidate for sensory and autonomic neuroimmunomodulation?, *Neurosci Lett* 90 (1988) 39-44.
- [98] K. Folkers, J. Horig, S. Rosell and U. Bjorkroth, Chemical design of antagonists of substance P, *Acta Physiol Scand* 111 (1981) 505-506.
- [99] E. Fonberg, The role of the hypothalamus and amygdala in food intake, alimentary motivation and emotional reactions, *Acta Biol Exp (Warsz)* 29 (1969) 335-358.
- [100] E. Fonberg and J.M. Del Gado, Avoidance and alimentary reactions during amygdala stimulation, *J Neurophysiol* 24 (1961) 651-664.
- [101] H. Fuchs, J. Nagel and W. Hauber, Effects of physiological and pharmacological stimuli on dopamine release in the rat globus pallidus, *Neurochem Int* 47 (2005) 474-481.
- [102] J.L. Fudge and S.N. Haber, The central nucleus of the amygdala projection to dopamine subpopulations in primates, *Neuroscience* 97 (2000) 479-494.
- [103] J.B. Furness, R.E. Papka, N.G. Della, M. Costa and R.L. Eskay, Substance P-like immunoreactivity in nerves associated with the vascular system of guinea-pigs, *Neuroscience* 7 (1982) 447-459.
- [104] C.A. Gadd, P. Murtra, C. De Felipe and S.P. Hunt, Neurokinin-1 receptor-expressing neurons in the amygdala modulate morphine reward and anxiety behaviors in the mouse, *J Neurosci* 23 (2003) 8271-8280.
- [105] C. Gall and R.Y. Moore, Distribution of enkephalin, substance P, tyrosine hydroxylase, and 5-hydroxytryptamine immunoreactivity in the septal region of the rat, *J Comp Neurol* 225 (1984) 212-227.
- [106] C. Gall and L. Selawski, Supramammillary afferents to guinea pig hippocampus contain substance P-like immunoreactivity, *Neurosci Lett* 51 (1984) 171-176.
- [107] 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.
- [108] R. Gamse, M. Posch, A. Saria and G. Jancso, Several mediators appear to interact in neurogenic inflammation, *Acta Physiol Hung* 69 (1987) 343-354.
- [109] M. García-Montanez, G.L. Quirarte and R.A. Prado-Alcala, Differential effects of unilateral lidocaine infusion into the globus pallidus on consolidation and performance of inhibitory avoidance, *Neurobiol Learn Mem* 69 (1998) 13-21.
- [110] E.C. Gavioli, N.S. Canteras and T.C. De Lima, Anxiogenic-like effect induced by substance P injected into the lateral septal nucleus, *Neuroreport* 10 (1999) 3399-3403.
- [111] C.R. Gerfen, *Basal Ganglia, The Rat Nervous System (Third Edition)*, Paxinos, G. (ed), San Diego: Elsevier Academic Press (2004) 455-508.
- [112] C.R. Gerfen, Substance P (neurokinin-1) receptor mRNA is selectively expressed in cholinergic neurons in the striatum and basal forebrain, *Brain Res* 556 (1991) 165-170.
- [113] P.E. Gold, Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory, *Neurobiol. Learn. Mem.* 80 (2003) 194-210.
- [114] L.E. Gonzalez, N. Andrews and S.E. File, 5-HT<sub>1A</sub> and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze, *Brain Res.* 732 (1996) 145-153.
- [115] 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.

- [116] J.A. Grahn, J.A. Parkinson and A.M. Owen, The role of the basal ganglia in learning and memory: neuropsychological studies, *Behav Brain Res* 199 (2009) 53-60.
- [117] A.M. Graybiel, Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia, *Trends Neurosci* 13 (1990) 244-254.
- [118] J. Grenhoff, G. Aston-Jones and T.H. Svensson, Nicotinic effects on the firing pattern of midbrain dopamine neurons, *Acta Physiol Scand* 128 (1986) 351-358.
- [119] G. Griebel, 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research, *Pharmacol Ther* 65 (1995) 319-395.
- [120] 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.
- [121] H.J. Groenewegen, H.W. Berendse, G.E. Meredith, S.N. Haber, P. Voorn, J.G. Wolters and A.H. Lohman, Functional anatomy of the ventral, limbic system-innervated striatum, In: *The mesolimbic dopamine system: from motivation to action*, Willner, P., Scheel-Krüger, J. (eds). New York: John Wiley and Sons (1991) 19-59.
- [122] H.G. Gullner, W.B. Campbell and W.A. Pettinger, Effects of substance P on renin release and renal function in anesthetized dogs, *Life Sci* 24 (1979) 237-245.
- [123] C.G. Gurtman, K.C. Morley, K.M. Li, G.E. Hunt and I.S. McGregor, Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion, *Eur J Pharmacol* 446 (2002) 89-96.
- [124] S.N. Haber and S.J. Watson, The comparative distribution of enkephalin, dynorphin and substance P in the human globus pallidus and basal forebrain, *Neuroscience* 14 (1985) 1011-1024.
- [125] G. Haeusler and R. Osterwalder, Evidence suggesting a transmitter or neuromodulatory role for substance P at the first synapse of the baroreceptor reflex, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 314 (1980) 111-121.
- [126] O. Hagermark, T. Hokfelt and B. Pernow, Flare and itch induced by substance P in human skin, *J Invest Dermatol* 71 (1978) 233-235.
- [127] D. Hagiwara, H. Miyake, H. Morimoto, M. Murai, T. Fujii and M. Matsuo, Studies on neurokinin antagonists. 1. The design of novel tripeptides possessing the glutamyl-D-tryptophylphenylalanine sequence as substance P antagonists, *J Med Chem* 35 (1992) 2015-2025.
- [128] Z. Hahn, Z. Karádi and L. Lénárd, Sex-dependent increase of blood glucose concentration after bilateral pallidal lesion in the rat, *Acta Physiol Hung* 72 (1988) 99-102.
- [129] F.S. Hall, A.C. Devries, G.W. Fong, S. Huang and A. Pert, Effects of 5,7-dihydroxytryptamine depletion of tissue serotonin levels on extracellular serotonin in the striatum assessed with in vivo microdialysis: relationship to behavior, *Synapse* 33 (1999) 16-25.
- [130] A. Harmar and P. Keen, Synthesis, and central and peripheral axonal transport of substance P in a dorsal root ganglion-nerve preparation in vitro, *Brain Res* 231 (1982) 379-385.
- [131] A.J. Harmar, V. Hyde and K. Chapman, Identification and cDNA sequence of delta-preprotachykinin, a fourth splicing variant of the rat substance P precursor, *FEBS Lett* 275 (1990) 22-24.
- [132] C.J. Harmer, P.K. Hitchcott, S.L. Morutto and G.D. Phillips, Repeated d-amphetamine enhances stimulated mesoamygdaloid dopamine transmission, *Psychopharmacology (Berl)* 132 (1997) 247-254.
- [133] R.U. Hasenöhr, 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.
- [134] R.U. Hasenöhr, P. Gerhardt and J.P. Huston, Naloxone blocks conditioned place preference induced by substance P and [pGlu6]-SP(6-11), *Regul Pept* 35 (1991) 177-187.
- [135] R.U. Hasenöhr, P. Gerhardt and J.P. Huston, Positively reinforcing effects of the neurokinin substance P in the basal forebrain: mediation by its C-terminal sequence, *Exp Neurol* 115 (1992) 282-291.
- [136] R.U. Hasenöhr, P. Gerhardt and J.P. Huston, Substance P enhancement of inhibitory avoidance learning: mediation by the N-terminal sequence, *Peptides* 11 (1990) 163-167.
- [137] R.U. Hasenöhr, 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.
- [138] R.U. Hasenöhr, J.P. Huston and T. Schuurman, Neuropeptide substance P improves water maze performance in aged rats, *Psychopharmacology (Berl)* 101 (1990) 23-26.

- [139] R.U. Hasenöhrl, O. Jentjens, M.A. De Souza Silva, C. Tomaz and J.P. Huston, Anxiolytic-like action of neurokinin substance P administered systemically or into the nucleus basalis magnocellularis region, *Eur J Pharmacol* 354 (1998) 123-133.
- [140] R. Hassler, Striatal control of locomotion, intentional actions and of integrating and perceptive activity, *J Neurol Sci* 36 (1978) 187-224.
- [141] T. Hatfield, J.S. Han, M. Conley, M. Gallagher and P. Holland, Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order conditioning and reinforcer devaluation effects, *J Neurosci* 16 (1996) 5256-5265.
- [142] M. Hayashi, Monkey brain arylamidase. II. Further characterization and studies on mode of hydrolysis of physiologically active peptides, *J Biochem* 84 (1978) 1363-1372.
- [143] L.N. Hazrati, A. Parent, S. Mitchell and S.N. Haber, Evidence for interconnections between the two segments of the globus pallidus in primates: a PHA-L anterograde tracing study, *Brain Res* 533 (1990) 171-175.
- [144] Z. Helyes, J. Németh, E. Pintér and J. Szolcsányi, Inhibition by nociceptin of neurogenic inflammation and the release of SP and CGRP from sensory nerve terminals, *Br J Pharmacol* 121 (1997) 613-615.
- [145] J.L. Henry, Discussion of nomenclature for tachykinins and tachykinin receptors., In: *Substance P and Neurokinins*, Henry, J. L. , Couture, R., Cuello, A. C., Pelletier, G, Quirion, R., Regoli, D. (eds), New York: Springer-Verlag (1987) xvii-xviii.
- [146] K. Hermansen, Effects of substance P and other peptides on the release of somatostatin, insulin, and glucagon in vitro, *Endocrinology* 107 (1980) 256-261.
- [147] I. Hernádi, Z. Karádi, B. Faludi and L. Lénárd, Disturbances of neophobia and taste-aversion learning after bilateral kainate microlesions in the rat pallidum, *Behav Neurosci* 111 (1997) 137-146.
- [148] 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.
- [149] T. Hökfelt, J.O. Kellerth, G. Nilsson and B. Pernow, Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neurons, *Brain Res* 100 (1975) 235-252.
- [150] J.R. Hollerman, L. Tremblay and W. Schultz, Influence of reward expectation on behavior-related neuronal activity in primate striatum, *J Neurophysiol* 80 (1998) 947-963.
- [151] G.G.t. Holz, K. Dunlap and R.M. Kream, Characterization of the electrically evoked release of substance P from dorsal root ganglion neurons: methods and dihydropyridine sensitivity, *J Neurosci* 8 (1988) 463-471.
- [152] M.S. Holzhauser-Oitzl, K. Boucke and J.P. Huston, Reinforcing properties of substance P in the lateral hypothalamus revealed by conditioned place preference, *Pharmacol Biochem Behav* 28 (1987) 511-515.
- [153] J.S. Hong, H.A. Tilson and K. Yoshikawa, Effects of lithium and haloperidol administration on the rat brain levels of substance P, *J Pharmacol Exp Ther* 224 (1983) 590-593.
- [154] E.H. Hsu, J.P. Schroeder and M.G. Packard, The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference, *Behav Brain Res* 129 (2002) 93-100.
- [155] X.Y. Hua and J.M. Lundberg, Dual capsaicin effects on ureteric motility: low dose inhibition mediated by calcitonin gene-related peptide and high dose stimulation by tachykinins?, *Acta Physiol Scand* 128 (1986) 453-465.
- [156] C.B. Hubner and G.F. Koob, The ventral pallidum plays a role in mediating cocaine and heroin self-administration in the rat, *Brain Res* 508 (1990) 20-29.
- [157] J.P. Huston, R.U. Hasenöhrl, F. Boix, P. Gerhardt and R.K. Schwarting, Sequence-specific effects of neurokinin substance P on memory, reinforcement, and brain dopamine activity, *Psychopharmacology (Berl)* 112 (1993) 147-162.
- [158] 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.
- [159] J.P. Huston and U. Stäubli, Post-trial injection of substance P into lateral hypothalamus and amygdala, respectively, facilitates and impairs learning, *Behav Neural Biol* 27 (1979) 244-248.
- [160] B.H. Hwang, J. Katner and S. Iyengar, Corticotropin-releasing factor mRNA and substance P receptor binding in the paraventricular hypothalamic nucleus, central nucleus of the amygdala, and locus coeruleus of Sprague-Dawley rats following restraint-induced stress, *J Mol Neurosci* 25 (2005) 239-250.



