

Kiegészítő dokumentum

Hivatkozások listája:

1. Bagetta G, De Sarro G, Priolo E, Nistico G, Ventral Tegmental Area: Site Through Which Dopamine D2-Receptor Agonists Evoke Behavioural And Electrocortical Sleep In Rats. *Br J Pharmacol* 95: 860-866. (1988)
2. Bali Zk, Inkeller J, Csurgók R, Bruszt N, Horváth H, Hernádi I. Differential Effects Of A7 Nicotinic Receptor Agonist Pha-543613 On Spatial Memory Performance Of Rats In Two Distinct Pharmacological Dementia Models. *Behav Brain Res* 278: 404–410. (2015)
3. Bánki M. Cs. Agyunk Fogságában. Prodie Kiadó, Budapest (2006)
4. Berendse Hw, Groenewegen Hj. Restricted Cortical Termination Fields Of The Midline And Intralaminar Thalamic Nuclei In The Rat. *Neuroscience* 42(1):73-102. (1991)
5. Björklund A És Dunnett Sb. Dopamine Neuron Systems In The Brain: An Update. *Trends Neurosci* 30: 194-202. (2007)
6. Björklund A, Dunnett S.B. Fifty Years Of Dopamin Research. *Trends Neurosci* 30(5): 185-187. (2007)
7. Csoknya M. Neurobiológia Jegyzet, Pécsi Tudományegyetem, Pécs (2003)
8. Csoknya M, Lengvári I. Biológiai Szabályozó Rendszerek. Szaktudás, Budapest (1993)
9. Csoknya M, Hámori J. Az Idegrendszer Összehasonlító Anatómiája. Dialóg Campus, Pécs (1996)
10. Dahlstrom A, Fuxe K. Evidence For The Existence Of Monoamine-Containing Neurons In The Central Nervous System. *Acta Physiol Scand* 62: 1–55. (1964)
11. Fehér O. Pszichofarmakológia, Jatepress, Szeged (2003)
12. Park Dm, Findley Lj, Teychenne Pf. Nomifensine In Parkinsonism. *Br J Clin Pharmac* 4(Suppl 2): 185s–186s (1977)
13. Park Dm, Findley Lj, Hankst G, Sandler M. Nomifensine: Effect In Parkinsonian Patients Not Receiving Levodopa. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 44: 352-354. (1981)
14. Garriss Pa, Budygin Ea, Phillips Pem, Venton Bj, Robinson Dl, Bergstrom Bp, Rebec Gv, Wightman Rm. A Role For Presynaptic Mechanisms In The Actions Of Nomifensine And Haloperidol. *Neuroscience* 118(3): 819-829. (2003)
15. Gottfried Ja (Szerk), Neurobiology Of Sensation And Reward, Crc Press, Boca Raton (Fl) (2011)

16. A.M. Gray, P.S.J. Spencer & R.D.E. Sewell. The Involvement Of The Opioidergic System In The Antinociceptive Mechanism Of Action Of Antidepressant Compounds. *British Journal Of Pharmacology* (1998), 124
17. Haber Sn. The Place Of Dopamine In The Cortico-Basal Ganglia Circuit. *Neuroscience* 282:248-257. (2014)
18. Habermann W. A Review Of Controlled Studies With Nomifensine, Performed Outside The Uk. *Br J Clin Pharmac* 4: 237s-241s (1977).
19. Henry Jp, Botton D, Sagne C, Isambert Mf, Desnos C, Blanchard V, Raisman-Vozari R, Krejci E, Massoulie J, Gasnier B. Biochemistry And Molecular Biology Of The Vesicular Monoamine Transporter From Chromaffin Granules. *J Exp Biol* 196: 251–262 (1994)
20. Henry Jp, Botton D, Sagne C, Isambert Mf, Desnos C, Blanchard V, Raisman-Vozari R, Krejci E, Massoulie J, Gasnier B. Biochemistry And Molecular Biology Of The Vesicular Monoamine Transporter From Chromaffin Granules. *J Exp Biol* 196: 251–262 (1994)
21. Van Den Heuvel Dma, Pasterkamp Rj. Getting Connected Dopamine System. *Prog Neurobiol* 85(1): 75-93. (2008)
22. Jones Sr, Gainetdinov Rr, Jaber M, Giros B, Wightman Rm, Caron Mg. Profound Neuronal Plasticity In Response To Inactivation Of The Dopamine Transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 95(7): 4029–4034. (1998)
23. .Gilbert W. Kim, Jieru E. Lin, Erik S. Blomain, And Scott A. Waldman. New Advances In Models And Strategies For Developing Anti-Obesity Drugs. *Expert Opin Drug Discov*. Jun 2013; 8(6): 655–671.
24. King Dj, Devaney N. Clinical Pharmacology Of Sibutramine Hydrochloride (Bts 54524), A New Antidepressant In Healthy Volunteers. *Br J Clin Pharmac* 26: 607-611. (1988)
25. D.N. Kiortsis, S. Tsouli, T.D. Filippatos, S. Konitsiotis, M.S. Elisaf. Effects Of Sibutramine And Orlistat On Mood In Obese And Overweight Subjects: A Randomised Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2008;18:207–210.
26. Kuhar Mj, Couceyro Pr, Lambert Pd. Biosynthesis Of Catecholamines. In: Siegel Gj (Szerk). *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular And Medical Aspects*. 6th Edition. Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)

