

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

Különböző támadáspontú kognitív teljesítményfokozó vegyületek glutamáterg és kolinerg rendszerre gyakorolt hatásának *in vivo* elektrofiziológiai vizsgálata patkány hippocampusban

PhD értekezés

Nagy Lili Veronika

Témavezető: Dr. Hernádi István

PhD, habil.

egyetemi docens

Témavezető aláírása

Iskolavezető aláírása

PÉCS, 2023

Tartalom

1. Bevezetés.....	2
2. Rövidítések jegyzéke.....	3
3. Irodalmi áttekintés.....	4
3.1. Neurokognitív zavarok.....	4
3.2. A hippocampus.....	6
3.2.1. A hippocampalis- formatio anatómiája és kapcsolatrendszere.....	7
3.2.2. A hippocampus fő neurotranszmitter rendszerei.....	9
3.3. A hippocampális plaszticitás.....	12
3.3. A neurokognitív zavarok gyógyszeres kezelése.....	16
3.4.1. A memantin.....	20
3.4.2. A kolinerg rendszer, mint lehetséges támadáspont.....	22
3.4.3. D-szerin és a D-szerin szintet befolyásoló vegyületek.....	25
3.4.4. Kombinált terápia.....	26
4. Célkitűzések.....	28
5. Anyag és módszerek.....	29
5.1. Állatok és sztereotaxiás műtét.....	29
5.2. <i>In vivo</i> extracelluláris elvezetések.....	30
5.3. <i>In vivo</i> mikrintofoforézis.....	32
5.4. Szisztémásan adott vegyületek.....	33
5.5. Lokális hatások vizsgálata és az adatok elemzése.....	35
5.6. Szisztémás hatások vizsgálata és az adatok elemzése.....	38
6. Eredmények.....	44
6.1. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek önálló és kombinált lokális hatásai.....	44
6.2. Alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyületek és a memantin önálló és kombinált szisztémás hatásai.....	51
6.3. D-szerin és DAAOI vegyületek önálló lokális és szisztémás hatásai.....	61
7. Az eredmények megbeszélése.....	66
7.1. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek önálló és kombinált lokális hatásai.....	66
7.2. Alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyületek és a memantin önálló és kombinált szisztémás hatásai.....	69
7.3. D-szerin és DAAOI vegyületek önálló lokális és szisztémás hatásai.....	72
8. Összefoglalás.....	75
9. Summary.....	79
10. Felhasznált irodalom.....	83
11. Köszönetnyilvánítás.....	103
12. Saját publikációk.....	104
13. Mellékletek.....	110

1. Bevezetés

Napjainkban növekvő tendenciát figyelhetünk meg a különböző neurokognitív hanyatlással összefüggésbe hozható betegségekben (pl.: Alzheimer-kór (AK), Pick-atrophia, frontotemporális demencia) és neurodegeneratív zavarokban (Parkinson-kór) szenvedő betegek számában. Ez a növekvő tendencia azonban nem csupán a betegek szempontjából jelent problémát, hanem jelentős mértékben érinti környezetüket, családjukat, ugyanis a betegség előrehaladtával a tünetek is egyre súlyosbodnak, ami részleges vagy mindennapos ápolást, és növekvő kiadásokat vonhat maga után (Jutkowitz és mtsai., 2017). A neurokognitív zavarokban szenvedők számának progresszív növekedése globális szintű problémának tekinthető, így a megfelelő gyógyszeres kezelések kifejlesztése, valamint a háttérben zajló patológias folyamatok megértése és feltérképezése kiemelkedő fontossággal bír a tudományos kutatások között (Morè és mtsai., 2020).

A betegségekben megfigyelhető progresszív kognitív hanyatlás vezető tünete a memóriazavar, amely magába foglalja az újabb ismeretek tanulásának nehézségét és a már meglévő ismeretek használatának zavarát egyaránt (American Psychiatric Association, 2013; Arvanitakis és mtsai., 2019). A hippocampus kulcsfontosságú szerepet játszik az absztrakt memóriakonzolidációs folyamatokban, így a hosszútávú memória létrehozásában is kiemelkedő a szerepe (Lisman és mtsai., 2017; Sekeres és mtsai., 2018). Fontos cél tehát az agykéreg, azon belül a hippocampus részletesebb megismerése *in vivo* kísérletek segítségével, különösen azért, hogy az új gyógyszerjelölt vegyületek hatásmechanizmusukat tekintve is célzottan a betegségek háttérében álló agykérgi folyamatokra hassanak. Jelen PhD dolgozat is ezt a területet vizsgálja, a hippocampuson belül a CA1-es régióban található piramissejtek válaszait már a forgalomban levő vagy preklinikai kutatásokban vizsgált gyógyszerjelölt vegyületek szisztémás és lokális adására. Jelenleg a kereskedelembe kapható gyógyszerek elsődleges hatása a különböző súlyosságú neurokognitív zavarok tüneteinek csökkentése, így a beteg életminőségének javítása (Lanni és mtsai., 2008). A gyógyítás, a lehetséges terápiás utak spektrumának bővítése kiemelt fontosságúvá vált az elmúlt évtizedekben a kognitív teljesítményfokozókkal kapcsolatos alap- és alkalmazott kutatások terén egyaránt. Ezen kutatások alap pillérét jelenthetik a rágesálókon végzett elektrofiziológiai kísérletek és viselkedés vizsgálatok, melyek segítségével egy alap képet vázolhatunk fel az egyes gyógyszerjelölt vegyületek élettani hatásaival kapcsolatban, abból a célból, hogy kutatások későbbi fázisaiba már csak a valóban hatékony és biztonságos vegyületek juthassanak tovább, valamint új adatokat szolgáltatassanak a kérgi neuronhálózatok működését illetően (Sarter, 2006).