- [161] J.L. Hylden and G.L. Wilcox, Intrathecal substance P elicits a caudally-directed biting and scratching behavior in mice, *Brain Res* 217 (1981) 212-215.
- [162] J.L. Ingles, R.J. Beninger, K. Jhamandas and R.J. Boegman, Scopolamine injected into the rat amygdala impairs working-memory in the double Y-maze, *Brain Res. Bull.* 32 (1993) 339-344.
- [163] T. Inoue, T. Koyama and I. Yamashita, Effect of conditioned fear stress on serotonin metabolism in the rat brain, *Pharmacol Biochem Behav* 44 (1993) 371-374.
- [164] M. Jeljeli, C. Strazielle, J. Caston and R. Lalonde, Effects of electrolytic lesions of the lateral pallidum on motor coordination, spatial learning, and regional brain variations of cytochrome oxidase activity in rats, *Behav Brain Res* 102 (1999) 61-71.
- [165] R.T. Jensen, P. Heinz-Erian, S. Mantey, S.W. Jones and J.D. Gardner, Characterization of ability of various substance P antagonists to inhibit action of bombesin, *Am J Physiol* 254 (1988) G883-890.
- [166] T.M. Jessell, P.C. Emson, G. Paxinos and A.C. Cuellar, Topographic projections of substance P and GABA pathways in the striato- and pallido-nigral system: a biochemical and immunohistochemical study, *Brain Res* 152 (1978) 487-498.
- [167] K.R. Jonason and L.J. Enloe, Alterations in social behavior following septal and amygdaloid lesions in the rat, *J Comp Physiol Psychol* 75 (1971) 286-301.
- [168] M. Joshua, A. Adler, B. Rosin, E. Vaadia and H. Bergman, Encoding of probabilistic rewarding and aversive events by pallidal and nigral neurons, *J. Neurophysiol.* 101 (2009) 758-772.
- [169] M.D. Julian, A.B. Martin, B. Cuellar, F. Rodriguez De Fonseca, M. Navarro, R. Moratalla and L.M. Garcia-Segura, Neuroanatomical relationship between type 1 cannabinoid receptors and dopaminergic systems in the rat basal ganglia, *Neuroscience* 119 (2003) 309-318.
- [170] R. Kage, G.P. McGregor, L. Thim and J.M. Conlon, Neuropeptide-gamma: a peptide isolated from rabbit intestine that is derived from gamma-preprotachykinin, *J Neurochem* 50 (1988) 1412-1417.
- [171] N.H. Kalin, C. Larson, S.E. Shelton and R.J. Davidson, Asymmetric frontal brain activity, cortisol, and behavior associated with fearful temperament in rhesus monkeys, *Behav Neurosci* 112 (1998) 286-292.
- [172] N.H. Kalin, S.E. Shelton and R.J. Davidson, Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing hormone levels are elevated in monkeys with patterns of brain activity associated with fearful temperament, *Biol Psychiatry* 47 (2000) 579-585.
- [173] I. Kanazawa, D. Sutoo, I. Oshima and S. Saito, Effect of transection on choline acetyltransferase, thyrotropin releasing hormone and substance P in the cat cervical cord, *Neurosci Lett* 13 (1979) 325-330.
- [174] K. Kangawa, N. Minamino, A. Fukuda and H. Matsuo, Neuromedin K: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord, *Biochem Biophys Res Commun* 114 (1983) 533-540.
- [175] Z. Karádi, B. Faludi, L. Lénárd, A. Czurkó, C. Niedetzky, I. Vida and H. Nishino, Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: II. Complex functional attributes, *Brain Res Bull* 37 (1995) 157-162.
- [176] Z. Karádi, L. Lénárd, Z. Hahn and I. Szabó, Dopaminergic pallidal mechanisms and learning deficits., *Neurosci. Lett. Suppl* 1 (1978) 290.
- [177] E. Kart, G. Jocham, C.P. Muller, C. Schlomer, M.L. Brandão, J.P. Huston and M.A. de Souza Silva, Neurokinin-1 receptor antagonism by SR140333: enhanced in vivo ACh in the hippocampus and promnesic post-trial effects, *Peptides* 25 (2004) 1959-1969.
- [178] K. Katoh, K. Murai and T. Nonoyama, Effects of substance P on fluid and amylase secretion in exocrine pancreas of rat and mouse, *Res Vet Sci* 36 (1984) 147-152.
- [179] H. Kawano and T. Chiba, Distribution of substance P immunoreactive nerve terminals within the nucleus tractus solitarius of the rat, *Neurosci Lett* 45 (1984) 175-179.
- [180] M. Keller, S. Montgomery, W. Ball, M. Morrison, D. Snively, G. Liu, R. Hargreaves, J. Hietala, C. Lines, K. Beebe and S. Reines, Lack of efficacy of the substance P (neurokinin1 receptor) antagonist aprepitant in the treatment of major depressive disorder, *Biol Psychiatry* 59 (2006) 216-223.
- [181] A.E. Kelley and S.D. Iversen, Substance P infusion into substantia nigra of the rat: behavioural analysis and involvement of striatal dopamine, *Eur J Pharmacol* 60 (1979) 171-179.
- [182] R.P. Kesner, R.D. Walser and G. Winzenried, Central but not basolateral amygdala mediates memory for positive affective experiences, *Behav Brain Res* 33 (1989) 189-195.
- [183] A.M. Khawaja and D.F. Rogers, Tachykinins: receptor to effector, *Int J Biochem Cell Biol* 28 (1996) 721-738.
- [184] 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.
- [185] E.S. Kimball, Substance P, cytokines, and arthritis, *Ann N Y Acad Sci* 594 (1990) 293-308.

- [186] H.B. Klüver and P.C. Bucy, Preliminary analysis of function of the temporal lobes on monkeys., *Arch Neurol Psychiatry* 42 (1939) 979-1000.
- [187] H. Koikegami, T. Dodo, Y. Mochida and H. Takahashi, Stimulation experiments on the amygdaloid nuclear complex and related structures: effects upon the renal volume, urinary secretion, movements of the urinary bladder, blood pressure and respiratory movements, *Folia Psychiatr Neurol Jpn* 11 (1957) 157-206.
- [188] G.F. Koob, Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways, *Trends Pharmacol Sci* 13 (1992) 177-184.
- [189] K. Kosaka, K. Hama, I. Nagatsu, J.Y. Wu and T. Kosaka, Possible coexistence of amino acid (gamma-aminobutyric acid), amine (dopamine) and peptide (substance P); neurons containing immunoreactivities for glutamic acid decarboxylase, tyrosine hydroxylase and substance P in the hamster main olfactory bulb, *Exp Brain Res* 71 (1988) 633-642.
- [190] I. Kovács, A. Ludány, T. Kőszegi, J. Fehér, B. Kovács, J. Szolcsányi and E. Pintér, Substance P released from sensory nerve endings influences tear secretion and goblet cell function in the rat, *Neuropeptides* 39 (2005) 395-402.
- [191] N.W. Kowall, M.F. Beal, J. Busciglio, L.K. Duffy and B.A. Yankner, An in vivo model for the neurodegenerative effects of beta amyloid and protection by substance P, *Proc Natl Acad Sci U S A* 88 (1991) 7247-7251.
- [192] M.S. Kramer, A. Winokur, J. Kelsey, S.H. Preskorn, A.J. Rothschild, D. Snavely, K. Ghosh, W.A. Ball, S.A. Reines, D. Munjack, J.T. Apter, L. Cunningham, M. Kling, M. Bari, A. Getson and Y. Lee, Demonstration of the efficacy and safety of a novel substance P (NK1) receptor antagonist in major depression, *Neuropsychopharmacology* 29 (2004) 385-392.
- [193] P. Krappmann, R.U. Hasenohrl, C. Frisch and J.P. Huston, Self-administration of neurokinin substance P into the ventromedial caudate-putamen in rats, *Neuroscience* 62 (1994) 1093-1101.
- [194] W. Krase, M. Koch and H.U. Schnitzler, Substance P is involved in the sensitization of the acoustic startle response by footshocks in rats, *Behav Brain Res* 63 (1994) 81-88.
- [195] J.E. Krause, J.M. Chirgwin, M.S. Carter, Z.S. Xu and A.D. Hershey, Three rat preprotachykinin mRNAs encode the neuropeptides substance P and neurokinin A, *Proc Natl Acad Sci U S A* 84 (1987) 881-885.
- [196] A. Kreindler and M. Steriade, Electric "arousal" and "sleep" systems within the amygdaloid complex, *Rev Sci Med* 8 (1963) 41-46.
- [197] 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.
- [198] 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.
- [199] H. Kuhlenbeck and W. Haymaker, The derivatives of the hypothalamus in the human brain; their relation to the extrapyramidal and autonomic systems, *Mil Surg* 105 (1949) 26-52.
- [200] P.J. Larsen, D. Jessop, H. Patel, S.L. Lightman and H.S. Chowdrey, Substance P inhibits the release of anterior pituitary adrenocorticotrophin via a central mechanism involving corticotrophin-releasing factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus, *J Neuroendocrinol* 5 (1993) 99-105.
- [201] 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.
- [202] 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.
- [203] C.M. Lee, B.E. Sandberg, M.R. Hanley and L.L. Iversen, Purification and characterisation of a membrane-bound substance-P-degrading enzyme from human brain, *Eur J Biochem* 114 (1981) 315-327.
- [204] F. Lembeck, [Central transmission of afferent impulses. III. Incidence and significance of the substance P in the dorsal roots of the spinal cord.], *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 219 (1953) 197-213.
- [205] F. Lembeck and P. Holzer, Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 310 (1979) 175-183.
- [206] L. Lénárd and Z. Hahn, Amygdalar noradrenergic and dopaminergic mechanisms in the regulation of hunger and thirst-motivated behavior, *Brain Res* 233 (1982) 115-132.
- [207] L. Lénárd, Z. Karádi, B. Faludi, A. Czurkó, C. Niedetzky, I. Vida and H. Nishino, Glucose-sensitive neurons of the globus pallidus: I. Neurochemical characteristics, *Brain Res Bull* 37 (1995) 149-155.