27. Liang Sl, Hsu Sc, Pan Jt. Involvement Of Dopamine D2 Receptor In The Diurnal Changes Of Tuberoinfundibular Dopaminergic Neuron Activity And Prolactin Secretion In Female Rats. *J Biomed Sci* 21(3): 37. (2014)
28. Morton Ar, Yu R, Waldek S, Holmes Am, Mundy K. Withdrawal Of Nomifensine. *Br Med J*. 293(6544): 452-453. (1986)
29. Paxinos G., Watson C. (2005). *The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates*, 5th Edn San Diego, Elsevier Academic Press
30. Pierce Rc, Kumearesman V. The Mesolimbic Dopamine Sysytem: The Final Common Pathway For The Reinforcing Effect Of Drugs Of Abuse? *Neurosci Biobehav Rev* 30(2): 215-38. (2006).
31. Pléh Cs, Kovács Gy, Gulyás B. *Kognitív Idegtudomány*. Osiris, Budapest (2003)
32. Robinson Dl, Venton Bj, Heien Mlav, Wightman Rm. Detecting Subsecond Dopamine Release With Fast-Scan Cyclic Voltammetry In Vivo. *Clinical Chemistry* 49(10): 1763–1773 (2003)
33. Robinson Dl, Wightman Rm. Rapid Dopamine Release In Freely Moving Rats. In: Michael Ac, Borland Lm (Szerk). *Electrochemical Methods For Neuroscience*. Crc Press, Boca Raton (Fl) (2007)
34. Schultz W. Behavioral Dopamine Signals. *Trends Neurosci* 30(5): 203-210. (2007)
35. Gilbert W. Kim, Jieru E. Lin, Erik S. Blomain, And Scott A. Waldman. New Advances In Models And Strategies For Developing Anti-Obesity Drugs. *Expert Opin Drug Discov*. Jun2013; 8(6): 655–671.
36. Smith Sm, Burbach Jph, Smidt Mp. Developmental Origin And Fate Of Meso-Diencephalic Dopamine Neurons. *Prog Neurobiol* 78(1): 1-16. (2006)
37. Takahashi N, Miner Ll, Sora I, Ujike H, Revay Rs, Kostic V, Jackson-Lewis V, Przedborski S, Uhl Gr. Vmat2 Knockout Mice: Heterozygotes Display Reduced Amphetamine-Conditioned Reward, Enhanced Amphetamine Locomotion, And Enhanced Mptp Toxicity. *Proc Natl Acad Sci Usa*. 94(18): 9938-43. (1997)
38. Taylor M, Jaquins-Gerstl A, Sesack Sr, Michael Ac. Domain-Dependent Effects Of Dat Inhibition In The Rat Dorsal Striatum. *J Neurochem*. 122(2): 283–294. (2012)
39. Toyohara J, Hashimoto K. A7 Nicotinic Receptor Agonists: Potential Therapeutic Drugs For Treatment Of Cognitive Impairments In Schizophrenia And Alzheimer's Disease. *Open Med Chem J* 4: 37–56. (2010)
40. Trimble Mr, Meldrum Bs, Anlezark G. Effect Of Nomifensine On Brain Amines And Epilepsy In Photosensitive Baboons. *Br J Clin Pharmac* 4: 101s-107s (1977)

41. Tziomalos K, Krassas Ge, Tzotzas T. The Use Of Sibutramine In The Management Of Obesity And Related Disorders: An Update. Vasc Health Risk Manag. 5: 441–452. (2009)
42. Sass M, Zboray G. Összehasonlító Anatómiai Előadások: Az Idegrendszer. Eötvös Kiadó, Budapest (1996)
43. Venton Bj, Wightman Rm, Psychoanalytical Electrochemistry: Dopamine And Behavior. Anal Chem 75(19): 414a-421a (2003)
44. Voorn P, Gerfen Cr, Groenewegen Hj. Compartmental Organization Of The Ventral Striatum Of The Rat: Immunohistochemical Distribution Of Enkephalin, Substance P, Dopamine, And Calcium-Binding Protein. J Comp Neurol 289(2):189-201. (1989)
45. Westerink Bh. Brain Microdialysis And Its Application For The Study Of Animal Behaviour. Behav Brain Res 70(2):103-24. (1995)
46. Wimalasena K. Vesicular Monoamine Transporters: Structure-Function, Pharmacology, And Medicinal Chemistry. Med Res Rev 31(4): 483-519. (2011)
47. Wightman, R.M. & Robinson, D.L. Transient Changes In Mesolimbic Dopamine And Their Association With “Reward”. Journal Of Neurochemistry 82, 721-35 (2002).
48. Yakabow Al, Hardiman S, Nash Rj. An Overview Of Side Effects And Long-Term Experience With Nomifensine From United States Clinical Trials. J Clin Psychiatry. 45(4 Pt 2):96-101. (1984)

Absztrakt angolul:

Electroanalytical measurement of dopaminergic neurotransmission in mammalian brain *in vivo*

To be able to detect neurotransmitter levels is a key part to understanding complex brain processes, and may be essential to modify pathological function. Dopamine (DA) is a neurotransmitter molecule which belongs to catecholamines, its synthesis originates from tyrosine. The dopaminergic system also has an important role in the control of behaviour, having major impact on motor functions, cognitive processes and also on endocrine control.