2. Rövidítések jegyzéke

acetilkolin (ACh)

acetilkolin-észteráz inhibitor (AChEI)

Alzheimer-kór (AK)

D-aminosav-oxidáz enzim (DAAO)

D-aminosav-oxidáz enzim inhibitor (DAAOI)

enyhe neurokognitív zavarok (eNKZ)

gamma-amino-vajsav (GABA)

glicin modulációs hely (GMS)

hosszú távú (szinaptikus) depresszió (long term depression; LTD)

hosszú távú (szinaptikus) potenciáció (long term potentiation; LTP)

hosszú távú memória (long term memory; LTM)

ionotróp 5-hidroxi-triptamin-receptor (ionotróp 5-HT₃-receptorok vagy szerotonin receptor)

központi idegrendszer (KIR)

major neurokognitív zavar (mNKZ)

metabotróp glutamát receptor (mGLU-receptor)

muszkarinos ACh-receptor (mACh-receptor)

nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)

negatív alloszterikus modulátor (NAM)

nikotinos ACh-receptor (nACh-receptor)

N-metil-D-aszpartát (NMDA- receptor)

noradrenalin (NA)

obszesszív-kompulzív zavar (Obsessive-compulsive disorder; OCD)

pozitív alloszterikus modulátor (PAM)

rövid távú (szinaptikus) depresszió (short term depression; STD)

rövid távú (szinaptikus) potenciáció (short term potentiation; STP)

rövid távú memória (short term memory; STM)

α 7 típusú nikotinos ACh-receptor (alfa7 nACh-receptor)

α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolepropionik sav receptor (AMPA-receptor)

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Neurokognitív zavarok

A neurokognitív zavarok azon betegségeknek a csoportját foglalják magukba, melyek esetében elsődlegesen valamilyen kognitív domén, kognitív funkció károsodása áll fenn. Ezeken kívül a patológiás személyiségváltozás bizonyos tünetei is megjelenhetnek, például érdektelenné és szociálisan visszahúzódóbbá válhat az egyén. A kognitív hanyatlás hátterében állhat valamilyen neurodegeneratív betegség, de különböző kognitív funkciókat érintő hibás működések előfordulhatnak pszichiátriai kórképek esetében is pl.: skizofrénia, major depresszív zavar. Amit viszont fontos kiemelni, hogy a neurokognitív zavarok nem a születés, vagy a korai mentális fejlődés során alakulnak ki, hanem az életkor előrehaladtával felnőtt vagy idős korban, így súlyosságtól függően időbeli romlás tapasztalható a korábbi kognitív működésekhez képest (American Psychiatric Association, 2013; Sachdev és mtsai., 2015).

A neurokognitív zavarokon belül súlyosság alapján megkülönböztetjük a major neurokognitív zavarokat (mNKZ), valamint az enyhe neurokognitív zavarokat (eNKZ). Itt fontos megjegyeznünk, hogy a DSM-5 (The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition) a „demencia” kifejezést meghaladva vezette be a „major neurokognitív zavar” kifejezést, de a két fogalom között szoros kapcsolat és átfedések találhatóak, mely alapján szinonimaként használható a két kifejezés (American Psychiatric Association, 2013; Sachdev és mtsai., 2015).¹

A major neurokognitív zavarok (demenciák) esetében egy vagy több kognitív domén (összetett figyelem, végrehajtó funkció, tanulás és memória, nyelv, perceptuális motoros vagy szociális kogníció) hibás működése áll fenn, olyan mértékben, hogy az már akadályozza a mindennapi tevékenységekkel kapcsolatos önállóságát az érintett személynek. Például, a mindennapi életvitel olyan rutinszerű, de komplex tevékenységei során is már segítség szükséges, mint például a számlák kifizetése vagy a gyógyszerelés. Az mNKZ-ok kialakulásához számos betegség vezethet, azonban az öregedéssel természetes módon együtt járó kognitív teljesítménycsökkenést nem sorolhatjuk a kóros állapothoz (Petersen és mtsai., 1997). A leggyakoribb demenciát okozó betegségeken kívül (AK, Lewy-betegség, Pick-betegség, Huntington-kór vagy a Parkinson-kór) számos más oka lehet az mNKZ kialakulásának (Cacabelos és mtsai., 1999; Gomperts, 2016; Kane és mtsai., 2018; McColgan & Tabrizi, 2018; Salardini, 2019). Fontos megemlítenünk az érederetű (vaszkuláris)

¹ A dolgozatban a legtöbb helyen a súlyos neurokognitív zavar kifejezést használjuk, de azokban az esetekben, ahol a fogalmak közötti váltás nehezítené a szakirodalmi utalások megértését, megtartottuk a demencia kifejezést.

demenciákat, mivel az AK után a cerebrovasculáris betegségek okoznak a második legnagyobb arányban demenciát (O'Brien & Thomas, 2015; Salardini, 2019). Továbbá ide sorolhatunk különböző fertőző betegségeket is (pl.: AIDS – HIV asszociált neurokognitív betegség, bakteriális meningitis, neuroszifilisz, vírusencephalitis), a prionbetegség leggyakoribb formáját a Creutzfeldt-Jakob betegséget, anyagcserével kapcsolatos megbetegedéseket (pl.: dialízis demencia, tranziens globális amnesia, hipothyreosis), bizonyos hiánybetegségeket (pl.: Wernicke-Korsakow-szindróma, B12-vitamin hiány), valamint például a hippocampus szklerózist, mely betegség a hippocampus szelektív sejtpusztulásával és gliózissal járó patofiziológiával jellemezhető (Amador-Ortiz & Dickson, 2008; Arena & Rabinstein, 2015; Berger & Dean, 2014; Clifford & Ances, 2013; Dunea, 2001; Moore és mtsai., 2012; Uttley és mtsai., 2020; Wijnia, 2022).