- [208] L. Lénárd, Z. Karádi, I. Szabó and Z. Hahn, Pallidal mechanisms in the organizations of feeding and sensorimotor integration, *Recent Developments of Neurobiology in Hungary. IX. Akadémiai Kiadó, Budapest* (1982) 79-113.
- [209] L. Lénárd, Y. Oomura, Y. Nakano, S. Aou and H. Nishino, Influence of acetylcholine on neuronal activity of monkey amygdala during bar press feeding behavior, *Brain Res* 500 (1989) 359-368.
- [210] K.P. Lesch, D. Bengel, A. Heils, S.Z. Sabol, B.D. Greenberg, S. Petri, J. Benjamin, C.R. Muller, D.H. Hamer and D.L. Murphy, Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region, *Science* 274 (1996) 1527-1531.
- [211] Y.Q. Li, H.G. Jia, Z.R. Rao and J.W. Shi, Serotonin-, substance P- or leucine-enkephalin-containing neurons in the midbrain periaqueductal gray and nucleus raphe dorsalis send projection fibers to the central amygdaloid nucleus in the rat, *Neurosci Lett* 120 (1990) 124-127.
- [212] K.C. Liang and E.H. Lee, Intra-amygdala injections of corticotropin releasing factor facilitate inhibitory avoidance learning and reduce exploratory behavior in rats, *Psychopharmacology (Berl)* 96 (1988) 232-236.
- [213] A. Ljungdahl, T. Hökfelt and G. Nilsson, Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat--I. Cell bodies and nerve terminals, *Neuroscience* 3 (1978) 861-943.
- [214] A. Ljungdahl, T. Hökfelt, G. Nilsson and M. Goldstein, Distribution of substance P-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat--II. Light microscopic localization in relation to catecholamine-containing neurons, *Neuroscience* 3 (1978) 945-976.
- [215] J.F. Lopez-Gimenez, G. Mengod, J.M. Palacios and M.T. Vilaro, Regional distribution and cellular localization of 5-HT<sub>2C</sub> receptor mRNA in monkey brain: comparison with [3H]mesulergine binding sites and choline acetyltransferase mRNA, *Synapse* 42 (2001) 12-26.
- [216] 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.
- [217] J.M. Lundberg, E. Brodin and A. Saria, Effects and distribution of vagal capsaicin-sensitive substance P neurons with special reference to the trachea and lungs, *Acta Physiol Scand* 119 (1983) 243-252.
- [218] J.M. Lundberg, C.R. Martling and A. Saria, Substance P and capsaicin-induced contraction of human bronchi, *Acta Physiol Scand* 119 (1983) 49-53.
- [219] C.A. Maggi, R. Patacchini, A. Eglezos, L. Quartara, S. Giuliani and A. Giachetti, Tachykinin receptors in the guinea-pig renal pelvis: activation by exogenous and endogenous tachykinins, *Br J Pharmacol* 107 (1992) 27-33.
- [220] C.A. Maggi, R. Patacchini, F. Perretti, M. Tramontana, S. Manzini, P. Geppetti and P. Santicioli, Sensory nerves, vascular endothelium and neurogenic relaxation of the guinea-pig isolated pulmonary artery, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 342 (1990) 78-84.
- [221] C.A. Maggi, R. Patacchini, P. Santicioli, S. Giuliani, D. Turini, G. Barbanti, P. Beneforti, D. Misuri and A. Meli, Human isolated small intestine: motor responses of the longitudinal muscle to field stimulation and exogenous neuropeptides, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 339 (1989) 415-423.
- [222] C.A. Maggi, P. Santicioli, S. Giuliani, D. Regoli and A. Meli, Activation of micturition reflex by substance P and substance K: indirect evidence for the existence of multiple tachykinin receptors in the rat urinary bladder, *J Pharmacol Exp Ther* 238 (1986) 259-266.
- [223] C.A. Maggi and T.W. Schwartz, The dual nature of the tachykinin NK1 receptor, *Trends Pharmacol Sci* 18 (1997) 351-355.
- [224] B. Maley and R. Elde, Localization of substance P-like immunoreactivity in cell bodies of the feline dorsal vagal nucleus, *Neurosci Lett* 27 (1981) 187-191.
- [225] P.E. Mallet, R.J. Beninger, S.N. Flesher, K. Jhamandas and R.J. Boegman, Nucleus basalis lesions: implication of basoamygdaloid cholinergic pathways in memory, *Brain Res Bull* 36 (1995) 51-56.
- [226] A. Mansour, H. Khachaturian, M.E. Lewis, H. Akil and S.J. Watson, Anatomy of CNS opioid receptors, *Trends Neurosci* 11 (1988) 308-314.
- [227] P.W. Mantyh, T. Gates, C.R. Mantyh and J.E. Maggio, Autoradiographic localization and characterization of tachykinin receptor binding sites in the rat brain and peripheral tissues, *J Neurosci* 9 (1989) 258-279.
- [228] P.W. Mantyh, C.R. Mantyh, T. Gates, S.R. Vigna and J.E. Maggio, Receptor binding sites for substance P and substance K in the canine gastrointestinal tract and their possible role in inflammatory bowel disease, *Neuroscience* 25 (1988) 817-837.

- [229] S. Manzini, F. Perretti, L. De Benedetti, P. Pradelles, C.A. Maggi and P. Geppetti, A comparison of bradykinin- and capsaicin-induced myocardial and coronary effects in isolated perfused heart of guinea-pig: involvement of substance P and calcitonin gene-related peptide release, *Br J Pharmacol* 97 (1989) 303-312.
- [230] A.L. Markowska, G.L. Wenk and D.S. Olton, Nucleus basalis magnocellularis and memory: differential effects of two neurotoxins, *Behav Neural Biol* 54 (1990) 13-26.
- [231] G. Marsicano, C.T. Wotjak, S.C. Azad, T. Bisogno, G. Rammes, M.G. Cascio, H. Hermann, J. Tang, C. Hofmann, W. Zieglgansberger, V. Di Marzo and B. Lutz, The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories, *Nature* 418 (2002) 530-534.
- [232] M.E. Martone, D.M. Armstrong, S.J. Young and P.M. Groves, Cholinergic neurons are distributed preferentially in areas rich in substance P-like immunoreactivity in the caudate nucleus of the adult cat, *Neuroscience* 56 (1993) 567-579.
- [233] A. Martorana, F.R. Fusco, V. D'Angelo, G. Sancesario and G. Bernardi, Enkephalin, neurotensin, and substance P immunoreactive neurones of the rat GP following 6-hydroxydopamine lesion of the substantia nigra, *Exp Neurol* 183 (2003) 311-319.
- [234] M. Massi, L. Gentili, M. Perfumi, G. de Caro and J. Schulkin, Inhibition of salt appetite in the rat following injection of tachykinins into the medial amygdala, *Brain Res* 513 (1990) 1-7.
- [235] K.A. Maubach, K. Martin, D.W. Smith, L. Hewson, R.A. Frankshun, T. Harrison and G.R. Seabrook, Substance P stimulates inhibitory synaptic transmission in the guinea pig basolateral amygdala in vitro, *Neuropharmacology* 40 (2001) 806-817.
- [236] P.W. McCarthy and S.N. Lawson, Cell type and conduction velocity of rat primary sensory neurons with substance P-like immunoreactivity, *Neuroscience* 28 (1989) 745-753.
- [237] A.J. McDonald, Projection neurons of the basolateral amygdala: a correlative Golgi and retrograde tract tracing study, *Brain Res Bull* 28 (1992) 179-185.
- [238] A.J. McDonald and J.R. Augustine, Localization of GABA-like immunoreactivity in the monkey amygdala, *Neuroscience* 52 (1993) 281-294.
- [239] D. McFadden, M.J. Zinner and B.M. Jaffe, Substance P-induced intestinal secretion of water and electrolytes, *Gut* 27 (1986) 267-272.
- [240] J.L. McGaugh, L. Cahill and B. Roozendaal, Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems, *Proc Nat Acad Sci USA* 93 (1996) 13508-13514.
- [241] A. McGregor and D.C. Roberts, Dopaminergic antagonism within the nucleus accumbens or the amygdala produces differential effects on intravenous cocaine self-administration under fixed and progressive ratio schedules of reinforcement, *Brain Res* 624 (1993) 245-252.
- [242] I.S. McGregor, K.J. Clemens, G. Van der Plasse, K.M. Li, G.E. Hunt, F. Chen and A.J. Lawrence, Increased anxiety 3 months after brief exposure to MDMA ('Ecstasy') in rats: Association with altered 5-HT transporter and receptor density, *Neuropsychopharmacology* 28 (2003) 1472-1484.
- [243] J.H. Meador-Woodruff, A. Mansour, D.J. Healy, R. Kuehn, Q.Y. Zhou, J.R. Bunzow, H. Akil, O. Civelli and S.J. Watson, Jr., Comparison of the distributions of D1 and D2 dopamine receptor mRNAs in rat brain, *Neuropsychopharmacology* 5 (1991) 231-242.
- [244] Z. Merali, J. McIntosh, P. Kent, D. Michaud and H. Anisman, Aversive and appetitive events evoke the release of corticotropin-releasing hormone and bombesin-like peptides at the central nucleus of the amygdala, *J Neurosci* 18 (1998) 4758-4766.
- [245] A. Merighi, Costorage and coexistence of neuropeptides in the mammalian CNS, *Prog Neurobiol* 66 (2002) 161-190.
- [246] J.M. Miller, S.R. Vorel, A.J. Tranchesi, E.T. Kenny, P. Mazzoni, W.G. van Gorp and H.D. Kleber, Anhedonia after a selective bilateral lesion of the globus pallidus, *Am. J. Psychiat.* 163 (2006) 786-788.
- [247] N. Minamino, K. Kangawa, A. Fukuda and H. Matsuo, Neuromedin L: a novel mammalian tachykinin identified in porcine spinal cord, *Neuropeptides* 4 (1984) 157-166.
- [248] M. Miyamoto, M. Shintani, A. Nagaoka and Y. Nagawa, Lesioning of the rat basal forebrain leads to memory impairments in passive and active avoidance tasks, *Brain Res* 328 (1985) 97-104.
- [249] 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.
- [250] M. Morales, E. Battenberg, L. deLecea, P.P. Sanna and F.E. Bloom, Cellular and subcellular immunolocalization of the type 3 serotonin receptor in the rat central nervous system, *Molecular Brain Research* 36 (1996) 251-260.

