

## **Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola**

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

**Doktori (PhD) Értekezés Tézisei**

**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**



## 1. BEVEZETÉS

Jelen dolgozat tárgya egy neuropeptid, a substance P magatartási hatásainak vizsgálata két agyterületen, a globus pallidusban és az amygdala-ban. Az állatok (és emberek) magatartásán általában azon változások összességét értjük, amelyek az egyed mozgásmintázatában és belső állapotában megjelennek, a dolgozatban azonban elsősorban a jutalmazásos illetve büntető szituációban történő tanulásra, és memóriára fókuszálunk. 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 a tanulásra, emlékezésre és gondolkodásra való képesség valamilyen mértékű hanyatlásában, így ez gyakori és súlyos probléma.

A globus pallidus (GP) régóta munkacsoportunk vizsgálatának tárgya. Mára kiderült, hogy e struktúra nem csak az extrapyramidalis motoros rendszer fontos része, hanem szerepe lehet percepció, motiváció, tanulási és memóriefolyamatok szabályozásában is [28,30,45]. A GP elektrolitikus vagy excitotoxikus lézióját követően tanulási nehézséget írtak le számos paradigmában, többek között aktív és passzív elhárító szituációban, Morris-féle úsztatási tesztben, radiális labirintusban, vagy vizuális és nem-vizuális diszkriminációs tanulási paradigmában [13,14,28,34]. Számos állatkísérletes irodalmi adat támasztja alá a GP szerepét a jutalmazásos tanulásban is, emberben pedig szelektív kétoldali lézióját követően a motoros szimptomák mellett anhedoniát, depressziót, és a korábban fennállt drog-függőség megszűnését írták le [29,33,36]. Számos vizsgálat igazolta, hogy a GP ventralis-medialis és dorsalis-lateralis része morfológiailag és funkcionálisan is eltérő. A ventromedialis GP-t átmeneti területnek tekintik a dorsalis, motoros pallidum és a ventralis, limbikus pallidum között [16,35,37].

A tanulási- és memóriefolyamatok szabályozásában többek között az amygdala (AMY) jelentőségét emeli ki az irodalom. Az AMY a limbikus rendszer részeként fontos szerepet játszik továbbá a motivációs és emocionális folyamatokban, valamint jelentős a *szorongással* kapcsolatos viselkedés szabályozásában [7,17,18]. Diszfunkciója feltehetően hozzájárul a generalizált szorongásos megbetegedés kialakulásához [17]. Az AMY részt vesz továbbá a tanulási-, és memóriefolyamatok szabályozásában, a munkamemória vagy epizodikus *memória* egyik fontos struktúrája [40]. Az AMY számos, a memóriát befolyásoló rendszerre hatással van, valószínűleg ezek működésének

módosításával modulálja a más agyterületeken való emléknym-raktározást [15,31]. Az AMY jelentős továbbá a *pozitív megerősítés* és jutalmazás folyamatainak szabályozásában is [53]. Számos adat támasztja alá e struktúra szerepét a természetes jutalmak és az addiktív drogok hatásainak közvetítésében [1,26,38]. Az AMY funkcionálisan, és struktúráját tekintve is heterogén, számos adat utal a centrális (ACE) és a basolateralis (ABL) magok eltérő szerepére a fent említett folyamatokban [2,15,18,38,44,52].

A tanulási- és memóriefolyamatok szabályozásában főként az acetylcholinerg (ACh), és dopaminerg (DA) rendszereknek tulajdonítottak szerepet, napjainkra azonban egyre fontosabbá vált egyes neuropeptidok, közöttük a substance P (SP) moduláló hatásának vizsgálata is. Az SP a *tachykininek* családjába tartozó, nem-emplős fajokban és emlősökben is azonosított, tizenegy aminosavból álló neuropeptid [9]. Három típusú receptorát találták meg perifériás szövetekben és az idegrendszerben is, a neurokinin (NK)1, NK2 és NK3 receptorokat [10]. Az SP legnagyobb affinitással az NK1 receptorhoz kötődik, azonban mindhárom receptorhoz képes kötni és azon keresztül hatást kifejteni [10,41]. Az SP számos magatartási folyamatot befolyásol, igazolták hatását a *tanulásra* többek között passzív és aktív elhárító szituációban, mind perifériás, mind centrális beadást követően [22,27]. *Pozitív megerősítő* hatását leírták helypreferencia tesztben perifériás injekcióját követően, valamint a lateralis hypothalamusba, a medialis septumba, illetve a ventralis pallidumba injektálva [20,23,25,47]. Az SP-nek szerepe van továbbá a félelemmel, *szorongással* kapcsolatos magatartás szabályozásában. Mind szorongás-fokozó, mind szorongásoldó hatását leírták, a beadás helyétől és az alkalmazott dózistól függően [12,24,48]. Az SP hatásai, a többi peptidhez hasonlóan, fordított U-alakú dózis-hatás összefüggést mutattak [20,48]. Az SP számos neurotransmitter-rendszerrel kapcsolatban áll, modulálja felszabadulásukat, illetve hatásukat különböző agyterületeken [5,6,11,21,49]. Több betegség kapcsán igazolták az SP-tartalom változását bizonyos agyterületeken, így feltehetően szerepe van egyes neurodegeneratív betegségek kialakulásában [3,4,8,54]. Az SP és receptorai a központi idegrendszerben kiterjedten előfordulnak, közöttük a GP, ACE és ABL területén is kimutathatóak [19,42,43]. Az SP hatása azonban az említett magatartási folyamatokra a GP és az AMY területén nem ismert.

*A fenti adatok alapján kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy az SP hogyan befolyásolja a tanulási- és memória-folyamatokat ezen agyterületeken. Szelektív NK1 receptor antagonistá alkalmazásával próbáltuk igazolni e receptorok szerepét az SP hatásainak közvetítésében.*

## **2. CÉLKITŰZÉSEK**

1. Kimutatták az SP pozitív megerősítő hatását több agyterületen. A GP ventralis-medialis területének a mozgás-szabályozás mellett szerepe van a jutalmazásos tanulásban. 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 adott anyag szorongás-keltő, -fokozó hatásával. Az SP-nek mind szorongás-fokozó, mind szorongásoldó hatását kimutatták, eltérő agyterületekre adva, különböző dózisban. Ezért Emelt keresztpalló tesztben megvizsgáltuk, hogy a fenti struktúrákba injektált SP-nek van-e hatása az állatok szorongására.
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. Mind a GP-ben, mind az ACE-ban és az ABL-ben NK1 receptorok közepes-nagy denzitásban előfordulnak. Ezért NK1 receptor antagonistá előkezeléssel próbáltuk igazolni e receptorok szerepét az SP jutalmazó - pozitív megerősítő, anxiolitikus vagy anxiogén, valamint tanulást módosító hatásának közvetítésében.

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. Kísérleti állatok

Vizsgálatainkhoz összesen 570 db, 280-320 g testtömegű, hím Wistar patkányt használtunk. Az állatokat az állatházban külön ketrecekben helyeztük el, ahol 12-12 óra világos-sötét periódus váltotta egymást. A klimatizált hőmérséklet  $22 \pm 2$  °C, a páratartalom  $55 \pm 10$  % volt. 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

Sztereotaxikus műtétek során bilaterálisan 22 gauge (0,644 mm) külső átmérőjű rozsdamentes acél vezetőkanülöket ültettünk be a GP ventralis részéhez, az ACE-hoz, és az ABL-hez, a kanülök vége 1 mm-rel a célterület fölött volt. A koordináták Paxinos és Watson sztereotaxikus atlasza [39] szerint a következők voltak : GP: AP: -1,4 mm, ML:  $\pm 3,4$  mm, DV: -6,4 mm; ACE: AP: -2,3 mm, ML:  $\pm 4,1$  mm, DV: -6,5 mm; ABL: AP: -2,8 mm, ML:  $\pm 5,0$  mm, DV: -6,6 mm.