A neurokognitív zavarok következő nagy csoportját az eNKZ-ok alkotják, mely tünetei között megemlíthetjük a memóriazavart, exekutív működészavart, a figyelem- vagy információfeldolgozás sebességének zavarát, perceptuális-motoros képességek zavarát, nyelvi kifejezés zavarát (pl.: beszédmegértés, megfelelő szavak megtalálása). Fontos különbség a mNKZ-hoz képest, hogy az eNKZ-ok esetében a kognitív deficitek nem akadályozzák a mindennapi tevékenységekkel kapcsolatos önállóságát az érintett személynek (American Psychiatric Association, 2013; Sachdev és mtsai., 2015). Az eNKZ-ok egy viszonylag újonnan leírt szindróma, amely a normál öregedés és például az AK korai stádiuma között helyezkedik el (Elias és mtsai., 2000; Hugo & Ganguli, 2014; Petersen és mtsai., 1997; Sachs-Ericsson & Blazer, 2015). A szindróma tünetei közé általános memóriapanaszok sorolhatók, de ezek mellett megtartott a napi aktivitás, és normális kognitív funkciók jellemzik az egyént. Az eNKZ-ral diagnosztizált betegek esetében neuropszichológiai tesztek és funkcionális képalkotó eljárások segítségével kimutattak egy általános diszfunkciót, amely a frontális lebenyt, a bazális ganglionokat, valamint a neocortexet érinti (Fabrigoule és mtsai., 1998). Egy másik fontos diagnosztikai adat a hippocampus kezdetleges leépülésének ténye (Petersen és mtsai., 1997). Mind a tüneti hasonlóság, mind az érintett agyterületek alapján az eNKZ háttérében álló folyamatok mechanizmusának részletesebb megismerése és megértése fontos kiindulópont lehet a neurodegeneratív betegségek következtében kialakuló mNKZ terápiás kezelésében, valamint fontos kiindulópontja lehet az egyes betegségek korai felismerésének (Cavallo és mtsai., 2016).

Memóriefunkciók a neurokognitív zavarokban

A neurokognitív zavarok esetében számos kognitív domén érintett lehet, de az elsődleges tünetek közé a memóriefunkciók romlása sorolható (Lanni és mtsai., 2008). A különböző típusú emléknymok (például rövid vagy hosszú távú emlékek) kialakításának képessége a csigáktól az emberig megfigyelhető jelenség a többsejtű szervezetekben. A memória különböző fajtáiban és egymástól evolúciós szempontból is távol álló fajok között, mint például a muslicák, tengeri csigák, csigák, madarak és emlősök esetében, többnyire ugyanazok az alapvető molekulák játszanak szerepet a tanulás alap folyamataiban, ami arra utal, hogy a memória molekuláris mechanizmusa széles körben konzerválódott a Földön (Lanni és mtsai., 2008). Ezen jelenség szintén nagy mértékben elősegíti a rágcsálókön végzett kísérletek transzlálhatóságát a megfelelő modellek segítségével.

A memóriefunkciókat több módon is csoportosíthatjuk: az emlékek megtartásának időbelisége alapján (rövid távú memória (rövid távú memória (short term memory; STM) és hosszú távú memória (LTM), az eltárolt információ természeté alapján (deklaratív vagy explicit és nem deklaratív, azaz implicit memória) (Graf & Schacter, 1985; Rosenzweig és mtsai., 1993). Az explicit memóriához köthető emléknymok létrejöttének folyamatában különböző lépéseket, alfolyamatokat tudunk elkülöníteni: a kódolás, ami az új információ előkészítése az idegrendszer által tárolható formába, a konszolidáció, ami a rövid távú, labilis emléknym stabilizálása, sejtaktivitástól való függetlenítése, LTM-be való átírása, a tárolás, a visszahívás, ami a különböző központi idegrendszeri (KIR-i) területeken tárolt információk integrálása, visszaalakítása sejtaktivitási mintázatokba (Lanni és mtsai., 2008).

Mindegyik lépés fontos szereppel bír az emléknymok létrejöttének folyamatában. Kísérletes úton bizonyították, hogy az egyes lépések eltérő KIR területekhez köthetők, pl.: a kezdeti feldolgozás és a tárolás a neocortex működésével kapcsolható össze (Jung és mtsai., 2008; Mecklinger, 2010; Otani és mtsai., 2015; Rothschild, 2019; Schwindel & McNaughton, 2011; Takehara-Nishiuchi, 2014).

3.2. A hippocampus

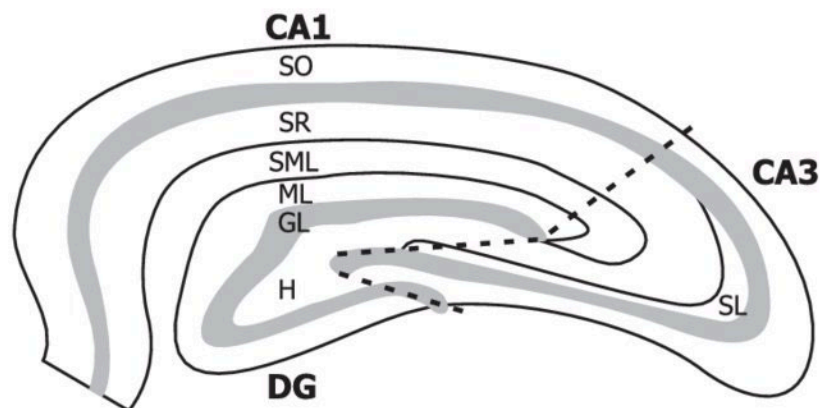
A hippocampus a limbikus rendszer egyik központi része, pontosabban a hippocampális-formatio: hippocampus, indusium griseum és az area subcallosa KIR területekkel kiegészülve (Moser & Moser, 1998). Fontos archicorticalis agyi struktúra, amely részt vesz a veleszületett, emocionális és szexuális magatartásformák integrációjában, kapcsolatba hozható a külvilág információinak feldolgozásával, valamint kiemelkedő szerepe van az emlékezés folyamatában (Fanselow & Dong, 2010). Az emlékezésben betöltött központi