- [251] C.M. Moreira, S. Masson, M.C. Carvalho and M.L. Brandão, 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.
- [252] K.C. Morley, J.E. Gallate, G.E. Hunt, P.E. Mallet and I.S. McGregor, Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"), *Eur J Pharmacol* 433 (2001) 91-99.
- [253] M.A. Moskowitz, J.F. Reinhard, Jr., J. Romero, E. Melamed and D.J. Pettibone, Neurotransmitters and the fifth cranial nerve: is there a relation to the headache phase of migraine?, *Lancet* 2 (1979) 883-885.
- [254] S. Mounir and A. Parent, The expression of neurokinin-1 receptor at striatal and pallidal levels in normal human brain, *Neurosci Res* 44 (2002) 71-81.
- [255] N.E. Naftchi, H. Maker, E. Lapin, J. Sleis, A. Lajtha and S. Leeman, Acute reduction of brain substance P induced by nicotine, *Neurochem Res* 13 (1988) 305-309.
- [256] A. Nagashima, Y. Takano, K. Tateishi, Y. Matsuoka, T. Hamaoka and H. Kamiya, Cardiovascular roles of tachykinin peptides in the nucleus tractus solitarii of rats, *Brain Res* 487 (1989) 392-396.
- [257] J.I. Nagy, S.P. Hunt, L.L. Iversen and P.C. Emson, Biochemical and anatomical observations on the degeneration of peptide-containing primary afferent neurons after neonatal capsaicin, *Neuroscience* 6 (1981) 1923-1934.
- [258] Y. Nakajima, K. Tsuchida, M. Negishi, S. Ito and S. Nakanishi, Direct linkage of three tachykinin receptors to stimulation of both phosphatidylinositol hydrolysis and cyclic AMP cascades in transfected Chinese hamster ovary cells, *J Biol Chem* 267 (1992) 2437-2442.
- [259] H. Nakamura, T. Moroji, S. Nohara, H. Nakamura and A. Okada, Effects of whole-body vibration stress on substance P- and neurotensin-like immunoreactivity in the rat brain, *Environ Res* 52 (1990) 155-163.
- [260] S. Nakanishi, Mammalian tachykinin receptors, *Annu Rev Neurosci* 14 (1991) 123-136.
- [261] T.C. Napier, P.E. Simson and B.S. Givens, Dopamine electrophysiology of ventral pallidal/substantia innominata neurons: comparison with the dorsal globus pallidus, *J Pharmacol Exp Ther* 258 (1991) 249-262.
- [262] W.J.H. Nauta and V.B. Domesick, Afferent and efferent relationships of the basal ganglia, *Ciba Foundation Symposia* 107 (1984) 3-29.
- [263] D.B. Neill and S.P. Grossman, Behavioral effects of lesions or cholinergic blockade of the dorsal and ventral caudate of rats, *J Comp Physiol Psychol* 71 (1970) 311-317.
- [264] J. Németh, Z. Helyes, G. Oroszi, M. Than, E. Pintér and J. Szolcsányi, Inhibition of nociceptin on sensory neuropeptide release and mast cell-mediated plasma extravasation in rats, *Eur J Pharmacol* 347 (1998) 101-104.
- [265] J. Németh, Z. Helyes, M. Than, B. Jakab, E. Pintér and J. Szolcsányi, Concentration-dependent dual effect of anandamide on sensory neuropeptide release from isolated rat tracheae, *Neurosci Lett* 336 (2003) 89-92.
- [266] D.L. Niehoff and P.J. Whitehouse, Multiple benzodiazepine receptors: autoradiographic localization in normal human amygdala, *Brain Res* 276 (1983) 237-245.
- [267] S. Nikolaus, J.P. Huston and R.U. Hasenöhrl, The neurokinin-1 receptor antagonist WIN51,708 attenuates the anxiolytic-like effects of ventralpallidal substance P injection, *Neuroreport* 10 (1999) 2293-2296.
- [268] S. Nikolaus, J.P. Huston and R.U. Hasenöhrl, Reinforcing effects of neurokinin substance P in the ventral pallidum: mediation by the tachykinin NK1 receptor, *Eur J Pharmacol* 370 (1999) 93-99.
- [269] 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.
- [270] L.M. Nowak and R.L. Macdonald, Substance P: ionic basis for depolarizing responses of mouse spinal cord neurons in cell culture, *J Neurosci* 2 (1982) 1119-1128.
- [271] N.F. O'Donohue and W.D. Hagamen, A map of the cat brain for regions producing self-stimulation and unilateral inattention, *Brain Res* 5 (1967) 289-300.
- [272] M.S. Oitzl, R.U. Hasenöhrl and J.P. Huston, Reinforcing effects of peripherally administered substance P and its C-terminal sequence pGlu6-SP(6-11) in the rat, *Psychopharmacology (Berl)* 100 (1990) 308-315.
- [273] M.F. Olive and N.T. Maidment, Repeated heroin administration increases extracellular opioid peptide-like immunoreactivity in the globus pallidus ventral pallidum of freely moving rats, *Psychopharmacology* 139 (1998) 251-254.

- [274] T. Ono, H. Nishijo and H. Nishino, Functional role of the limbic system and basal ganglia in motivated behaviors, *J. Neurol.* 247 (2000) 23-32.
- [275] Y. Oomura, T. Nakamura and S.K. Manchanda, Excitatory and inhibitory effects of globus pallidus and substantia nigra on the lateral hypothalamic activity in the rat, *Pharmacol Biochem Behav* 3 (1975) 23-36.
- [276] M. Otsuka and K. Yoshioka, Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins, *Physiol Rev* 73 (1993) 229-308.
- [277] C.M. Paden, S. Krall and W.C. Lynch, Heterogeneous distribution and upregulation of mu, delta and kappa opioid receptors in the amygdala, *Brain Res* 418 (1987) 349-355.
- [278] N.M. Page, Characterization of the gene structures, precursor processing and pharmacology of the endokinin peptides, *Vascul Pharmacol* 45 (2006) 200-208.
- [279] N.M. Page, Hemokinin and endokinins, *Cell Mol Life Sci* 61 (2004) 1652-1663.
- [280] G. Panagis, E. Miliaressis, Y. Anagnostakis and C. Spyraiki, Ventral pallidum self-stimulation: a moveable electrode mapping study, *Behav Brain Res* 68 (1995) 165-172.
- [281] A. Parent and L.N. Hazrati, Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop, *Brain Res Brain Res Rev* 20 (1995) 91-127.
- [282] A. Parent and L.N. Hazrati, Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry, *Brain Res Brain Res Rev* 20 (1995) 128-154.
- [283] A. Parent, M. Levesque and M. Parent, A re-evaluation of the current model of the basal ganglia, *Parkinsonism Relat Disord* 7 (2001) 193-198.
- [284] 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.
- [285] R. Patacchini, L. Barthó, R. De Giorgio, L. Lénárd, V. Stanghellini, G. Barbara, A. Lecci and C.A. Maggi, Involvement of endogenous tachykinins and CGRP in the motor responses produced by capsaicin in the guinea-pig common bile duct, *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 360 (1999) 344-353.
- [286] G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 2nd edition, New York, Academic Press, (1986).
- [287] M.A. Peinado-Manzano, The role of the amygdala and the hippocampus in working memory for spatial and non-spatial information, *Behav Brain Res* 38 (1990) 117-134.
- [288] C. Pesold and D. Treit, The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines, *Brain Res* 671 (1995) 213-221.
- [289] 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.
- [290] V.M. Pickel, T.H. Joh, D.J. Reis, S.E. Leeman and R.J. Miller, Electron microscopic localization of substance P and enkephalin in axon terminals related to dendrites of catecholaminergic neurons, *Brain Res* 160 (1979) 387-400.
- [291] M.F. Piercey, L.A. Schroeder, K. Folkers, J.C. Xu and J. Horig, Sensory and motor functions of spinal cord substance P, *Science* 214 (1981) 1361-1363.
- [292] 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.
- [293] A.E. Power, A. Vazdarjanova and J.L. McGaugh, Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation, *Neurobiol. Learn. Mem.* 80 (2003) 178-193.
- [294] Z. Preston, K. Lee, L. Widdowson, P.J. Richardson and R.D. Pinnock, Tachykinins increase [3H]acetylcholine release in mouse striatum through multiple receptor subtypes, *Neuroscience* 95 (2000) 367-376.
- [295] B.J. Quigley, Jr. and N.W. Kowall, Substance P-like immunoreactive neurons are depleted in Alzheimer's disease cerebral cortex, *Neuroscience* 41 (1991) 41-60.
- [296] F. Radja, L. Descarries, K.M. Dewar and T.A. Reader, Serotonin 5-HT1 and 5-HT2 receptors in adult rat brain after neonatal destruction of nigrostriatal dopamine neurons: a quantitative autoradiographic study, *Brain Res* 606 (1993) 273-285.
- [297] M. Randic, P.D. Ryu and L. Urban, Effects of polyclonal and monoclonal antibodies to substance P on slow excitatory transmission in rat spinal dorsal horn, *Brain Res* 383 (1986) 15-27.
- [298] D. Regoli, A. Boudon and J.L. Fauchere, Receptors and antagonists for substance P and related peptides, *Pharmacol Rev* 46 (1994) 551-599.