#### 3.3. Anyagok

Kísérleteink során az SP (S 6883, Sigma-Aldrich Co.) 10 ng-os és 100 ng-os (7,42 és 74,2 pmol) dózisát injektáltuk bilaterálisan, 0,4  $\mu$ l térfogatban. A peptidet 0,01 M Na-acetátot és 0,01 M foszfát puffert tartalmazó fiziológiás NaCl oldatban oldottuk fel (pH 7,4). A kontroll állatok ezt a vivőanyagot kapták (*Veh1*), az SP injekciókkal azonos térfogatban. Az NK1 receptor antagonistá W-103 (WIN51,708 (W-103, Sigma-Aldrich Co.) 5 ng (11,4 pmol) dózisát használtuk szintén 0,4  $\mu$ l-ben. Az antagonistát 0,3 % dimetil-szulfoxidot és 0,01 M 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 WIN51,708 antagonistával és az SP vivőanyagával kezelt csoport (antagonista + *Veh1*), ANT+SP: 5 ng NK1 receptor antagonistával előkezelt 10 ng SP-t kapott csoport (antagonista + SP), SP: az antagonista vivőanyagát és 10 ng SP-t kapott csoport (*Veh2* + SP), Kontroll: csak vehiculum injekciót kapott csoport (*Veh2* + *Veh1*). Az antagonista vagy *Veh2* beadása mindig 15 perccel az SP vagy *Veh1* injekciók előtt történt.

### **3.4. Magatartási tesztek**

A kísérleteket hangszigetelt kísérleti szobában végeztük. Az állatok viselkedését jellemző paramétereket az 'EthoVision Basic' számítógépes program segítségével mértük (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, Hollandia).

#### **3.4.1. Helypreferencia teszt**

Kísérleteink során a Huston és munkacsoportja által kidolgozott, úgynevezett „corral” (karám) -metódust alkalmaztuk [20]. A Habituáció során a patkányok 10 percig (600 s) szabadon mozoghattak az egész dobozban. Ekkor mértük az egyes kvadránsokban töltött időt. Ezután két egymást követő napon történt a Kondicionálás. Ezek során azt a kvadránst választottuk ki a társításra, amelyben az állat a Habituéció során nem a legtöbb, de nem is a legkevesebb időt töltötte (*Kezelő kvadráns*). Az állatokat, a bilaterális mikroinjekciókat követően azonnal, 15 percre (900 s) a Kezelő kvadránsba zártuk, egy plexi térelválasztó lap segítségével. A Teszt során a plexi térelválasztó lapot eltávolítottuk, majd a patkányok - anyagbeadás nélkül - 10 percig (600 s) újra szabadon mozoghattak az egész dobozban. Ekkor megint mértük az egyes kvadránsokban töltött időt. A helypreferencia kiépülésének kritériuma volt, hogy egy patkány legalább 25 %-kal több időt töltsön a Kezelő kvadránsban a Teszt során, mint a Habituéció során.

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

Az állatokat 5 perccel a bilaterális injekciót követően az apparátus közepére helyeztük, majd 5 percig (300 s) figyeltük az állatok mozgását. Mértük a Zárt karon, a Nyitott karon és a Nyitott kar végén töltött *időt*, az ott *megtett út* hosszát, valamint a *belépések számát*. 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. Minden állatot csak egyszer teszteltünk.

### **3.4.3. Passzív elhárító teszt**

A Passzív elhárító tanulási teszt Habitúáció, Kondicionálás és Teszt ülésekből állt, amelyek maximum 3 percig (180 s) tartottak. A Habitúáció során az állatokat a nagyobb, világos dobozba helyeztük, majd az állatok szabadon mozoghattak az egész apparátusban. A Kondicionálás során az állatokat újra a világos dobozba helyeztük és mértük azt az időt másodpercekben, amely alatt beléptek a sötét sokkoló dobozba (*Belépési latencia*). Miután az állatok beléptek a sötét dobozba, bezártuk oda azokat, majd ezt követően háromszor 1 s-ig tartó elektromos áramütést (sokkot) kaptak. Kétféle kísérletben különböző erősségű áramütést alkalmaztunk: gyenge sokk esetén 0,5 mA-t, erős sokk esetén 2,0 mA-t. A sokk után, a patkányokat a dobozból kivéve, bilaterálisan injektáltuk a különböző anyagokat (SP, antagonistá vagy vehiculum). A Tesztek során az állatokat újra a világos dobozba helyeztük, és szintén mértük a Belépési latenciát. Az állatok ekkor nem kaptak áramütést. A gyenge sokkal (0,5 mA) végzett kísérletekben a Teszteket a Kondicionálást követően 24 órával (Teszt1) és egy héttel (Teszt2) végeztük. Az erős sokkal (2,0 mA) végzett kísérletekben a Kondicionálást követően 24 órával (Teszt1), egy héttel (Teszt2) és két héttel (Teszt3) végeztünk Teszteket.



### **3.5. Az adatok kiértékelése**

#### **3.5.1. Szövettan**

A kísérletek befejezését követően az állatokat uretán narkózisban először fiziológias sóoldattal, majd 10 %-os formaldehiddel transzkardiálisan perfundáltuk. A kivett agykból fagyasztó mikrotommal 40 µm-es metszeteket készítettünk és Krezil-ibolyával festettük. Az injekciók helyét Paxinos és Watson sztereotaxikus atlaszának felhasználásával rekonstruáltuk. Kizártuk a statisztikai 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) vizsgáltuk, ezt követően 'post-hoc' Tukey tesztet végeztünk. 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.

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1. Globus pallidus**

#### **4.1.1. Helypreferencia teszt**

A GP-be adott SP-t pozitív megerősítő hatásúnak találtuk Helypreferencia tesztben. A 10 ng dózisú SP hatására szignifikánsan nőtt a Kezelő kvadránsban töltött idő, míg a 100 ng-os dózis nem befolyásolta az állatok viselkedését. Az SP e jutalmazó- pozitív megerősítő hatása a specifikus NK1 receptor antagonistá WIN51,708 előkezeléssel kivédhető volt, így azt feltehetően NK1 receptorok közvetítik.

#### **4.1.2. Emelt keresztpalló teszt**

A GP-be adott SP-t szorongásoldó hatásúnak találtuk. A 10 ng 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 általános aktivitását nem változtatta meg. A nagyobb dózisú (100 ng) SP hatására ugyanakkor nem változott az állatok viselkedése az Emelt keresztpalló teszt során. A kis dózisú SP anxiolitikus hatása WIN51,708

előkezeléssel kivédhető volt, így a hatás közvetítésében feltehetően NK1 receptorok játszanak szerepet.