szerepére akkor derült fény, mikor az 1950-es években epilepsziában szenvedő betegek kezelése során terápiás célból sebészileg eltávolították a mediális temporális lebeny egészét vagy részeit, így a hippocampust is. Az első leghíresebb H.M. esete volt, akinek sebészileg bilaterálisan távolították el a hippocampális- formatio és az amygdala területét (Annese et al., 2014; Corkin, 2002; Corkin et al., 1997; Milner et al., 1968; Scoville & Milner, 1957; Winter, 2018). A műtét után felépülő betegek képesek voltak korábbi emléknymaik előhívására, felidéztek régebbi emlékeiket, valamint birtokában voltak begyakorolt készségeiknek. Ezzel szemben képtelenek voltak új emléknymokat tárolni a hosszú-távú memóriájukba, így nem ismerték fel később az egy nappal korábban megismert új ismerőseiket, vagy ugyanazt az újságot többször is kiolvasták, anélkül, hogy bármire emlékeztek volna tartalmából. Ez alapján régebbi emléknymaik feltehetőleg már más agykérgi területeken tárolódtak és a hippocampustól függetlenül is előhívhatók voltak. Ezek az emléknymokon már lejátszódott a memóriakonszolidáció folyamata (Corkin, 2002; Rausch, 2002). Az általunk is vizsgált hippocampális CA1-es régió memóriában betöltött pótolhatatlan szerepére is fény derült, amikor egy stroke után a kórházba kerülve, R.B. nevű beteg H.M.-hez hasonló tüneteket mutatott, bár enyhébb formában. Későbbi vizsgálatok során kiderült, hogy R.B. esetében az agyi iszkémiás roham okozta következményes sejtpusztulás a hippocampus CA1-es régiójának piramissejtjeit érintette (Zola-Morgan és mtsai., 1986).

3.2.1. A hippocampális- formatio anatómiája és kapcsolatrendszere

A humán és a rágcsáló hippocampális- formatioban egyaránt, négy fő, viszonylag egyszerű struktúrájú archicorticális területet különíthetünk el: a gyrus dentatust, a cornu Ammonist (ezt De Lorente nyomán az alábbi alterületekre oszthatjuk: CA4, CA3, CA2, CA1), a subicularis cortexet (ezen belül szintén három kisebb részt tudunk elkülöníteni: subiculum, parasubiculum, presubiculum), valamint az entorhinális cortexet (Amaral & Witter, 1989; Lorente, 1934). Az entorhinális kéregből ered a hippocampus egy fontos bemenete, a perforáns pálya, amely az entorhinális kéreg II. rétegét köti össze a gyrus dentatussal és a hippocampus CA3-as régiójával. A CA3-as régió speciális axonkollaterálisain, a Schaffer-kollaterálisokon keresztül kapcsolódik a CA1-es régióhoz (A Schaffer-kollaterális elnevezés Schaffer Károly nevéhez köthető, aki a magyar idegkórszövettani iskola megteremtője volt). A CA1-es régió piramissejtjei reciprok kapcsolatban vannak az entorhinális cortex mélyebb rétegeivel (IV.-V.), és a subicularis cortex neuronjaival. Az efferens axonok ezen kívül az ellenoldali hippocampális sejtekkel is kapcsolatban vannak, valamint a septális magokkal egyaránt (septo-hippocampális pálya) (Amaral & Witter, 1989; Freund, 1992; Moser & Moser, 1998; Schultz & Engelhardt,

2014). A hippocampusban az egyedfejlődés során különböző sejtrétegek és sejtípusok alakulnak ki a funkcionalitásnak megfelelően (Förster és mtsai., 2006). A struktúrára jellemző jellegzetes sejtípusok között megemlíthetjük a piramissejteket, a szemcsesejteket (granuláris sejtek) és az interneuronokat. A hippocampális- formatio jellegzetes réteges szerkezettel jellemezhető, amely a principális sejtek dendritfájának párhuzamos elrendeződése és a különböző afferens és efferens pályarendszerek szerkezete miatt alakult ki (**1. ábra**). A hippocampális- formatio fontosabb szerkezeti rétegei: gyrus dentatus (DG), stratum oriens (SO), stratum pyramidale (SP), stratum radiatum (SR), stratum lacunosum-moleculare (SLM), molekuláris rétege a gyrus dentatusnak (ML), granuláris sejtek rétege (GL), gyrus dentatus hilusa (H), stratum lucidum (SL). A cornu Ammonis principális sejtjei a nagyméretű piramissejtek, melyek egy sorban helyezkednek el. A piramissejtek sejttestjei hozzák létre a stratum pyramidale-t, majd apikális dendritjeik a stratum radiatumba, majd a stratum lacunosum-moleculare-ba futnak. Bazális dendritjeik pedig a stratum oriens rétegében végződnek. Az alveus réteg a hippocampus efferens axonjait tartalmazza, melyek később a fimbriát, majd a fornixot fogják alkotni. A gyrus dentatus szemcsesejtjei több rétegben elhelyezkedő, kisebb méretű idegsejtek. Dendritfájuk a stratum moleculare rétegében található, melyen nagyrészt az entorhinális kéreg idegsejtjeivel létesít szinaptikus kapcsolatot. (Amaral & Witter, 1989; Buzsáki, 1996; Mercer & Thomson, 2017).