Voltammetry is an electroanalytical procedure which has of high temporal and spatial resolution in and also good sensitivity and selectivity. With voltammetry it is also possible to analyze the kinetics of extracellular DA release under *in vivo* circumstances. The basis of the detection of DA is the measurement of current resulted from redox processes of DA molecules on the surface of the electrode caused by potential changes. The voltammetric measurement

system consists of a working electrode (single fibre carbon fibre microelectrode) and a reference electrode (Ag/AgCl-electrode). In addition, a bipolar stimulating electrode is used to release endogenous dopamine from dopaminergic neurons.

In the present experiments, extracellular DA levels were measured in anesthetized male and female Wistar rats. We electrically stimulated the ventral tegmental area (VTA) with a bipolar microelectrode in every three minutes. With this method we were able to detect a large extracellular transients of DA in the nucleus accumbens (NAcc) by means of a carbon fibre microelectrode. DA release of $\alpha 7$ receptor agonist PHA-543613 or monoamine reuptake inhibitor sibutramine were tested. All test substances were administered intraperitoneally. The specificity of DA release was validated by the administration of DA reuptake inhibitor nomifensine. Absolute levels of DA concentrations were calculated after calibration of the working electrodes in an *in vitro* flow system. The exact locations of the electrodes were determined post mortem, after histological sectioning of the brain.

Results showed rapid DA transients after electric stimulation of the VTA, and an increase of DA transients after the administration of DA reuptake inhibitor nomifensine. Contrary to this, after the injection of PHA-543613 or sibutramine, there was no significant increase of DA peak currents. In summary: in the present study, we successfully set-up and validated an electroanalytical measurement procedure for the extracellular detection of DA *in vivo*. The presently introduced method can be highly beneficial in preclinical screening of the effects of novel drug candidates in a semi-quantitative method against known reference substances.

Absztrakt magyarul:

A dopaminerg neurotranszmisszió in vivo voltammetriás vizsgálata emlős agyban

A neurotranszmitterek hatásmechanizmusának ismerete fontos kiindulópont a bonyolultabb agyi folyamatok megértésében, így a hibás működések kezelésében is létfontosságú. A dopamin (DA) a katekolaminok közé tartozó neurotranszmitter molekula, szintézise tirozinból indul ki. A dopaminerg (DA-erg) rendszer fontos szerepet tölt be a magatartásszabályozásban, hatással lehet a motoros funkciókra, a kognitív folyamatokra és az endokrin rendszerre is.

A voltammetria az elektroanalitikai eljárások közé sorolható, amely jó tér- és időbeli felbontóképességgel rendelkezik és a szelektivitás terén is érzékeny módszer. Segítségével a

DA felszabadulás kinetikáját tudjuk vizsgálni in vivo körülmények között. A DA detektálásának alapja a molekula redoxi változásának hatására kialakuló elektronmozgás okozta áramerősség mérése. A voltammetriás mérőrendszer egy munkaelektrodból (egycsatornás szénszálas mikroelektrod) és egy referencia elektrodból (Ag/AgCl-elektrod) áll. Emellett, a mérések során az endogén dopamin felszabadításához egy stimuláló elektródot is használtunk.

A DA-szint változásának detektálását altatott patkányban végeztük. A ventrális tegmentális területet a stimuláló elektród segítségével körülbelül három percenként ingereltük elektromosan, ennek hatására a nucleus accumbensbe bevezetett szénszálas mikroelektrod segítségével nagy mértékű, tranziens dopamin felszabadulást detektálhattunk. Kontroll felvétele után $\alpha 7$ receptor agonista PHA-543613 vagy monoamin-visszavétel gátló sibutramine beadása történt intraperitoneálisan, majd vizsgáltuk a vegyület hatását a dopamin-felszabadulás mértékére. A mérés validálása érdekében nomifensine-t (DA visszavétel gátló) adtunk be intraperitoneálisan. A pontos DA-koncentráció értékeket az elektród utólagos kalibrálásával határoztuk meg, melyet in vitro áramlási rendszerben végeztünk. Az elektródok pontos helyzetéről később szövettani metszetek segítségével nyertünk bővebb információt.

A nomifensine hatására a vártnak megfelelően nagy mértékben és gyorsan növekedett a dopamin-csúcs. Ezzel szemben a PHA-543613 és sibutramine beadása után nem tapasztaltunk jelentősebb változást a DA-csúcsban.

Összefoglalva: vizsgálataink során egy olyan elektroanalitikai eljárást állítottunk be, amellyel újonnan előállított gyógyszerhatású vegyületek DA rendszerre gyakorolt hatása kvantitatívan meghatározható ismert referens anyagok mellett.