#### **4.1.3. Passzív elhárító teszt**

A GP-be adott kis dózisú SP tanulást facilitáló hatásának bizonyult. Gyenge sokk alkalmazásakor a 10 ng SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, amely jelzi, hogy ezek az állatok jobban tanultak. A 100 ng dózisú SP nem volt hatással az állatok tanulására e paradigmában. A kis dózisú SP tanulást javító 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 (10 ng) szignifikánsan csökkentette a Belépési latenciát, ami azt jelzi, hogy a kis dózisú SP valamilyen módon interferál a hosszú távú memória kialakulásával, vagy megtartásával.

## **4.2. Amygdala centralis mag**

### **4.2.1. Helypreferencia teszt**

Az ACE-ba adott SP pozitív megerősítő hatásának bizonyult Helypreferencia tesztben. A kis dózisú (10 ng) SP hatására szignifikánsan nőtt a Kezelő kvadránsban töltött idő. A nagyobb (100 ng) dózisú SP hatására nem változott az állatok viselkedése a teszt során. A 10 ng SP e jutalmazó - pozitív megerősítő hatását feltehetően NK1 receptorok közvetítik, mivel azt a specifikus NK1 receptor antagonistá előkezelés kivédte.

### **4.2.2. Emelt keresztpalló teszt**

Az ACE-ba adott SP szorongásoldó hatásának bizonyult. E struktúrában mind a kis dózisú (10 ng), mind a nagyobb dózisú (100 ng) SP hatására szignifikánsan nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő. A kezelések ugyanakkor nem változtatták meg az állatok általános aktivitását. Az SP szorongásoldó hatását a specifikus NK1 receptor antagonistá előkezelés nem függesztette fel, csak gyengítette. A Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő, és az ott megtett út csökkent ugyan a WIN51,708-al történt előkezelés hatására, a különbség azonban nem volt szignifikáns. Az antagonistával történt előkezelés hatására azonban eltűnt a szignifikáns különbség a Kontrollokhoz képest. Ezen eredmények alapján az anxiolitikus hatás közvetítésében az

ACE-ban az NK1 receptorok csak részben játszanak szerepet, az ott kis számban előforduló NK3 receptoroknak is szerepük lehet abban.

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

Igazoltuk az ACE-ba adott SP tanulást facilitáló hatását. Gyenge sokk alkalmazásakor a kis dózisu (10 ng) SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, a 10 ng SP-vel kezelt csoport mind a nagy dózisu (100 ng) SP-vel kezelt, mind a Kontroll csoporthoz képest jobban tanult. Az SP tanulást javító hatása hosszabb távú volt, mint a GP esetében, egy héttel a Kondicionálás után is szignifikáns volt a különbség a csoportok között. Erős sokk alkalmazásakor az SP nem csökkentette a Belépési latenciát, ami szintén azt jelzi, hogy a kis dózisu SP az ACE-ban nem interferál a hosszú távú memóriával. Az SP tanulást serkentő hatását feltehetően NK1 receptorok közvetítik, mivel az a specifikus antagonistával előkezeléssel kivédhető volt.

### **4.3. Amygdala basolateralis mag**

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

Az ABL-be adott SP-t nem találtuk pozitív megerősítő hatásúnak Helypreferencia tesztben. A kis dózisu (10 ng) SP hatására nem változott a Kezelő kvadránsban töltött idő, a nagyobb (100 ng) dózisu SP hatására kissé csökkent ez az idő, a különbség azonban nem volt szignifikáns.

#### **4.3.2. Passzív elhárító teszt**

Az ABL-be adott SP szintén tanulást serkentő hatásúnak bizonyult e paradigmában. A kis (10 ng) dózisu SP hatására szignifikánsan nőtt a Belépési latencia, az SP e hatása azonban rövidtávú volt, egy héttel a Teszt után már nem volt szignifikáns a különbség a csoportok teljesítménye között. A nagyobb dózisu (100 ng) SP nem volt hatással az álatok tanulására a Passzív elhárító teszt során.

## 5. DISZKUSSZIÓ

1. A Helypreferencia tesztek során igazoltuk a kis dózisú SP jutalmazó - pozitív megerősítő hatását a GP-ben és az ACE-ban, míg az ABL-ben nem találtuk pozitív megerősítőnek. Az ACE-ban és GP-ben kapott eredményeink megfelelnek azon irodalmi adatoknak, amelyek más agyi struktúrákban az SP pozitív megerősítő hatását igazolták [20,25,47]. Összhangban vannak továbbá azon számos irodalmi adattal is, amelyek alátámasztják a GP, illetve az ACE szerepét a pozitív megerősítő - jutalmazó folyamatok szabályozásában [1,26,29,33,36,38]. Az ABL-ben az SP egyik dóziséval sem sikerült pozitív megerősítő hatást kimutatnunk. Ez alapján feltehető, hogy bár az ABL részt vesz a jutalmazó folyamatok szabályozásában, amint azt számos irodalmi adat igazolja [26,46], az SP-nek azonban ebben nincs szerepe. Az ACE-ban és ABL-ben kapott eltérő eredmények magyarázata lehet egyrészt a két struktúra különböző szerepe a pozitív megerősítő folyamatokban, másrészt az eltérő afferens és efferens kapcsolatrendszer, és/vagy különböző SP-erg beidegzés, valamint az eltérő NK1 és NK3 receptor denzitások [42-44,50,51].

2. Az Emelt keresztpalló tesztek eredményei alapján az SP szorongásoldó hatású az ACE-ban és a GP-ben. A kis dózisú SP hatására nőtt a Nyitott karon, valamint a Nyitott kar végén töltött idő és az ott megtett út, mindkét struktúra esetében. A két struktúrát illetően azonban különbség volt az anxiolitikus hatások között. Az ACE esetében ugyanis a nagyobb dózisú SP is anxiolitikus hatásúnak bizonyult, a GP-ben ezzel szemben a 100 ng dózisú SP-nek nem volt sem anxiolitikus, sem anxiogén hatása. Kísérleteink eredményei alapján elmondhatjuk tehát, hogy az SP nem volt anxiogén hatású sem a GP-ben, sem az ACE-ban, az állatok tehát nem azért tartózkodtak többet a korábban nem preferált helyen a Helypreferencia teszt során, mert szorongtak. Kevés adat támasztja alá a GP szerepét a szorongással kapcsolatos magatartás szabályozásában [32]. Az általunk tapasztalt anxiolitikus hatás a GP-ben tehát az első irodalmi adatok egyike erre vonatkozóan.

3. Passzív elhárító kísérleteink eredményei igazolták az SP tanulást elősegítő hatását mind a GP-ben, mind az ACE-ban és az ABL-ben, büntető szituációban is. A kis dózisú SP sokkot követő infúziója szignifikánsan fokozta a tanulást mindhárom struktúrában, míg a nagyobb dózis mindegyik esetben hatástalan volt. Eredményeink összhangban vannak számos irodalmi adattal, amelyek alátámasztják az SP, valamint a GP és az AMY e magjainak szerepét a tanulási- és memóriefolyamatok szabályozásában [13,14,22,27,31,40]. Az ACE és a GP azonban eltérő módon vesz részt e folyamatokban. Az SP a GP-be injektálva javította a tanulást gyenge sokkot követően, azonban valamilyen módon gátolta a hosszú-távú memóriába írást, vagy az emléknymok megtartását. E hatást az erős sokkal végzett kísérletekben is igazoltuk. Az ACE-ba adott SP elősegítette a tanulást, azonban nem rontotta az emléknymok megtartását, sem a gyenge sokkal, sem az erős sokkal végzett kísérletek során. Azon mechanizmusok tehát, amelyeken keresztül az SP kifejti a tanulásra és a memóriefolyamatokra gyakorolt pozitív hatását, különbözőek az ACE és a GP esetében. Annak eldöntésére, hogy az SP az ABL-ben is interferál-e a hosszú távú memória kialakulásával, szükséges lenne elvégezni a Passzív elhárító kísérletet erős sokkal ebben a struktúrában is.