1. ábra

*A patkány hippocampális- formatio anatómiai szerkezete
(Ludkiewicz és mtsai., 2002)*

3.2.2. A hippocampus fő neurotranszmitter rendszerei

A hippocampus funkciói számos neurotranszmitter rendszer összehangolt működése segítségével valósulhatnak meg. Ebből az is adódik, hogy a különböző transzmitter rendszerekhez köthető ligandok eltérő hatással vannak a hippocampális neuronok aktivitására. A legfőbb neuronális modulátorai a hippocampális formationnak a glutamát, a gamma-amino-vajsav (GABA), acetilkolin (ACh), noradrenalin (NA), szerotonin (5-HT) (Vizi & Kiss, 1998). De ezeken kívül számos más endogén neuroaktív anyagról, molekuláról kimutatták már a hippocampus működésében betöltött szerepét, a teljesség igénye nélkül pl.: neuropeptidek, ATP, ösztrogén hormonok (Beck & Pourié, 2013; de Mendonça & Ribeiro, 1996; Inoue, 1998; Lathe, 2001; Shughrue & Merchenthaler, 2000; Vizi & Kiss, 1998).

A KIR többi cortikális régiójához hasonlóan a hippocampus legfőbb neuronpopulációját (körülbelül 90%-át) a glutamáterg principális sejtek adják (piramissejtek és granuláris sejtek) (Vizi & Kiss, 1998). Számos irodalmi adat alapján kijelenthetjük, hogy glutamát iontoforetikus adásának hatására a hippocampus piramissejtjei gyors tüzelési frekvencia növekedéssel válaszolnak (Biscoe & Straughan, 1966; Dodd és mtsai., 1981). Elmondható, hogy a glutamát a KIR legfőbb serkentő hatású neurotranszmittere, így nagyon fontos, hogy megfelelő koncentrációban legyen jelen a célterületén (Zhou & Danbolt, 2014). A neurodegeneratív betegségek során számos gyulladáshoz vezető folyamat jön létre, mely folyamatokhoz köthető például a glutamáterg receptorok túlzott aktivitása következtében létrejövő excitotoxicitás okozta sejthalál (Hynd és mtsai., 2004; Iovino és mtsai., 2020; Lau & Tymianski, 2010). A glutamáterg rendszerhez négy fő receptortípus tartozik: α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-izoxazolepropionsav receptor (AMPA-receptor), kainát-receptor, N-metil-D-aszpartát (NMDA-receptor), metabotróp glutamát receptor (mGlu-receptor) (Collingridge & Abraham, 2022). A nyolc mGlu-receptor altípusból az alábbiak expresszálódnak a hippocampus területén: mGlu1,2,3,5,7 receptor. Ezek mindegyike fontos szereppel bír a hippocampuson belüli szinaptikus plaszticitás folyamatában (Senter és mtsai., 2016).

A négy fő glutamáterg rendszerhez köthető receptortípus mindegyike kiemelkedő szerepet játszik a szinaptikus plaszticitás folyamatában (részletesebben lásd 3.3. fejezet, A hippocampális plaszticitás). A disszertációban, a kísérleteknek megfelelően az NMDA-receptorok és a nikotinos ACh-receptor (nACh-receptor) lesznek részletesebben bemutatva.

Az NMDA-receptorok heterotetramer szerkezetűek, általában kettő NR1 és kettő NR2 alegységből épülnek fel, de vannak NR3 alegységet tartalmazó receptorok is. Mind a három alegységnek különböző splice variánsait tudjuk elkülöníteni a KIR különböző területein vagy az idegrendszer fejlődésének és érésnek a különböző fázisaiban (Collingridge és mtsai., 2013;

Molnár, 2008). Maguk a receptorok ionotróp receptorok, a receptort felépítő két NR1 alegység alkotja meg a receptor ioncsatorna részét, mely nyitott állapotban kationcsatornaként működik, leginkább a Ca^{2+} áteresztő képessége nagy (Lau & Tymianski, 2010). Az NMDA-receptorok egy különleges tulajdonságának számít, hogy annak Ca^{2+} csatornáját nyugalmi helyzetben egy Mg^{2+} ionokból álló Mg^{2+} blokk vagy más néven Mg^{2+} dugó elzárja. Így az NMDA-receptoron keresztüli Ca^{2+} influx csak a Mg^{2+} dugó eltávolítása után lesz lehetséges, mely egy adott membránpotenciálon (körülbelül -35mV-os hipopolarizáció) következik be (Lisman és mtsai., 2002; Nowak és mtsai., 1984). Egy másik fontos és jellegzetes tulajdonsága az NMDA-receptoroknak, hogy a glutamát kötő hely mellett (NR2 alegység) található rajtuk egy koagonista kötőhely is, melyet glicin modulációs helynek is hívnak (GMS), ahova két endogén aminosav a glicin vagy a D-szerin bekötődése lehetséges (Collingridge és mtsai., 2013; Le Bail és mtsai., 2015). Az eddigieket összefoglalóan három fő folyamatnak kell létrejönnie az NMDA-receptor funkcionális működéséhez: 1) glutamát kötődése az NR2 alegységhez; 2) poszt-szinaptikus depolarizáció, amely feloldja az ioncsatorna Mg^{2+} blokkját; 3) glicin vagy D-szerin kötődése a GluN1 alegység glicin modulációs helyén (GMS) (Paoletti & Neyton, 2007).

A hippocampusban glutamáterg principális (piramis-) sejtek mellett található idegsejtek körülbelül 10%-a GABAerg interneuron (Freund & Buzsáki, 1998; Pelkey és mtsai., 2017). A GABAerg interneuronok legnagyobb arányban a glutamáterg pirincipális sejtekkel vannak kapcsolatban, de bizonyos részük interneuronokkal, így a kis sejtszám ellenére, ez a változatos neuronpopuláció a hippocampális működéseken belül, gyakorlatilag minden fontos lépésben meghatározó szerepet játszik, valamint a hippocampus prenatális fejlődésében és érésében is kiemelkedő szereppel bírnak (Kullmann, 2011; Pelkey és mtsai., 2017). Jelenleg 15 fő interneuron típust tudunk elkülöníteni, melyek embrionális eredet, anatómia, tüzelési mintázat, feszültség függő csatornáik, ligand függő csatornáik, funkció és kapcsolatrendszerük alapján is elkülönülnek (Pelkey és mtsai., 2017).