- [299] D. Regoli, J. Mizrahi, P. D'Orleans-Juste and E. Escher, Receptors for substance P. II. Classification by agonist fragments and homologues, *Eur J Pharmacol* 97 (1984) 171-177.
- [300] M.S. Reid, M. Herrera-Marschitz, T. Hokfelt, N. Lindfors, H. Persson and U. Ungerstedt, Striatonigral GABA, dynorphin, substance P and neurokinin A modulation of nigrostriatal dopamine release: evidence for direct regulatory mechanisms, *Exp Brain Res* 82 (1990) 293-303.
- [301] M. Reinecke, E. Weihe and W.G. Forssmann, Substance P-immunoreactive nerve fibers in the heart, *Neurosci Lett* 20 (1980) 265-269.
- [302] A. Rezayof, 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.
- [303] J.G. Richards and H. Mohler, Benzodiazepine receptors, *Neuropharmacology* 23 (1984) 233-242.
- [304] R. Rimon, P. Le Greves, F. Nyberg, L. Heikkila, L. Salmela and L. Terenius, Elevation of substance P-like peptides in the CSF of psychiatric patients, *Biol Psychiatry* 19 (1984) 509-516.
- [305] 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.
- [306] G.W. Roberts, P.L. Woodhams, J.M. Polak and T.J. Crow, Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: the amygdaloid complex, *Neuroscience* 7 (1982) 99-131.
- [307] 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.
- [308] S.D. Rogers, J.L. Salak-Johnson, M.J. Schwei, J.D. Pomonis and P.W. Mantyh, Reduced anxiety related behavior following ablation of amygdala neurons expressing substance P receptor., *Soc Neurosci Abstr* (2000).
- [309] B. Roozendaal, E.A. VanderZee, R.A. Hensbroek, H. Maat, P.G.M. Luiten, J.M. Koolhaas and B. Bohus, Muscarinic acetylcholine receptor immunoreactivity in the amygdala. 2. Fear-induced plasticity, *Neuroscience* 76 (1997) 75-83.
- [310] A. Rosen, K. Brodin, P. Eneroth and E. Brodin, Short-term restraint stress and s.c. saline injection alter the tissue levels of substance P and cholecystokinin in the peri-aqueductal grey and limbic regions of rat brain, *Acta Physiol Scand* 146 (1992) 341-348.
- [311] H.E. Rosvold, A.F. Mirsky and K.H. Pribram, Influence of amygdectomy on social behavior in monkeys, *J Comp Physiol Psychol* 47 (1954) 173-178.
- [312] E.D. Roush and M.M. Kwatra, Human substance P receptor expressed in Chinese hamster ovary cells directly activates G(alpha q/11), G(alpha s), G(alpha o), *FEBS Lett* 428 (1998) 291-294.
- [313] P. Rovero, M. Astolfi, A.R. Renzetti, R. Patacchini, A. Giachetti and C.A. Maggi, Role of D-tryptophan for affinity of MEN 10207 tachykinin antagonist at NK2 receptors, *Peptides* 12 (1991) 1015-1018.
- [314] N.M. Rupniak, E.C. Carlson, T. Harrison, B. Oates, E. Seward, S. Owen, C. de Felipe, S. Hunt and A. Wheeldon, Pharmacological blockade or genetic deletion of substance P (NK(1)) receptors attenuates neonatal vocalisation in guinea-pigs and mice, *Neuropharmacology* 39 (2000) 1413-1421.
- [315] M. Saffroy, Y. Torrens, J. Glowinski and J.C. Beaujouan, Autoradiographic distribution of tachykinin NK2 binding sites in the rat brain: Comparison with NK1 and NK3 binding sites, *Neuroscience* 116 (2003) 761-773.
- [316] P. Sah, E.S.L. Faber, M.L. De Armentia and J. Power, The amygdaloid complex: anatomy and physiology, *Physiol. Rev.* 83 (2003) 803-834.
- [317] M. Sakanaka, S. Shiosaka, K. Takatsuki, S. Inagaki, H. Takagi, E. Senba, Y. Kawai, T. Matsuzaki and M. Tohyama, Experimental immunohistochemical studies on the amygdalofugal peptidergic (substance P and somatostatin) fibers in the stria terminalis of the rat, *Brain Res* 221 (1981) 231-242.
- [318] T. Sakurada, I. Alufuzoff, B. Winblad and A. Nordberg, Substance P-like immunoreactivity, choline acetyltransferase activity and cholinergic muscarinic receptors in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia, *Brain Res* 521 (1990) 329-332.
- [319] P. Sándor, G. Sándor, Z. Karádi, A. Hajnal and L. Lénárd, Learning and motor disturbances after microelentophoretic application of kainic acid into the globus pallidus., *Abstracts of the 15th Annual Meeting of ENA/24th annual Meeting of EBBS, Munich* 2317 (1992) 1541.
- [320] A. Saria, C.R. Martling, C.J. Dalsgaard and J.M. Lundberg, Evidence for substance P-immunoreactive spinal afferents that mediate bronchoconstriction, *Acta Physiol Scand* 125 (1985) 407-414.

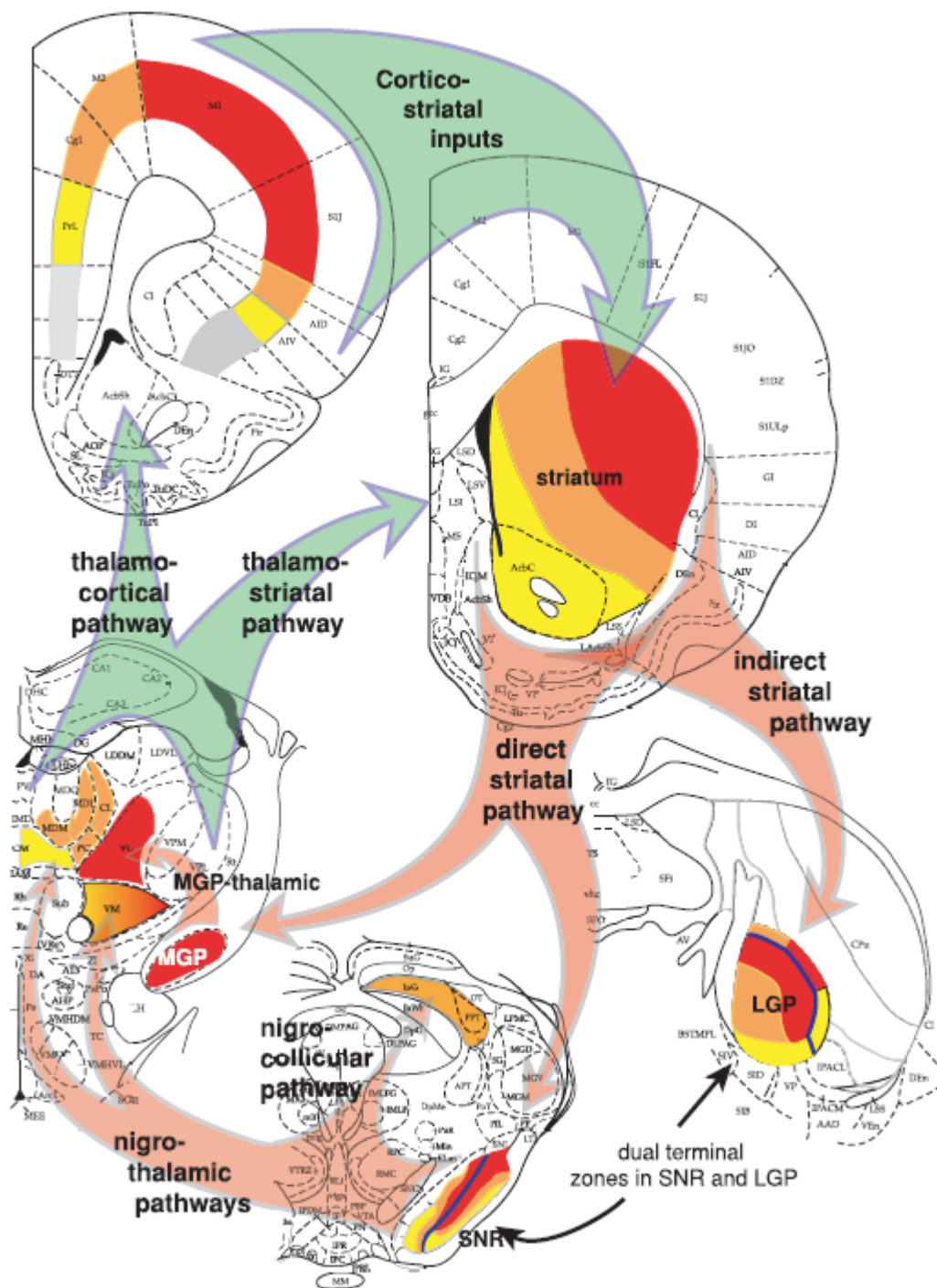
- [321] M.M. Savic, D.I. Obradovic, N.D. Ugresic, J.M. Cook, W. Yin and D.R. Bokonjic, Bidirectional effects of benzodiazepine binding site ligands in the elevated plus-maze: differential antagonism by flumazenil and beta-CCt, *Pharmacol Biochem Behav* 79 (2004) 279-290.
- [322] H.G. Schaible, B. Jarrott, P.J. Hope and A.W. Duggan, Release of immunoreactive substance P in the spinal cord during development of acute arthritis in the knee joint of the cat: a study with antibody microprobes, *Brain Res* 529 (1990) 214-223.
- [323] J. Scheel-Kruger and E.N. Petersen, Anticonflict effect of the benzodiazepines mediated by a GABAergic mechanism in the amygdala, *Eur J Pharmacol* 82 (1982) 115-116.
- [324] V.B. Schini, Z.S. Katusic and P.M. Vanhoutte, Neurohypophyseal peptides and tachykinins stimulate the production of cyclic GMP in cultured porcine aortic endothelial cells, *J Pharmacol Exp Ther* 255 (1990) 994-1000.
- [325] W. Schultz, P. Apicella, T. Ljungberg, R. Romo and E. Scarnati, Reward-related activity in the monkey striatum and substantia-nigra, *Chemical Signalling in the Basal Ganglia* 99 (1993) 227-235.
- [326] J.S. Schwartzbaum, W.A. Wilson, Jr. and J.R. Morrisette, The effects of amygdectomy on locomotor activity in monkeys, *J Comp Physiol Psychol* 54 (1961) 334-336.
- [327] R. Scicchitano, J. Biennenstock and A.M. Stanis, In vivo immunomodulation by the neuropeptide substance P, *Immunology* 63 (1988) 733-735.
- [328] R.E. See, P.J. Kruzich and J.W. Grimm, Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behavior, *Psychopharmacology* 154 (2001) 301-310.
- [329] T. Segawa, Y. Nakata, H. Yajima and K. Kitagawa, Further observation on the lack of active uptake system for substance P in the central nervous system, *Jpn J Pharmacol* 27 (1977) 573-580.
- [330] S. Shibata, K. Yamashita, E. Yamamoto, T. Ozaki and S. Ueki, Effects of benzodiazepine and GABA antagonists on anticonflict effects of antianxiety drugs injected into the rat amygdala in a water-lick suppression test, *Psychopharmacology* 98 (1989) 38-44.
- [331] K. Shigematsu, J.M. Saavedra and M. Kurihara, Specific substance P binding sites in rat thymus and spleen: in vitro autoradiographic study, *Regul Pept* 16 (1986) 147-156.
- [332] K. Shimosato and S. Ohkuma, Simultaneous monitoring of conditioned place preference and locomotor sensitization following repeated administration of cocaine and methamphetamine, *Pharmacol Biochem Behav* 66 (2000) 285-292.
- [333] Y. Shirayama, H. Mitsushio, M. Takashima, H. Ichikawa and K. Takahashi, Reduction of substance P after chronic antidepressants treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat, *Brain Res* 739 (1996) 70-78.
- [334] C.W. Shults, R. Quirion, B. Chronwall, T.N. Chase and T.L. O'Donohue, A comparison of the anatomical distribution of substance P and substance P receptors in the rat central nervous system, *Peptides* 5 (1984) 1097-1128.
- [335] K.S. Sims and R.S. Williams, The human amygdaloid complex: a cytologic and histochemical atlas using Nissl, myelin, acetylcholinesterase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase staining, *Neuroscience* 36 (1990) 449-472.
- [336] R.A. Skidgel, S. Engelbrecht, A.R. Johnson and E.G. Erdos, Hydrolysis of substance p and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase, *Peptides* 5 (1984) 769-776.
- [337] R.M. Snider, J.W. Constantine, J.A. Lowe, 3rd, K.P. Longo, W.S. Lebel, H.A. Woody, S.E. Drozda, M.C. Desai, F.J. Vinick, R.W. Spencer and et al., A potent nonpeptide antagonist of the substance P (NK1) receptor, *Science* 251 (1991) 435-437.
- [338] D.G. Spencer, Jr., E. Horvath and J. Traber, Direct autoradiographic determination of M1 and M2 muscarinic acetylcholine receptor distribution in the rat brain: relation to cholinergic nuclei and projections, *Brain Res* 380 (1986) 59-68.
- [339] W. Spooren, C. Riemer and H. Meltzer, Opinion: NK3 receptor antagonists: the next generation of antipsychotics?, *Nat Rev Drug Discov* 4 (2005) 967-975.
- [340] P.R. Stanfield, Y. Nakajima and K. Yamaguchi, Substance P raises neuronal membrane excitability by reducing inward rectification, *Nature* 315 (1985) 498-501.
- [341] U. Stäubli and J.P. Huston, Central action of substance P: possible role in reward., *Behav Neural Biol* 43 (1985) 100-108.
- [342] U. Stäubli and J.P. Huston, Facilitation of learning by post-trial injection of substance P into the medial septal nucleus, *Behav Brain Res* 1 (1980) 245-255.
- [343] L.W. Swanson and G.D. Petrovich, What is the amygdala?, *Trends Neurosci* 21 (1998) 323-331.