Eredményeink alapján az SP pozitív megerősítő, anxiolitikus, valamint tanulást serkentő hatása dóziszfüggő, a peptidekre jellemző fordított U-alakú dózis-hatás összefüggést mutat, a GP, az ACE és az ABL esetében is. A peptidek e dózis-hatás görbéje jól ismert az irodalomban [20,48].

4. További kísérleteinkben igazoltuk, hogy az SP pozitív megerősítő hatásának közvetítésében mind az ACE-ban, mind a GP-ben NK1 receptorok játszanak szerepet. Az SP jutalmazó - pozitív megerősítő hatását a specifikus NK1 receptor antagonistával történt előkezelés ugyanis mindkét struktúrában felfüggesztette. A GP-ben az SP anxiolitikus hatását szintén NK1 receptorok közvetítik, míg az ACE-ban feltehetően az NK1 receptorok mellett NK3 receptorok is szerepet játszhatnak e hatás közvetítésében. Az ACE-ban ugyanis, szemben a GP-ben kapott eredményeinkkel, az NK1 receptor antagonisták csak gyengítette, de nem gátolta meg teljes mértékben az SP hatásának kialakulását. Az ACE esetében igazoltuk továbbá, hogy Passzív elhárító paradigmában az SP tanulást facilitáló hatásának közvetítésében NK1 receptorok játszanak szerepet, mivel specifikus NK1 receptor antagonistával az SP e hatása felfüggeszthető volt.

Az SP számos neurotranszmitter-rendszerrel kapcsolatban áll. Pozitív megerősítő hatásának kialakulásában valószínűleg a mezolimbikus DA rendszerrel való interakciója játszhat szerepet [6]. Nem zárható ki azonban, hogy az SP ACh-erg rendszerrel való kölcsönhatása fontos e jutalmazó mechanizmusban [5]. Az SP befolyásolta a szorongással kapcsolatos magatartást, ebben a szerotoninerg, opiáterg, és/vagy GABA-benzodiazepin rendszerekkel való interakcióinak szerepét feltételezhetjük irodalmi adatok alapján [11,21,49]. A büntető szituációban tapasztalt tanulást serkentő hatás létrejöttében szintén elsősorban az SP DA-erg és ACh-erg idegelemekkel való kapcsolata játszhat szerepet. E mechanizmusok pontosabb megismeréséhez azonban további kísérletek szükségesek.

Az SP szerepet játszhat egyes neurodegeneratív megbetegedések patomechanizmusában. Az SP immunreaktivitás változását mutatták ki a GP-ben Parkinson-kóros és Huntington-kóros, továbbá schizophren betegekben [4,54], így feltehetően a GP SP-erg beidegzésének változása hozzájárul e betegségek kialakulásához. Az AMY-ban kimutatták az SP-szint változását Alzheimer-kóros, schizophren és depressziós betegek esetében [3,4,8], az AMY SP-erg idegelemei tehát szerepet játszhatnak a fenti betegségek létrejöttében. Az SP szerepének pontosabb megismerése így hozzájárulhat egyes neurodegeneratív megbetegedések patomechanizmusának jobb megértéséhez, és ezen keresztül újabb hatásos gyógyszerek tervezéséhez.

## 6. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] M.G. Baxter and E.A. Murray, The amygdala and reward, *Nat. Rev. Neurosci.* 3 (2002) 563-573.
- [2] 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.
- [3] W.C. Benzing, E.J. Mufson and D.M. Armstrong, Immunocytochemical distribution of peptidergic and cholinergic fibers in the human amygdala - their depletion in Alzheimer's-disease and morphologic alteration in nondemented elderly with numerous senile plaques, *Brain Res.* 625 (1993) 125-138.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] M.M. Chang and S.E. Leeman, Amino-acid sequence of substance P. , *Nature New Biol* 232 (1971) 86-87.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] C.R. Gerfen, *Basal Ganglia, The Rat Nervous System (Third Edition)*, Paxinos, G. (ed), San Diego: Elsevier Academic Press (2004) 455-508.

- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] R.U. Hasenöhr, 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.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] J.P. Huston and U. Staubli, Post-trial injection of substance P into lateral hypothalamus and amygdala, respectively, facilitates and impairs learning, *Behav Neural Biol* 27 (1979) 244-248.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] J.M. Miller, S.R. Vorel, A.J. Tranguch, 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.
- [34] 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.



- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 2nd edition, New York, Academic Press, (1986).
- [40] 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.
- [41] D. Regoli, A. Boudon and J.L. Fauchere, Receptors and antagonists for substance P and related peptides, *Pharmacol Rev* 46 (1994) 551-599.
- [42] 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.
- [43] 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.
- [44] 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.
- [45] 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.
- [46] 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.
- [47] U. Staubli and J.P. Huston, Central action of substance P: possible role in reward., *Behav Neural Biol* 43 (1985) 100-108.
- [48] 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.
- [49] R.J. Valentino and K.G. Commons, Peptides that fine-tune the serotonin system, *Neuropeptides* 39 (2005) 1-8.
- [50] J.G. Veening, Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: An HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 191-195.
- [51] J.G. Veening, Subcortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 197-202.
- [52] 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.
- [53] R.H. Wurtz and J. Olds, Amygdaloid stimulation and operant reinforcement in the rat, *J Comp Physiol Psychol* 56 (1963) 941-949.
- [54] 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.

## 7. 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 és citálható absztraktok

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: Poszlegyejsztviye mikroinyeckij nyejrotenzina v csorniyju szubsztanciju mozga na uszlovniye drigatyelnije reakcij krisz v povrezsdenyijem szerotonyinyergicseszkih nyejronov. *Zs Vüszs Nyerv Gyejaty* 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.

Kertes, E., L. Lénárd and G. Nagyházi: The role of Substance P in passive avoidance learning and positive reinforcement. *Neurobiology*, 6(2): p.: 212-213, 1998.

Bagi, É.E., É. Fekete, E. Kertes and L. Lénárd: Intraamygdalar microinjections of angiotensins modulate drinking behavior and memory functions in rats. *Neurobiology*, 9(3-4): p.: 158 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. *Neurobiology*, 9(3-4): p.: 208, 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 Neurobiol Exp*, 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.

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.

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

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: The role of neurotensin in Morris water maze and passive avoidance paradigm. *Acta Physiol Hung* 94 (4): p.: 369-370 2007

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

### **III. Konferenciaszereplések**

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, 1999. Bornus Press, 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.

Kertes, E.: A substance P szerepe a pozitív és negatív megerősítésben. Magyar Viselkedés-Élettani Konferencia, Budapest, 2000. október 19.

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.

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., László K., L. Lénárd: Az amygdala centrális magjába injektált substance P hatása patkányok helytanulására. Magyar Viselkedés-Élettani Konferencia, Budapest, november 14, 2002.

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.

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.

Lénárd, L., E. Kertes, K. László: Effects of Substance P and NK1 receptor antagonist WIN 62.577 in amygdaloid learning mechanisms. Ann. Congress of IBNS, San Juan, Puerto Rico, Abstr. of IBNS, Vol: 12, p.: 58, 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.