A glutamát és a GABA főleg szinaptikus jelátvitelben vesznek részt, ezzel szemben pl.: a kolinerg axon terminálisok a nem szinaptikus jelátvitelben jelentősek (Vizi & Kiss, 1998). Acetilcolin adására is tüzelési frekvencia növekedéssel válaszolnak a sejtek a glutamáthoz hasonlóan, azonban ez a növekedés lassabban alakul ki és tovább tart az iontoforetikus áram kikapcsolása után (Ben-Ari és mtsai., 1981; Cole & Nicoll, 1984). Az acetilcolin érzékeny sejtek nagy számban megtalálhatóak a hippocampus területén, és fontos szerepet játszanak az epizódikus és a szemantikus memória kialakításában, valamint a hippocampus területén lezajló felnőttkori neurogenesis szabályozásában (Haam & Yakel, 2017; Hasselmo, 2006; Hasselmo & Sarter, 2011; Madrid és mtsai., 2021). A hippocampus kolinerg szabályozásának

fő kiindulópontja a mediális septum területe, melyről elektrofiziológiai kísérletek segítségével bizonyították, hogy nem csupán a neuronok tüzelési aktivitásának, de rendszerszinten a hippocampális theta oszcillációk szabályozásában is fontos szerepe van (Dannenberg és mtsai., 2015). A hippocampus CA1-es régiójába, az ACh-nak fontos szerepe a Schaffer-kollaterális útvonal erősítése, a piramissejteken és GABA-erg interneuronokon található alfa7 típusú nikotinos ACh-receptorokon (alfa7-nACh-receptor) keresztül (Fujii és mtsai., 1999, 2000; Leão és mtsai., 2012; Mann & Greenfield, 2003; Nakauchi és mtsai., 2007). Ezen eredményekben van egy bizonyos mértékű ellentmondás, például több tanulmány azt mutatta ki, hogy a Schaffer-kollaterális útvonalat gátolja az ACh (Dasari & Gullledge, 2011; Hasselmo & Schnell, 1994; Herreras és mtsai., 1988; Mans és mtsai., 2014). Ennek a különbségnek az egyik magyarázata lehet, hogy az ACh szinaptikus plaszticitásra gyakorolt hatása időzítésfüggő. Vagyis attól függően, hogy a kolinerg bemenet a hippocampus CA1-es régiójába milyen időzítéssel történik a glutamáterg hatásokhoz képest, létrejöhet LTP (hosszú távú szinaptikus potenciáció) vagy STD (rövid távú szinaptikus depresszió) (Gu & Yakel, 2011; Haam & Yakel, 2017; Ji és mtsai., 2001). Az ACh hatása attól is függ, hogy melyik receptor típust vagy altípust aktiválja (Bell és mtsai., 2013). A kolinerg rendszerhez köthető két fő receptortípus tartozik: a ligandaktivált ioncsatorna nACh-receptor és a ligandaktivált G-proteinhez kapcsolt muszkarinos ACh-receptor (mACh-receptor), melyek közül mindkettő megtalálható a hippocampus területén (Albuquerque és mtsai., 2009; Haam & Yakel, 2017).

A nACh-receptorok öt alegységből álló, excitátoros kation csatornák, aktivációjuk a sejtmembrán depolarizációját eredményezi (Albuquerque és mtsai., 2009). A nACh-receptorokról általánosan elmondható, hogy áramáteresztő képességük nagymértékű feszültségfüggéssel jellemezhető, valamint jellemző tulajdonságuk, hogy a Na^+ és K^+ ionokon kívül, Ca^{2+} ionokra is permeábilis kation csatornák lehetnek (Dani & Bertrand, 2007). Az alegységfehérjék számos alcsoportra bonthatók (pl.: alfa7 alegység, béta2 alegység). A funkcióval bíró ACh-receptorok legalább két alfa alegységből és egy másik, általában béta alegységből épülnek fel. A legtöbb receptor így heteromer szerkezetű, azonban vannak működőképes homomer, csak alfa alegységekből felépülő nACh-receptorok egyaránt. Ilyen homomer receptorok kialakításáért leggyakrabban az alfa7-es alegység a felelős, mely receptortípus az általunk vizsgált két vegyület támadáspontja is (Albuquerque és mtsai., 2009). A nACh-receptorok természetes ligandjának, az ACh-nak a kötőhelye az alfa és a béta alegységek között helyezkedik el, ezen kötőhelyhez különböző agonisták és kompetitív antagonisták eltérő affinitásokkal egyaránt kapcsolódhatnak. Emellett különböző alloszterikus kapcsolódási helyek is találhatóak a receptoron, ahova pozitív alloszterikus modulátorok

(PAM) vagy negatív alloszterikus modulátorok kapcsolódhatnak (NAM) (Dani & Bertrand, 2007). Előfordulásuk tekintve többféle sejtípuson is megtalálhatóak, így a hippocampusban található piramissejteken és interneuronokon egyaránt (Dani & Bertrand, 2007).

A kolinerg rendszer jelentőségét mutatja például az AK esetében, hogy már a betegség korai szakaszában kimutatta számos tanulmány a kolinerg rendszer elhalását a bazális előagy területén (Grothe és mtsai., 2010, 2012; Teipel és mtsai., 2014). A humán vizsgálatokon kívül számos rágcsálókön végzett kísérlet is bizonyítja a kolinerg rendszer nem megfelelő működésének jelentős hatását a hippocampus működésének tekintetében patofiziológiai és funkcionális szempontból egyaránt (Berger-Sweeney és mtsai., 2001; Blokland és mtsai., 1992; Kantar és mtsai., 2022; Opello és mtsai., 1993; Roloff és mtsai., 2007). Például kimutatták, hogy a medialis szeptumból a hippocampus felé tartó kolinerg projekciók száma jelentősen csökken az AK-ban szenvedő betegek esetében, valamint AK egérmodellben egyaránt (Belarbi és mtsai., 2011; Davies & Maloney, 1976). További megerősítő példa a kolinerg rendszer hippocampus működésében betöltött szerepére, hogy a kolinerg receptorok számának csökkenése a területen AK-s, memória diszfunkciós betegeknél (Parent és mtsai., 2013; Shiozaki és mtsai., 2001).