- [344] A.H. Swiergiel, L.K. Takahashi and N.H. Kalin, Attenuation of stress-induced behavior by antagonism of corticotropin-releasing factor receptors in the central amygdala in the rat, *Brain Res* 623 (1993) 229-234.
- [345] I. Szabó, J. Sarkisian, L. Lénárd and L. Németh, Pallidal stimulation in rat: facilitation of stimulus-bound chewing by pallidal stimulation., *Physiol. Behav.* 18 (1977) 361-368.
- [346] Z. Szelényi, M. Székely and M. Balaskó, Role of substance P (SP) in the mediation of endotoxin (LPS) fever in rats, *Ann N Y Acad Sci* 813 (1997) 316-323.
- [347] J. Szolcsányi and L. Barthó, Impaired defense mechanism to peptic ulcer in the capsaicin desensitized rat., *Gastrointestinal Defense Mechanisms*. Mózsik, G., Hanninen, O., Jávör, T. (eds), Oxford: Pergamon (1981) 39-51.
- [348] K. Tatemoto, J.M. Lundberg, H. Jornvall and V. Mutt, Neuropeptide-K - isolation, structure and biological-activities of a novel brain tachykinin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128 (1985) 947-953.
- [349] R.M. Teixeira, A.R. Santos, S.J. Ribeiro, J.B. Calixto, G.A. Rae and T.C. De Lima, Effects of central administration of tachykinin receptor agonists and antagonists on plus-maze behavior in mice, *Eur J Pharmacol* 311 (1996) 7-14.
- [350] R. Thompson, R.B. Gibbs, G.A. Ristic, C.W. Cotman and J. Yu, Lack of correlation between cortical levels of choline acetyltransferase and learning scores in rats with globus pallidus lesions, *Brain Res* 367 (1986) 402-404.
- [351] P.A. Tooney, V.C. Crawford and L.A. Chahl, Increased tachykinin NK(1) receptor immunoreactivity in the prefrontal cortex in schizophrenia, *Biol Psychiatry* 49 (2001) 523-527.
- [352] M. Toru, S. Watanabe, H. Shibuya, T. Nishikawa, K. Noda, H. Mitsushio, H. Ichikawa, A. Kurumaji, M. Takashima, N. Mataga and et al., Neurotransmitters, receptors and neuropeptides in post-mortem brains of chronic schizophrenic patients, *Acta Psychiatr Scand* 78 (1988) 121-137.
- [353] K. Tóth, K. László, É.E. Bagi, E. Lukács and L. Lénárd, Effects of intraamygdaloid microinjections of acylated-ghrelin on liquid food intake of rats, *Brain Res Bull* 77 (2008) 105-111.
- [354] 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.
- [355] D. Treit and J. Menard, Dissociations among the anxiolytic effects of septal, hippocampal, and amygdaloid lesions, *Behav Neurosci* 111 (1997) 653-658.
- [356] 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.
- [357] M. Ukai, N. Shinkai, K. Ohashi and T. Kameyama, Substance P markedly ameliorates scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation performance in the mouse, *Brain Res* 673 (1995) 335-338.
- [358] T. Unger, S. Carolus, G. Demmert, D. Ganten, R.E. Lang, C. Maser-Gluth, H. Steinberg and R. Veelken, Substance P induces a cardiovascular defense reaction in the rat: pharmacological characterization, *Circ Res* 63 (1988) 812-820.
- [359] H. Ursin and B.R. Kaada, Functional localization within the amygdaloid complex in the cat., *Electroenc Clin Neurophysiol* 12 (1960) 1-20.
- [360] L.L. Vacca, J. Hobbs, S. Abrahams and E. Naftchi, Ultrastructural localization of substance P immunoreactivity in the ventral horn of the rat spinal cord, *Histochemistry* 76 (1982) 33-49.
- [361] J.L. Vaught and R. Scott, Species differences in the behavioral toxicity produced by intrathecal substance P antagonists: relationship to analgesia, *Life Sci* 40 (1987) 175-181.
- [362] J.G. Veening, Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: An HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 191-195.
- [363] J.G. Veening, Subcortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 197-202.
- [364] J. Vigh, L. Lénárd, É. Fekete and I. Hernádi, Bombesin injection into the central amygdala influences feeding behavior in the rat, *Peptides* 20 (1999) 437-444.
- [365] U.S. von Euler and J.H. Gaddum, An unidentified depressor substance in certain tissue extracts., *J. Physiol.-London* 72 (1931) 74-84.
- [366] 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.

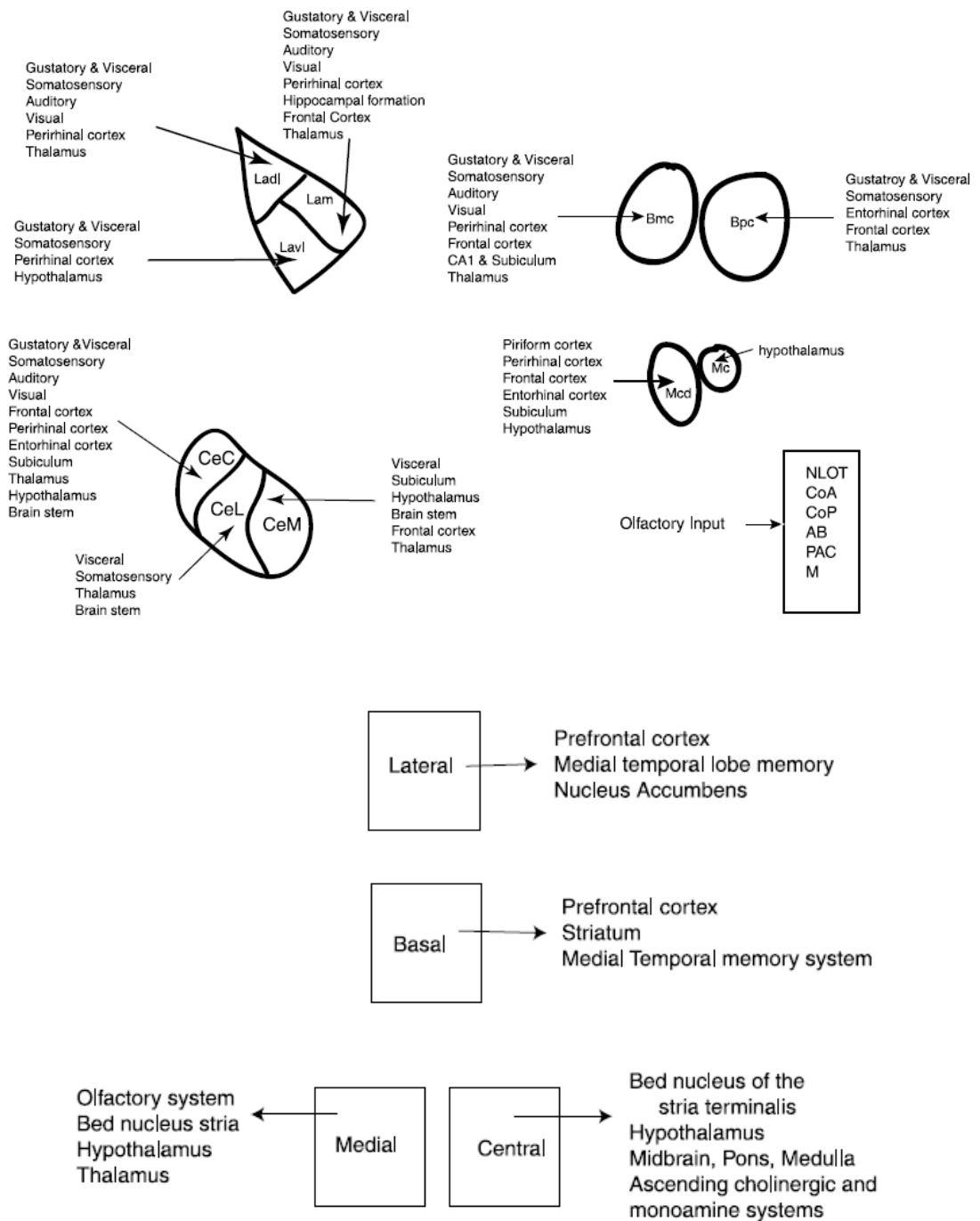
- [367] L.H. Wang, S. Ahmad, I.F. Benter, A. Chow, S. Mizutani and P.E. Ward, Differential Processing of Substance-P and Neurokinin-a by Plasma Dipeptidyl(Amino)Peptidase-Iv, Aminopeptidase-M and Angiotensin Converting Enzyme, *Peptides* 12 (1991) 1357-1364.
- [368] P. Ward, G.B. Ewan, C.C. Jordan, S.J. Ireland, R.M. Hagan and J.R. Brown, Potent and highly selective neurokinin antagonists, *J Med Chem* 33 (1990) 1848-1851.
- [369] J. Wharton, J.M. Polak, L. Probert, J. De Mey, G.P. McGregor, M.G. Bryant and S.R. Bloom, Peptide containing nerves in the ureter of the guinea-pig and cat, *Neuroscience* 6 (1981) 969-982.
- [370] R.B. Whitelaw, A. Markou, T.W. Robbins and B.J. Everitt, Excitotoxic lesions of the basolateral amygdala impair the acquisition of cocaine-seeking behaviour under a second-order schedule of reinforcement, *Psychopharmacology* 127 (1996) 213-224.
- [371] 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.
- [372] N.J. Woolf and L.L. Butcher, Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain, *Brain Res Bull* 16 (1986) 603-637.
- [373] 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.
- [374] C.I. Wright, A.V.J. Beijer and H.J. Groenewegen, Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized, *J. Neurosci.* 16 (1996) 1877-1893.
- [375] D.E. Wright, K.B. Seroogy, K.H. Lundgren, B.M. Davis and L. Jennes, Comparative localization of serotonin, (1a), (1c) and (2) receptor subtype messenger-RNAs in rat-brain, *J. Comp. Neurol.* 351 (1995) 357-373.
- [376] R.H. Wurtz and J. Olds, Amygdaloid stimulation and operant reinforcement in the rat, *J Comp Physiol Psychol* 56 (1963) 941-949.
- [377] E.J. Wyers, S.A. Deadwyler, N. Hirasuna and D. Montgomery, Passive avoidance retention and caudate stimulation, *Physiol Behav* 11 (1973) 809-819.
- [378] L. Xin, E.B. Geller, L.Y. Liu-Chen, C. Chen and M.W. Adler, Substance P release in the rat periaqueductal gray and preoptic anterior hypothalamus after noxious cold stimulation: effect of selective mu and kappa opioid agonists, *J Pharmacol Exp Ther* 282 (1997) 1055-1063.
- [379] 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.
- [380] M. Yamano, C.J. Hillyard, S. Girgis, I. MacIntyre, P.C. Emson and M. Tohyama, Presence of a substance P-like immunoreactive neurone system from the parabrachial area to the central amygdaloid nucleus of the rat with reference to coexistence with calcitonin gene-related peptide, *Brain Res* 451 (1988) 179-188.
- [381] B.A. Yankner, L.K. Duffy and D.A. Kirschner, Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid beta protein: reversal by tachykinin neuropeptides, *Science* 250 (1990) 279-282.
- [382] J.S. Yeomans, O. Kofman and V. McFarlane, Cholinergic involvement in lateral hypothalamic rewarding brain stimulation, *Brain Res* 329 (1985) 19-26.
- [383] W.S. Young, 3rd and M.J. Kuhar, Radiohistochemical localization of benzodiazepine receptors in rat brain, *J Pharmacol Exp Ther* 212 (1980) 337-346.
- [384] H. Zangrossi and F.G. Graeff, Behavioral effects of intraamygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 27 (1994) 2453-2456.
- [385] M.R. Zarrindast, A. Rezayof, 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.
- [386] M. Zech and B. Bogerts, Methionine-enkephalin and substance P in the basal ganglia of normals, Parkinson patients, Huntington patients, and schizophrenics. A qualitative immunohistochemical study, *Acta Neuropathol* 68 (1985) 32-38.
- [387] G. Zernig, J. Troger and A. Saria, Different behavioral profiles of the non-peptide substance P (NK1) antagonists CP-96,345 and RP 67580 in Swiss albino mice in the black-and-white box, *Neurosci Lett* 151 (1993) 64-66.
- [388] Z. Zhao, Y. Yang, D.L. Walker and M. Davis, Effects of substance P in the amygdala, ventromedial hypothalamus, and periaqueductal gray on fear-potentiated startle, *Neuropsychopharmacology* 34 (2009) 331-340.