László, K., E. Kertes, K. Várady, Sz. Tálos, P. Inkó, L. Lénárd: Positive reinforcement effect of Neurotensin injected into the central nucleus of amygdala. International IBRO Workshop, Budapest, 2006.

Oláhné V.K., E. Kertes, K. László, L. Péczely, B. Berta, L. Lénárd: Ventral pallidal learning mechanisms: The role of D1 receptors. International IBRO Workshop, Budapest, 2006.

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

László, K., E. Kertes, K. Tóth, K.O. Várady, E.É. Bagi, Sz. Tálós, L. Lénárd: The role of neurotensin in positive reinforcement. FENS A199.17. P.: 498, 2006.

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

Oláhné Várady K., L. Péczely, K. László, E. Kertes, B. Berta, L. Lénárd: A ventrális pallidumba injektált D1 receptor antagonist megszünteti a D1 receptor agonista tanulást fokozó hatását. A MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, P53, p.: 219, 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, Triest, Italy. 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: Neurotensin-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)

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)

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.

**Theoretical Medical Sciences Ph.D. Program**

**BEHAVIOURAL EFFECTS OF SUBSTANCE P  
INJECTED INTO THE AMYGDALA  
AND THE GLOBUS PALLIDUS**

**Ph.D. Thesis**

**ERIKA KERTES**

**Head of the Ph.D. School: Prof. Dr. László Lénárd**

**Head of the Ph.D. Program: Prof. Dr. László Lénárd**

**Tutor: Prof. Dr. László Lénárd**

**UNIVERSITY OF PÉCS  
FACULTY OF MEDICINE**

**Pécs, 2009**



## 1. INTRODUCTION

In this dissertation we investigated the behavioral effects of substance P in two different brain structures, namely, in the globus pallidus and in the amygdala. The animal (and human) behavior is defined as whole changes appearing in the internal conditions and/or in the motor pattern of an organism. In this essay, however, we will focus principally on learning and memory processes occurring in rewarding and punishing situations. Brain lesions caused by accidents or circulatory disturbances and neurodegenerative disorders may result in several types of learning and memory deficits. 10-15 % of people older than 65 years is suffer from some degree of decay in learning, memory or cognitive capabilities, thus, this is a common and serious problem.

Our working group has been concerned with the examination of the physiological functions of the globus pallidus (GP) since a long time. In addition to being an important structure of the extrapyramidal motor system, the GP may also be involved in the central control of perceptual, motivational, learning and memory processes [28,30,45]. Electrolytic or excitotoxic pallidal lesions cause learning deficits in several learning tests, including active and passive avoidance situations, Morris water maze, radial arm maze, or visual and non-visual discrimination learning paradigms [13,14,28,34]. Several studies in animal experimental research support the role of the GP in reward-related processes [29,36]. It was shown in humans that not only motor symptoms can be observed after selective bilateral pallidal lesion but anhedonia, depression and the ceasing of the drug addiction also occur [33]. There are several data supporting the structural and functional differences between the ventral-medial and dorsal-lateral part of the GP. The ventromedial part is considered to be a transitional area between the dorsal, motor pallidum and the ventral, limbic pallidum [16,35,37].

It is generally accepted that the amygdala (AMY) is involved in the control of reinforcement and learning processes. The AMY complex, as part of the limbic system, is considered to be also one of the key elements in the regulation of motivational and emotional processes as well as of behaviors related to fear and *anxiety* [7,17,18]. Dysfunctions of this structure may contribute to the etiology of generalized anxiety disorder [17]. Substantial role of AMY has been suggested in the regulation of learning and memory processes and it is an important structure of working or episodic *memory* [40]. Extensive evidence indicates that the AMY is a critical site for affecting several

neuromodulatory systems that can influence memory and, thus, AMY may modulate the storage of memory traces in other brain sites [15,31]. The AMY is also a key component of neural systems regulating *positive reinforcement* and reward-related processes [53]. Several studies suggest the role of this structure in mediation of the effects of drugs of abuse and natural rewards [1,26,38]. The AMY is heterogeneous considering its functions and also its structure. Several data support the differential roles that the central (ACE) and the basolateral (ABL) nuclei play in the aforementioned processes [2,15,18,38,44,52].

Experimental findings show that the acetylcholinergic (ACh) and dopaminergic (DA) systems play essential roles in the regulation of learning and memory. Nowadays became increasingly interesting, however, the investigation of the modulatory roles of neuropeptides, such as substance P (SP), on these processes. The undecapeptide SP, identified in mammalian and non-mammalian species, belongs to the *tachykinin* peptide family [9]. Its receptors have been found in the central and peripheral nervous system and have been classified into three types, namely, neurokinin (NK)1, NK2 and NK3 [10]. SP preferentially acts at NK1 receptors, however, it can bind to and act as full agonist on all three types [10,41]. SP has been implicated in a wide range of behaviors, its *memory facilitating* effects have been found in passive and active avoidance paradigms after its peripheral or intracranial applications [22,27]. *Positive reinforcing* effects have been revealed after peripheral administration of SP or after direct injections into the lateral hypothalamus, the medial septum or the ventral pallidum [20,23,25,47]. In addition, SP can influence animals' behavior related to fear and *anxiety*. Its anxiogenic and also anxiolytic effects were shown, depending on the dose range used and the specific brain region into which it was applied [12,24,48]. SP, like other peptides, often has an inverted U-shaped dose-response relationship [20,48]. SP coexists and closely interacts with several neurotransmitter systems and can modulate the release and/or the effects of other transmitters [5,6,11,21,49]. Changes in the SP content of certain brain regions were revealed in numerous diseases, thus, this peptide probably plays a role in the etiology of some neurodegenerative disorders [3,4,8,54]. The wide distribution of SP and its receptors has been shown in the central nervous system, among others, in the GP, in the ACE and also in the ABL [19,42,43]. Effects of SP administered into these brain areas on behavioral processes, however, haven't been investigated yet.



*Based on the aforementioned data we investigated whether SP administration into these brain structures influence learning and memory processes. Furthermore, we studied the participation of NK1 receptors in the mediation of the effects of SP by means of administration of a specific receptor antagonist.*

## **2. OBJECTIVES**

1. Positive reinforcing effects of SP were revealed after its injections into several brain sites. The ventral-medial part of the GP plays a role not only in the control of movement-regulation but also in reward-related learning. The ACE and the ABL have important roles in rewarding - positive reinforcing processes and in the mediation of the effects of certain psychostimulant drugs. We investigated, therefore, the possible positive reinforcing effects of SP injected into the GP or these two AMY nuclei in Conditioned Place Preference paradigm.
2. In the Place Preference test animals spend more time in a certain part of the apparatus than in the others. This could be a result of hypoactivity, which may be due to anxiogenic effects of the substance received. SP can have anxiogenic and also anxiolytic effects, depending on the dose used and the site of action in the brain. We examined, therefore, whether SP injections into the above-mentioned structures have any effect on anxiety in the Elevated Plus-maze test.
3. Learning disturbances can be found after electrolytic or excitotoxic lesions of the GP in passive and active avoidance situations. The AMY nuclei have important roles in negative reinforcement learning in aversively motivated tasks. Learning improvement and also impairment can be obtained after SP administrations. We studied, therefore, the effects of SP injected into the GP, the ACE or the ABL on learning in Passive Avoidance paradigm using weak shock. In addition we examined the effects of SP on memory in Passive Avoidance paradigm after strong shock.
4. NK1 receptors can be found in the GP, the ACE or the ABL in medium to high density. We attempted, therefore, to unravel the role of these NK1 receptors in mediating the rewarding - positive reinforcing, anxiolytic or anxiogenic, and learning influencing effects of SP in these brain structures by means of pretreatment with a specific NK1 receptor antagonist.