3.3. A hippocampális plaszticitás

Az ideghálózatok kialakulása és módosulása alapvető fontosságú a normális agyműködés szempontjából. Különösen jelentős ezen plaszticitás szerepe a memóriafolyamatokban, mivel a tanulási folyamatok létrejöttéhez elengedhetetlen feltétel, hogy az agy képes legyen finom strukturális átrendeződésre a szinapszisok szintjén. Ez az átrendeződés, a szinapszisok szintjén magába foglalja a szinapszisok számának változását, valamint maguknak a szinapszisoknak a típusában bekövetkező változásokat egyaránt (Magee & Grienberger, 2020). A humán, valamint patkányagról egyaránt kijelenthető, hogy hippocampus területén lezajló sejt- és molekuláris mechanizmusok igen fontos szereppel bírnak az információfeldolgozás folyamatában és az elemi tanulási folyamatokban egyaránt (Martin és mtsai., 2000).

A sejtekben és a sejtek között lezajló szinaptikus változásokhoz köthető folyamatok különböző mértékben tekinthetők tartósak, így maguk a szinaptikus változások lehetnek rövid idejűek: rövid távú szinaptikus potenciáció (STP) vagy rövid távú szinaptikus depresszió (STD), hosszú idejűek, amelyek esetében órákig vagy napokig is tarthat a folyamatban résztvevő idegsejtek könnyebb serkentetősége: hosszú távú szinaptikus potenciáció (LTP) vagy gátolhatósága: hosszú távú szinaptikus depresszió (LTD) (Magee & Grienberger, 2020). Az LTP

modelljét a memóriához köthető folyamatokon belül a kezdeti kódolás és tárolás, valamint az emlényomok konszolidációjának kezdeti fázisaihoz kötik leginkább. Azonban a visszahívás folyamatában valószínűleg nem vesz részt (Martin és mtsai., 2000).

Bliss és Lomo az LTP jelenségét először a hippocampus perforáns pályáján mutatták be, de később a hippocampus részeit összekötő más területeken (pl.: Schaffer-kollaterálisok) is létre tudták hozni az LTP jelenségét, valamint a KIR egyéb, hippocampushoz nem köthető pályáin (Berry és mtsai., 1989; Bliss & Lomo, 1973; Martin és mtsai., 2000; Teyler, 1989). A jelenség lényege, hogy ha az afferens idegroston nagy frekvenciás sorozatingerlést alkalmazunk, akkor a későbbiekben egy-egy egyszeres ingerrel nagyobb amplitúdójú és meredekségű EPSP-ék (excitátoros posztszinaptikus potenciál) válhatnak ki, mint az első sorozatingerlés előtt (Nicoll, 2017). Az LTP-vel ellentétesen, de komplementer módon működő LTD jelensége is ugyanolyan fontos, mint az LTP-é, mivel a két folyamat együtt funkcionál a legnagyobb hatékonysággal, együtt képesek javítani a szinaptikus súlyok jel/zaj arányán, ezzel elősegítve az emlékezés megfelelő működését (Martin és mtsai., 2000).