**10. FÜGGELÉK**  
**A) TÁBLÁK**



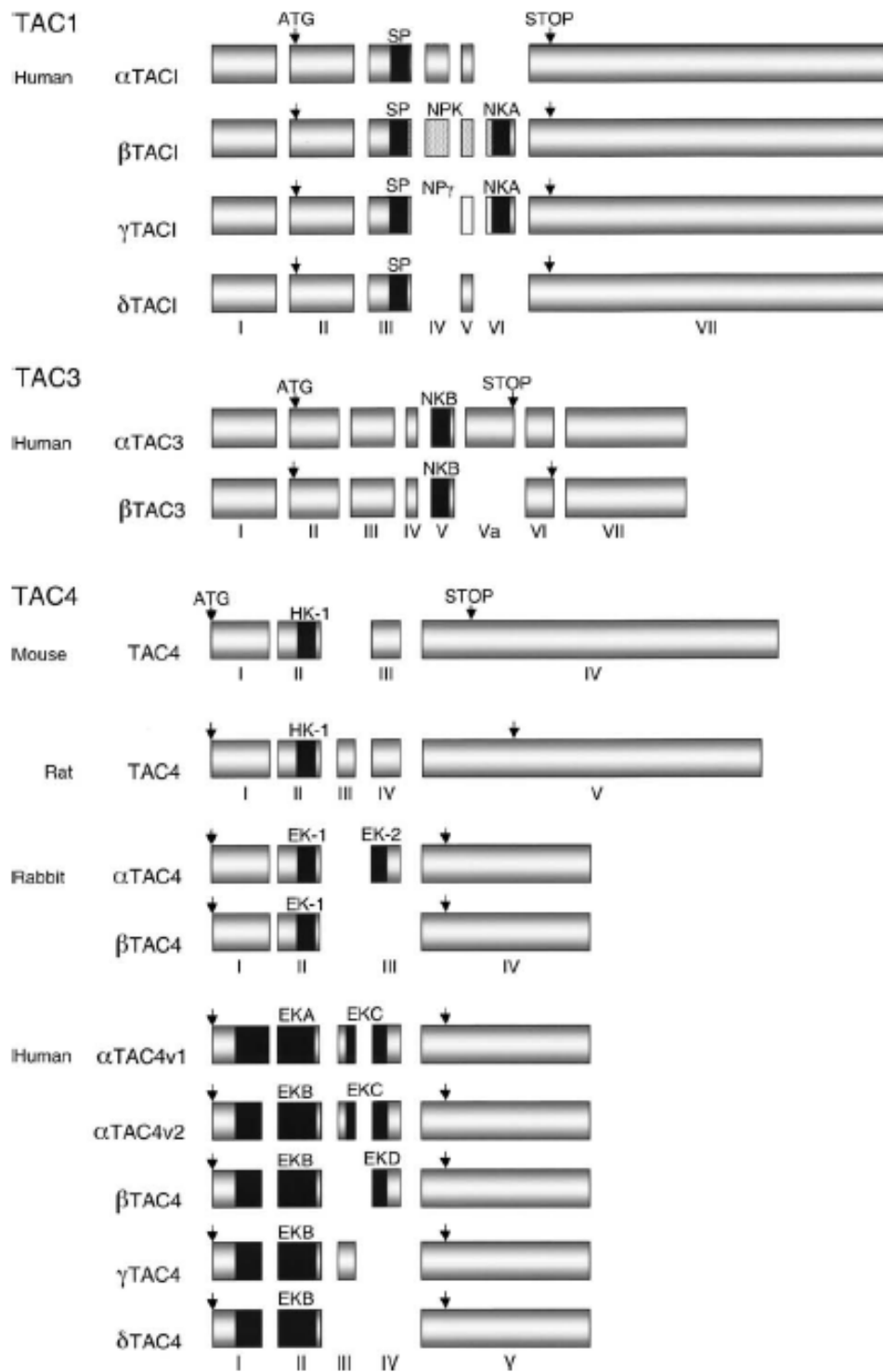
**I. TÁBLA**

A basalis ganglionok kapcsolatainak sematikus ábrája. (C.R. Gerfen, 2004)



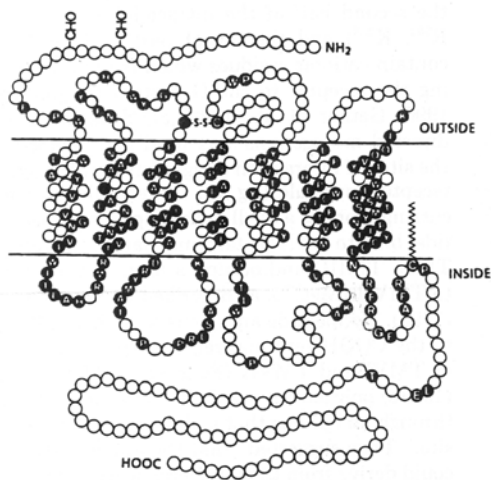
**II. TÁBLA**

Az amygdala magjainak afferens és efferens összeköttetései. (Sah et al. 2003)

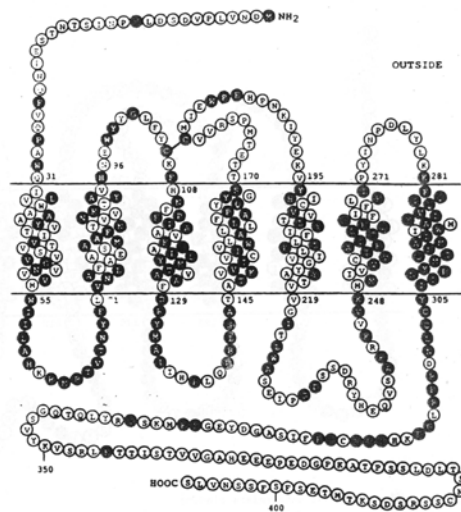


### III. TÁBLA

A tachykininek prekursor génjei és a belőlük keletkező peptidek. (Page et al, 2005)