### 3. MATERIALS AND METHODS

#### 3.1. Animals

570 adult male Wistar rats weighing 280-320 g were used in the experiments. Rats were housed individually and kept in a light-, temperature- and humidity-controlled room (12:12 h light-dark cycle,  $22 \pm 2$  °C and  $55 \pm 10$  %). Tap water and standard laboratory food pellets (CRLT/N standard rodent food pellet, Charles River Kft, Budapest, Hungary) were available ad libitum. All behavioral testings were done during the rats' daylight period between 08:00 and 17:00 h. Animals were cared for in accordance with institutional (Pécs University, Medical School) and international standards (National Institutes of Health Guidelines for Laboratory Animals).

#### 3.2. Surgery

Animals were stereotaxically implanted bilaterally with 22 gauge (0,644 mm) outer diameter stainless steel guide cannulae, directed toward the ventral part of the GP, or the dorsal border of the ACE and ABL. The cannulae terminated 1.0 mm above the target areas. Coordinates according to the rats' stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [39] were the following: *GP*: AP: -1.4 mm, ML:  $\pm 3.4$  mm, DV: -6.4 mm; *ACE*: AP: -2.3 mm, ML:  $\pm 4.1$  mm, DV: -6.5 mm; *ABL*: AP: -2,8 mm, ML:  $\pm 5,0$  mm, DV: -6,6 mm.

#### 3.3. Materials

Substance P (S 6883, Sigma-Aldrich Co.) was injected bilaterally in 10 or 100 ng (7.42 or 74.2 pmol) doses in a volume of 0.4  $\mu$ l. The peptide was dissolved in 0.15 M sterile saline solution containing 0.01 M Na-acetate and 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4). Control animals received this solution bilaterally as vehicle (*Veh1*) in equal volume to that used for SP injections. The NK1 receptor antagonist WIN51,708 (W-103, Sigma-Aldrich Co.) was applied in 5 ng (11 pmol) dose in a volume of 0.4  $\mu$ l. The antagonist was diluted in 0.15 M saline solution containing 0.3 % dimethylsulfoxide and 0.01 M PBS, and its vehicle solution (*Veh2*) was used for bilateral Control injections in the same volume to those of antagonist injections. Tubes containing solutions were kept in +4 °C before application.

In the experiments with SP animals were assigned to the following groups: SP 10 ng: rats receiving 10 ng SP, SP 100 ng: rats receiving 100 ng SP, Control: rats receiving *Veh1*. In the experiments with the NK1 receptor antagonist the following groups were used: ANT: rats receiving 5 ng WIN51,708 and then vehicle of SP (antagonist + *Veh1*), ANT+SP: rats receiving 5 ng NK1 receptor antagonist and 10 ng SP (antagonist + SP), SP: rats receiving the vehicle of the antagonist and then 10 ng SP (*Veh2* + SP), Control: rats receiving two vehicle injections (*Veh2* + *Veh1*). The antagonist or *Veh2* were applied 15 min prior to SP or *Veh1* injections.

### **3.4. Behavioral experiments**

Experiments were conducted in an isolated sound-proof experimental room. Behavioral parameters of animals were measured by means of a PC computer using EthoVision Basic software. (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, The Netherlands).

#### **3.4.1. Conditioned Place Preference Test**

We used the “corral” method developed by Huston and colleagues for Conditioned Place Preference experiments [20]. During Habituation trial rats had free access to all parts of the apparatus for 10 minutes (600 s). The time that animals had spent in each of the four quadrants was measured. On the next two days the Conditioning trials were executed. One of the four quadrants in which the animal had spent neither the most, nor the least time during Habituation was selected for conditioning (termed as *Treatment Quadrant*). After bilateral injections animals were restricted to the Treatment Quadrant for 15 minutes (900 s) by means of a transparent plexiglass barrier. During Test trial the plexiglass barrier was removed and rats were placed again into the center of the open field in drug-free state and had free access to all parts of the apparatus for 10 minutes (600 s). The time that animals had spent in each of the four quadrants was measured again. Place preference was defined as at least 25 % increase in time spent in the drug-paired quadrant during Test trial compared to the Habituation trial.

### **3.4.2. Elevated Plus-maze Test**

Five minutes after bilateral microinjections the animals were placed on the central platform of the maze and the behavior of the rats was observed for 5 min (300 s). The *time spent on*, the *distance moved on* and the *number of entries* into the Enclosed arms, the Open arms and the end of the open arms (End-arms) were measured. We calculated also the following parameters: the ratio of time spent on the Open arms in proportion to the time spent on the Enclosed arms, the ratio of entries into the Open arms in proportion to entries into the Enclosed arms, and the Total number of entries, which was calculated from the entries into the Open and Enclosed arms. The Total distance moved during 5 minutes was also measured. This latter parameter and the Total number of entries were used for the characterization of the general activity of animals. Each rat was tested only once.

### **3.4.3. Passive Avoidance Test**

The Passive Avoidance procedure consisted of Habituation, Conditioning and Test trials, each lasted maximum of 3 minutes (180 sec). During Habituation trial animals were placed into the large light chamber and had free access to all parts of the apparatus. During Conditioning trial animals were placed again into the light chamber and the latency to enter the dark shock compartment was measured (*Step-through latency*). After entering the dark chamber the door was closed and an inescapable foot shock was delivered to the feet through the floor grid for 3 times, 1 sec each. Conditioning was made by means of weak (0.5 mA) or strong (2.0 mA) electric shock in separate experiments. Immediately after the shock rats had been removed from the apparatus and received bilateral microinjections (SP, antagonist or vehicle). During Test trials rats were placed again in the illuminated chamber and the Step-through latency was recorded again. Test trials were conducted without application of foot shock. In the experiments with weak (0.5 mA) shock Tests were carried out 24 h and one week after Conditioning (Test1 and Test2, respectively). In the experiments with strong (2.0 mA) shock Tests were executed 24 h, one week and two weeks after Conditioning (Test1, Test2 and Test3, respectively).

### **3.5. Data processing**

#### **3.5.1. Histology**

At the end of the experiments, rats were anesthetized with urethane and transcardially perfused with isotonic saline followed by 10 % formalin solution. Brains were frozen, cut into 40 $\mu$ m serial sections and stained with Cresyl-violet. Injection sites were reconstructed according to the rats' stereotaxic atlas of Paxinos and Watson. Those animals where the reconstructed cannula placement was outside the target area were excluded from subsequent analysis.

#### **3.5.2. Statistics**

Statistical analyses of experimental data were carried out using 'SPSS 15.0 for Windows' computer program. Data were analyzed with one-way or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc tests. When the number of experimental groups or number of trials did not allow this comparison, then Student's paired- or independent-samples t-tests were used. Differences were considered significant when p values were less than 0.05.