Rat NK-1 receptor



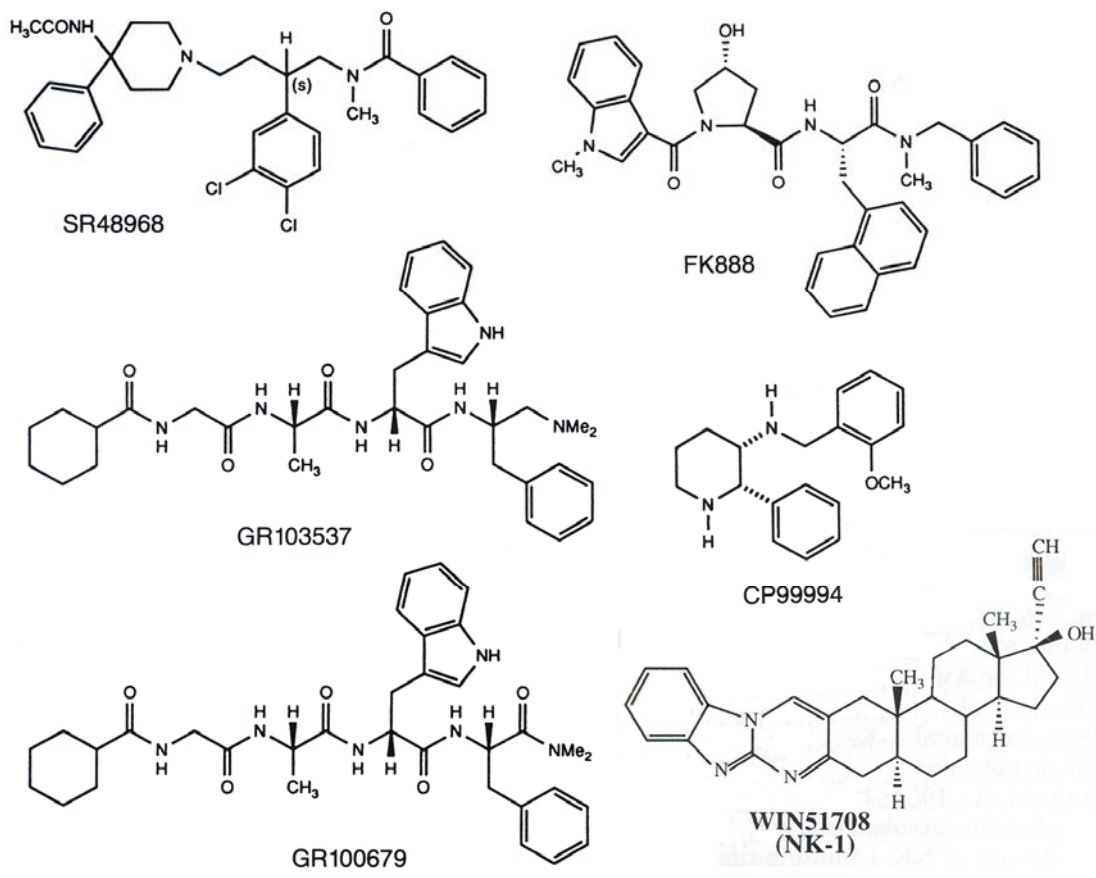
Human NK-1 receptor

● conserved (between NK1, NK2, NK3)  
○ divergent

CHO, potential N-glycosylation sites; zigzag line, possible palmitoylation site

#### IV. TÁBLA.

Ember és patkány NK1 receptor szerkezete. A fekete körök az NK receptorok közötti konzervált helyzetű aminosavakat jelölik. (Khawaja et al. 1996)



V. TÁBLA  
NK1 receptor antagonisták szerkezete.



## 10. FÜGGELÉK

### B) PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

#### I. A disszertáció alapjául szolgáló publikációk

Lénárd, L. and E. Kertes: Influence of passive avoidance learning by Substance P in the basolateral amygdala. *Acta Biol Hung* 53(1-2): 95-104, 2002. [IF: 0.416]

Kertes, E., K. László, B. Berta and L. Lénárd: Effects of substance P microinjections into the globus pallidus and central nucleus of amygdala on passive avoidance learning in rats. *Behav Brain Res* 198: 397-403, 2009. [IF: 3.171]

Kertes, E., K. László, B. Berta and L. Lénárd: Positive reinforcing effects of substance P in the rat central nucleus of amygdala. *Behav Brain Res* 205:307-310, 2009. [IF: 3.171]

#### II. Egyéb publikációk

Reglődi, D., A. Tamás, A. Somogyvári-Vígh, Z. Szántó, E. Kertes, L. Lénárd, A. Arimura, L. Lengvári: Effects of pretreatment with PACAP on the infarct size and functional outcome in the rat permanent focal cerebral ischemia. *Peptides*, 23(12): 2227-2234, 2002. [IF: 2.635]

Shugaljev, N.P., G. Hartmann, E. Kertes: Pozlegyejsztviye mikroinyeckij nyejrotenzina v csornyiju szubsztanciju mozga na uszlovnije drigatyelnije reakcij krisz v povrezsdenyijem szerotonyinyergicseszkih nyejronov. *Zs Vüszs Nyerv Gyejatj* 53(6): 802-807, 2003. [IF: 0.351]

Shugaljev, N.P., G. Hartmann, E. Kertes: Aftereffects of microinjections of neurotensin into the substantia nigra of the brain on conditioned motor responses in rats with lesions to serotonergic neurons. *Neurosci and Behav Physiol* 35(2): 147-152, 2005.

#### III. Konferenciaszereplések

Kertes, E., L. Lénárd and G. Nagyházi: The role of Substance P in passive avoidance learning and positive reinforcement. Abstracts of the 5<sup>th</sup> MITT Congress, Debrecen (Hungary), Neurobiology, 6(2): p.: 212-213, 1998.

Lénárd, L., E. Kertes, G. Nagyházi and Z. Petykó: Enhancement of positive and negative reinforcement by Substance P. Abstracts of IBNS, Richmond, USA, 7: p.: 31, 1998.

Kertes, E., L. Lénárd and G. Nagyházi: The role of Substance P in positive and negative reinforcement. Abstracts of the 5<sup>th</sup> Alps-Adria Conference, Pécs, Hungary, p.: 48, 1999.

Kertes, E., L. Lénárd, G. Nagyházi and P. Sándor: Az amygdalába és a globus pallidusba injektált Substance P magatartási hatásai patkányon. MÉT LXIV. Vándorgyűlése, Budapest, Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók, p.: 74, 1999.

Bagi, É.E., É. Fekete, E. Kertes and L. Lénárd: Intraamygdalar microinjections of angiotensins modulate drinking behavior and memory functions in rats. Abstracts of the 8<sup>th</sup> MITT Congress, Szeged, Hungary, Neurobiology, 9(3-4): p.: 158 2001.

Kertes, E., L. Lénárd: Az amygdala centrális magjába injektált substance P magatartási hatásai helypreferencia és elevated plus maze tesztben. A MÉT LXVI. Vándorgyűlése, Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók, Szeged, p.: 75, 2001.

Kertes, E. and L. Lénárd: The effects of substance P injected into the rat amygdala in the elevated plus maze and in Morris water maze tests. Abstracts of the 8<sup>th</sup> MITT Congress, Szeged, Hungary, Neurobiology, 9(3-4): p.: 208, 2001.

Lénárd, L., É. E. Bagi, E. Kertes and É. Fekete: Angiotensin microinjections into the amygdaloid body influence drinking and memory functions. Abstract of the XXXIV International Congress of Physiological Sciences, Otago, New Zealand, p.: 1482, 2001.

Kertes, E. and L. Lénárd: Influence of positive and negative reinforcement by substance P in the basolateral and central amygdala. Abstracts of the 4th International Congress of Pathophysiology, Budapest, Hungary, Acta Physiol. Hung. 89(1-3): p.: 250, 2002.

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

Kertes E., László K., Lénárd L.: 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.

Kertes, E., László K., Lénárd L.: A globus pallidusba és az amygdalába injektált substance P pozitív és negatív megerősítő, valamint anxiolitikus hatásai patkányon. A MÉT LXVII. Vándorgyűlése, Pécs, Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók, P49, p.: 98, 2003.

Lénárd, L., Kertes, E., László, K.: Effects of substance P and NK1 receptor antagonist WIN 62.577 in amygdaloid learning mechanisms. Abstracts of the International Behavioral Neuroscience Society, Barcelona, Spain, 12: p.: 58, 2003.

Oláh-Várady, K., E. Kertes, B. Berta, L. Lénárd: The role of dopaminergic elements of ventral pallidum in learning and memory. Clinical Neurosci., 56(2): p.: 64, 2003.

Oláhné Várady K., Kertes E., Berta B., Lénárd L.: A ventrális pallidum D1 és D2 receptorainak szerepe a tanulásban és memóriában. A MÉT LXVII. Vándorgyűlése, Pécs, Előadáskivonatok és poszterösszefoglalók, P48, p.: 180, 2003.

Tamás, A., D. Reglödi, Z. Szántó, E. Kertes, L. Lénárd, I. Lengvári: Effects of pretreatment with PACAP on the infarct size and functional outcome in rat permanent focal cerebral ischemia. Clinical Neurosci., 56(2): p.: 89, 2003.

László, K., E. Kertes, K. Várady, Sz. Tálos, P. Inkő, L. Lénárd: Positive reinforcement effect of Neurotensin injected into the central nucleus of amygdala. 10th Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, 2006.

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

László, K., E. Kertes, K. Tóth, O.K. Várady, Sz. Tálos, L. Lénárd: Neurotenzin és neurotenzin-1 receptor antagonist (SR 48692) szerepe a pozitív megerősítő hatásban. A MÉT LXX. Vándorgyűlése, Szeged, E9, p.: 68, 2006.

Oláhné, V.K., E. Kertes, K. László, L. Péczely, B. Berta, L. Lénárd: Ventral pallidal learning mechanisms: The role of D1 receptors. 10th Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, 2006.

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

László, K., 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.

László, K., K. Tóth, Bárdosi R, O.K. Várady, E. Kertes, L. Lénárd: Neurotenzin hatásának vizsgálata morris-féle úsztatási tesztben és passzív elhárító szituációban. A MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, p.: 116, 2007.

László, K., K. Tóth, E. Kertes, K. Oláh-Várady R. Bárdosi, L. Lénárd: Effects of intraamygdaloid Neurotensin on spatial learning and passive avoidance. Meeting of European Brain and Behaviour Society, September 15-19, Trieste, Italy. 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 Physiol Hung 94 (4): p.: 382-382 2007

Oláhné Várady K., L. Péczely, K. László, E. Kertes, B. Berta, L. Lénárd: A ventrális palludimba injektált D1 receptor antagonista megszünteti a D1 receptor agonista tanulást fokozó hatását. A MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, P53, p.: 219, 2007.

László, K., 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. IBRO Workshop, Debrecen, 2008.

László, K., R. Bárdosi, L. Péczely, Á. Molnár, Sz. Sánta, K. Oláh-Várady, E. Kertes, K. Tóth, L. Lénárd: Neurotenzin-dopamin interakciók jelentősége a megerősítés folyamataiban. A MÉT LXXII. Vándorgyűlése, Debrecen, p.: 86, 2008.

László, K., R. Bárdosi, Á. Molnár, S. Sánta, K. Tóth, E. Kertes, K. Oláh-Várady, L. Lénárd: Effects of neurotensin and D2 dopamine receptor antagonist in amygdaloid reinforcing mechanisms. FENS Abstract, Vol: 4, 093.5, p.: 275, 2008.

Berta B., E. Kertes, L. Lénárd: Alterations of taste reactivity after neurotoxic lesions in the prefrontal cortex. 12<sup>th</sup> Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, January, Budapest, Hungary, 2009. (doi:10.3389/conf.neuro.01.2009.04.086)

László, K., Á. Molnár, K. Tóth, L. Péczely, E. Kertes, L. Lénárd: 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)

László, K., R. Bárdosi, L. Péczely, Á. Molnár, S. Sánta, K. Oláh-Várady, E. Kertes, K. Tóth, L. Lénárd: The role of neurotensin and interaction in positive reinforcement. A MÉT LXXII. Vándorgyűlése, Debrecen, p.: 86, 2008. Acta Physiologica Hungarica, 96(1): 96-97, 2009.

Kertes, E., K. László, B. Berta and L. Lénárd: 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)