## **4. RESULTS**

### **4.1. Globus pallidus**

#### **4.1.1. Conditioned Place Preference test**

Positive reinforcing effect of SP was found in the Conditioned Place Preference test when injected into the GP. Time that animals had spent in the Treatment Quadrant significantly increased after 10 ng SP injection, while 100 ng SP had no effect. This rewarding - positive reinforcing effect of SP could be blocked by pretreatment with the specific NK1 receptor antagonist WIN51,708. One can suppose, therefore, that this effect is mediated via NK1 receptors.

#### **4.1.2. Elevated Plus-maze test**

SP injected into the GP had anxiolytic-like effects. Time spent on and distance moved on the Open arms and End-arms significantly increased in the 10 ng SP treated group, while the general activity of animals was not altered by the treatment. The higher dose (100 ng) of SP did not influence any parameter in the Elevated Plus-maze test. The

anxiolytic effects of the low dose SP were inhibited by the pretreatment with WIN51,708. We concluded, therefore, that NK1 receptors may play a role in the mediation of these anxiolytic effects.

#### ***4.1.3. Passive Avoidance test***

SP injected into the GP facilitated learning in the Passive Avoidance test. 10 ng SP significantly increased Step-through latency after applying weak shock; this increase indicates that these animals learned better than Controls. The 100 ng dose SP had no effect on learning in this paradigm. The learning improvement by the low dose SP was, however, only short-term since one week after Conditioning there were no significant differences among groups. When strong shock was used Step-through latency significantly decreased after injection of the same dose of SP, indicating that 10 ng SP may interfere somehow with formation or retention of long-term memory.

## **4.2. Central nucleus of Amygdala**

#### ***4.2.1. Conditioned Place Preference test***

It has been shown in the Conditioned Place Preference test that SP injected into the ACE has positive reinforcing effect. Time that animals had spent in the Treatment Quadrant significantly increased after low dose (10 ng) SP injection. The higher dose (100 ng) of SP did not influence the behavior of animals. The rewarding - positive reinforcing effect of SP may be mediated through NK1 receptors, since this effect could be blocked by pretreatment with the specific NK1 receptor antagonist.

#### ***4.2.2. Elevated Plus-maze test***

SP injected into the ACE proved to be anxiolytic. Time spent on the Open arms and End-arms significantly increased after the injection of both the lower (10 ng) and higher (100 ng) dose of SP, while the general activity of animals was not altered by the treatments. The anxiolytic effects of SP were not inhibited but only weakened by the pretreatment with the specific NK1 receptor antagonist. Time spent on and distance moved on the Open arms and End-arms decreased after the injection of WIN51,708 but this decrease was not significant compared to the SP injected group. After the antagonist pretreatment, however, the significant difference in the former parameters disappeared compared to Controls. According to these results we concluded that not only NK1

receptors may play a role in the mediation of the anxiolytic effects of SP in the ACE but the NK3 receptors occurring in low density in this structure may also contribute to these effects.

#### ***4.2.3. Passive Avoidance test***

It has been shown that SP injected into the ACE facilitated learning in the Passive Avoidance test. The low dose (10 ng SP) significantly increased Step-through latency applying weak shock; significantly better learning was observed in the group treated with low dose SP than in the high-dose SP or Control groups. The learning improvement by the low dose SP was longer-lasting than in the GP since one week after Conditioning there were still significant differences among groups. When strong shock was used Step-through latency was not significantly changed after injection of the same dose of SP, indicating that 10 ng SP in the ACE do not interfere with long-term memory. The memory improving effect of SP in the ACE may be mediated via NK1 receptors since the antagonist could block this effect.

### **4.3. Basolateral nucleus of Amygdala**

#### ***4.3.1. Conditioned Place Preference test***

We could not find positive reinforcing effect of SP in the Conditioned Place Preference test when it was injected into the ABL. Time that animals had spent in the Treatment Quadrant did not change after low dose (10 ng) SP injection. This time somewhat decreased after the injection of higher (100 ng) dose of SP but this difference was not statistically significant.

#### ***4.3.2. Passive Avoidance test***

SP injected into the ABL facilitated learning in the Passive Avoidance paradigm. The low dose (10 ng) SP significantly increased Step-through latency after application of weak shock. There were no significant differences among groups, however, one week after the Conditioning. The higher dose (100 ng) of SP had no effect on the learning or memory in the Passive Avoidance test.

## 5. DISCUSSION

1. Rewarding - positive reinforcing effects of the low dose SP were revealed in Conditioned Place Preference test after microinjections into the GP and ACE but not into the ABL. The present results in the GP and ACE are comparable with those observed by others, i.e. SP can have positive reinforcing properties in other brain structures [20,25,47]. Our results are in accordance with a number of studies supporting the role of the GP and the ACE in the control of positive reinforcing - rewarding processes as well [1,26,29,33,36,38]. In the ABL neither the lower nor the higher dose of SP had positive reinforcing properties. Our finding may suggest, that even if the ABL is involved in the control of positive reinforcing processes according to several authors [26,46], the SP doesn't have rewarding-addictive consequences there. The different findings in the ACE and ABL may be due to different roles of these structures in the positive reinforcing processes. These findings, on the other hand, may be explained by the differences in afferent and efferent connections and/or different SP-ergic innervation or different NK1 and NK3 receptor densities of the two AMY nuclei [42-44,50,51].

2. Anxiolytic effects of SP have been revealed in the Elevated Plus-maze test after injections into the GP and the ACE. Time spent on and distance moved on the Open arms and the End-arms increased after injections of the low dose SP into these two structures. There were differences, however, in the anxiolytic effects of SP regarding these two structures. Namely, in the ACE the higher dose of SP also proved to be anxiolytic, while in the GP the 100 ng dose of SP had neither anxiogenic nor anxiolytic effect. Based on our results we may conclude, therefore, that the low dose SP does not exert any anxiogenic effects either in the GP or in the ACE. Thus, animals did not spend more time in the previously non-preferred site during the Place Preference test because of the anxiogenic effects of SP. There are only few studies investigating the role of the GP in the control of animals' behavior related to fear and anxiety [32]. Our results are the first to demonstrate, that SP in the GP may play a role in processes related to anxiety.



3. Results of the Passive Avoidance experiments showed learning improvement in this punishing situation after bilateral application of SP into the GP, the ACE and the ABL. Infusion of the low dose SP after electric shock facilitated learning in all the three structures, while the higher dose was ineffective in all cases. Our findings are in good agreement with several data supporting the role of SP, the GP and the different nuclei of the AMY in learning and memory processes [13,14,22,27,31,40]. Nevertheless, the GP and the ACE may participate in these processes in different ways. SP injected into the GP facilitated learning after weak shock, but inhibited somehow the formation of long-term memory or the retention of memory traces. This memory-attenuating effect was also strengthened in the experiment with strong shock. In the ACE the administered SP improved learning and did not attenuate the retention of memory, either in the experiments with weak or strong shock. Thus, mechanisms through which SP may influence learning and memory processes are different regarding the GP and the ACE. It would be necessary to repeat the Passive Avoidance test in the ABL with strong shock to find out whether SP interfere with the formation of long-term memory in this structure as well.

The positive reinforcing, anxiolytic and learning facilitatory effects of SP proved to be dose dependent in our experiments, an inverted U-shaped dose-response relationship could be identified in the GP, the ACE and also in the ABL. This kind of dose-related action of peptides is well known in the literature [20,48].

4. In our next experiments we found that NK1 receptors may play a role in the mediation of the positive reinforcing effects of SP in both the GP and the ACE. The rewarding - positive reinforcing effects of SP could be inhibited by prior treatment with the specific NK1 receptor antagonist in both structures. The anxiolytic effects of SP are also mediated via NK1 receptors in the GP, while in the ACE not only NK1 but also NK3 receptors may participate in the mediation of these effects. Namely, contrary to our results obtained in the GP, in the ACE the NK1 receptor antagonist could not block but only weaken the anxiolytic effects of the low dose SP. We could show that the learning facilitatory effect of SP in the Passive Avoidance paradigm is also mediated through NK1 receptors in the ACE, because this effect could be blocked with the specific NK1 receptor antagonist.

SP coexists and closely interacts with several neurotransmitter systems. The positive reinforcing, learning facilitatory effects of SP may be related to the mesolimbic DA system [6]. One can not exclude the possibility, however, that the interaction with ACh-ergic neuronal elements may participate in the mediation of these effects of SP [5]. According to experimental data interactions of SP with serotonergic, opiate-ergic and/or GABA-benzodiazepine transmitter systems could be supposed in the influences of SP on anxiolytic processes [11,21,49]. The learning improving effects of this peptide observed in punishing situation may also be linked to DA-ergic and/or ACh-ergic neurotransmission. Nevertheless, further experiments are necessary to cast light on these mechanisms in detail.

There is growing evidence that SP may play a role in the pathophysiology of some neurodegenerative disorders. SP-immunoreactivity changes in the GP were demonstrated in patients with Parkinson's and Huntington's diseases and also in schizophrenia [4,54]. The changes in SP-ergic innervation of the GP, therefore, may contribute to the development of these diseases. Brain level changes of SP content in the AMY have been seen in Alzheimer's disease, schizophrenia or major depression [3,4,8]. Thus, SP-ergic neuronal elements in the AMY may play a role in the etiology of the above-mentioned disorders. The knowledge of the exact role of SP in these processes may contribute to the better understanding of the pathomechanism of these disorders and to developing new tools for their treatment.

## 6. REFERENCES

- [1] M.G. Baxter and E.A. Murray, The amygdala and reward, *Nat. Rev. Neurosci.* 3 (2002) 563-573.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] M.M. Chang and S.E. Leeman, Amino-acid sequence of substance P. , *Nature New Biol* 232 (1971) 86-87.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] C.R. Gerfen, *Basal Ganglia, The Rat Nervous System (Third Edition)*, Paxinos, G. (ed), San Diego: Elsevier Academic Press (2004) 455-508.

- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] R.U. Hasenöhrl, 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.
- [21] R.U. Hasenöhrl, 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.
- [22] R.U. Hasenöhrl, P. Gerhardt and J.P. Huston, Substance P enhancement of inhibitory avoidance learning: mediation by the N-terminal sequence, *Peptides* 11 (1990) 163-167.
- [23] R.U. Hasenöhrl, 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.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] J.P. Huston and U. Staubli, Post-trial injection of substance P into lateral hypothalamus and amygdala, respectively, facilitates and impairs learning, *Behav Neural Biol* 27 (1979) 244-248.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] J.M. Miller, S.R. Vorel, A.J. Tranguch, 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.
- [34] 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.

- [35] 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.
- [36] G. Panagis, E. Miliareisis, Y. Anagnostakis and C. Spyraiki, Ventral pallidum self-stimulation: a moveable electrode mapping study, *Behav Brain Res* 68 (1995) 165-172.
- [37] 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.
- [38] 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.
- [39] G. Paxinos and C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 2nd edition, New York, Academic Press, (1986).
- [40] 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.
- [41] D. Regoli, A. Boudon and J.L. Fauchere, Receptors and antagonists for substance P and related peptides, *Pharmacol Rev* 46 (1994) 551-599.
- [42] 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.
- [43] 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.
- [44] 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.
- [45] 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.
- [46] 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.
- [47] U. Staubli and J.P. Huston, Central action of substance P: possible role in reward., *Behav Neural Biol* 43 (1985) 100-108.
- [48] 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.
- [49] R.J. Valentino and K.G. Commons, Peptides that fine-tune the serotonin system, *Neuropeptides* 39 (2005) 1-8.
- [50] J.G. Veening, Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: An HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 191-195.
- [51] J.G. Veening, Subcortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study, *Neurosci Lett* 8 (1978) 197-202.
- [52] 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.
- [53] R.H. Wurtz and J. Olds, Amygdaloid stimulation and operant reinforcement in the rat, *J Comp Physiol Psychol* 56 (1963) 941-949.
- [54] 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.

## 7. LIST OF PUBLICATIONS

### I. Articles related to the thesis

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. Other publications and citeable abstracts

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: Poszlegyejsztviye mikroinyeckij nyejrotenzina v csornyiju szubsztanciju mozga na uszlovniye drigatyelnije reakcij krisz v povrezsdenijem szerotonyinyergicseszkih nyejronov. *Zs Vüszs Nyerv Gyejaty* 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.

Kertes, E., L. Lénárd and G. Nagyházi: The role of Substance P in passive avoidance learning and positive reinforcement. *Neurobiology*, 6(2): p.: 212-213, 1998.

Bagi, É.E., É. Fekete, E. Kertes and L. Lénárd: Intraamygdalar microinjections of angiotensins modulate drinking behavior and memory functions in rats. *Neurobiology*, 9(3-4): p.: 158 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. *Neurobiology*, 9(3-4): p.: 208, 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 Neurobiol Exp*, 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.

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.

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

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: The role of neurotensin in Morris water maze and passive avoidance paradigm. *Acta Physiol Hung* 94 (4): p.: 369-370 2007

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

### **III. Presentations**

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, 1999. Bornus Press, 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.

Kertes, E.: A substance P szerepe a pozitív és negatív megerősítésben. Magyar Viselkedés-Élettani Konferencia, Budapest, 2000. október 19.

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.

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., László K., L. Lénárd: Az amygdala centrális magjába injektált substance P hatása patkányok helytanulására. Magyar Viselkedés-Élettani Konferencia, Budapest, november 14, 2002.

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.

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.

Lénárd, L., E. Kertes, K. László: Effects of Substance P and NK1 receptor antagonist WIN 62.577 in amygdaloid learning mechanisms. Ann. Congress of IBNS, San Juan, Puerto Rico, Abstr. of IBNS, Vol: 12, p.: 58, 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.

László, K., E. Kertes, K. Várady, Sz. Tálos, P. Inkó, L. Lénárd: Positive reinforcement effect of Neurotensin injected into the central nucleus of amygdala. International IBRO Workshop, Budapest, 2006.

Oláhné V.K., E. Kertes, K. László, L. Péczely, B. Berta, L. Lénárd: Ventral pallidal learning mechanisms: The role of D1 receptors. International IBRO Workshop, Budapest, 2006.

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

László, K., E. Kertes, K. Tóth, K.O. Várady, E.É. Bagi, Sz. Tálós, L. Lénárd: The role of neurotensin in positive reinforcement. FENS A199.17. P.: 498, 2006.

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

Oláhné Várady K., L. Péczely, K. László, E. Kertes, B. Berta, L. Lénárd: A ventrális pallidumba injektált D1 receptor antagonist megszünteti a D1 receptor agonista tanulást fokozó hatását. A MÉT LXXI. Vándorgyűlése, Pécs, P53, p.: 219, 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, Triest, Italy. 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: Neurotensin-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)

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)

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.