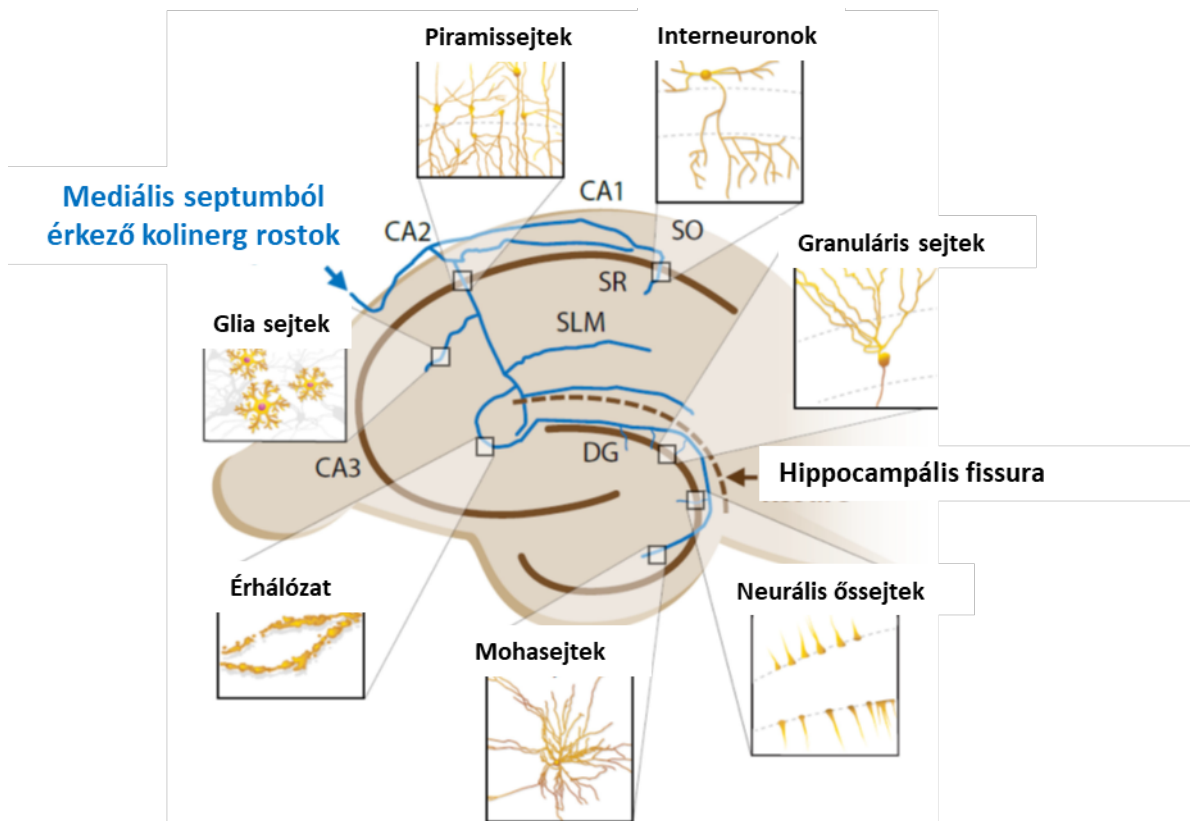
A plaszticitás szinaptikus szintjén számos neurotranszmitter, neuromodulátor közvetve vagy akár közvetlenül is szerepet játszik az idegrendszeri változások kialakulásért (Palacios-Filardo & Mellor, 2019). A glutamáterg rendszer szinaptikus plaszticitásban betöltött szerepére bizonyítékul szolgálhat Collingridge és mtsai. kísérlete, melyben hippocampális agyseleteken sikerült gátolni az LTP kialakulását egy NMDA-receptor antagonistá vegyület, az AP-5 segítségével (Collingridge & Singer, 1990). Morris és mtsai. (1986) szintén az AP-5 hatását vizsgálták patkányok vízi útvesztőben (Morris-féle vízi labirintus) nyújtott teljesítményére. Eredményeik alapján az NMDA antagonistá AP-5 rontotta a patkányok térbeli memóriáját (Morris és mtsai., 1986). Az NMDA-receptorok jellegzetes tulajdonságának, a Mg^{2+} blokk LTP kialakulásában való részvételétől függően, megkülönböztetünk NMDA-függő LTP-t és NMDA-független LTP-t. Az NMDA-függő LTP-re jó példa a perforáns pályán és a Schaffer-kollaterálison kialakuló LTP, míg a moharostok szakaszán létrejövő LTP nem NMDA-függő (Harris & Cotman, 1986; Jay és mtsai., 1995; Zalutsky & Nicoll, 1990). Az NMDA-függő LTP esetében a szükséges hipopolarizált membrán kialakítására többféle lehetőségük is van a posztszinaptikus neuronoknak. Például egy másik axonról származó ingerület segítségével, vagy a posztszinaptikus oldalon található AMPA-receptorok egy idejű, nagy mértékű aktivációjával (Lisman és mtsai., 2002). Az NMDA-receptorok szinaptikus aktivitásban betöltött szerepe és helye alapján elkülönítünk szinaptikus és extraszinaptikus elhelyezkedésű NMDA-receptorokat. A két receptorcsalád eltérő szerepet játszik a szinaptikus plaszticitás kialakításában, az LTP és LTD-hez vezető szignalizációban és a

proapoptotikus folyamatok szabályzásában egyaránt (Xia és mtsai., 2010). Az NMDA-receptorokon kívül az AMPA-receptorok szerepe is kitüntetett. Az AMPA-receptorok exocitózisának gátlásával elősegíthető a hippocampális LTD létrejötte patkány hippocampus sejt kultúrán vizsgálva (Fujii és mtsai., 2018).

A hippocampális LTP modulálásban fontos szerepet tölt még be az acetilkolin, a noradrenalin, a dopamin és a szerotonin is (Palacios-Filardo & Mellor, 2019). A kolinerg rostok a hippocampusba a mediális septum területéről érkeznek, aktivitásukat befolyásolja az arousal (általános agyi aktivációs szint, a szervezet éberségi, gerjesztettségi állapota) és az elsődleges megerősítő válaszok (Hangya és mtsai., 2015; Teles-Grilo Ruivo és mtsai., 2017). A hippocampus kolinerg beidegzésének összefoglaló ábrája Letsinger és mtsai. nyomán készült (2. ábra) (Letsinger és mtsai., 2022). A hippocampus területén az ionotróp receptorok közül az alfa4béta2 nACh-receptor, alfa3béta4 nACh-receptor és alfa7 típusú nACh-receptorokat aktiválja, míg az mACh-receptorokon belül az M1-M4 típusúakat. Az ezeken a receptorokon keresztül aktivált útvonalak nagy része NMDA-receptor aktivációt idéző különböző mechanizmusokon keresztül (Palacios-Filardo & Mellor, 2019). Például az M1 típusú mACh-receptorok feszültség aktivált és kalcium aktivált kálium csatornák gátlásán keresztül váltja ki az acetilkolin NMDA-receptor aktivációját (Buchanan és mtsai., 2010; Giessel & Sabatini, 2010; Losonczy és mtsai., 2008; Petrovic és mtsai., 2012). Míg a nACh-receptorok közül a homomer alfa7 alegységből felépülő receptortípus bizonyítottan fontos szerepet tölt be a hippocampális plaszticitás alapját képező glutamáterg neurotranszmisszióban (Li és mtsai., 2013). Az alfa7 nACh-receptorok legnagyobb számban preszinaptikus idegvégződéseken helyezkednek el ezeken keresztül szabályozzák GABAerg interneuronok és a CA1-es régió piramis sejtjeinek transzmitter-felszabadulását (Alkondon és mtsai., 1996; Gray és mtsai., 1996; Ji és mtsai., 2001). A piramissejteken található alfa7 nACh-receptorok aktiválása nikotin adásán keresztül elősegítik az LTP indukcióját a hippocampus CA1 régiójában (Nakauchi & Sumikawa, 2012; Söderman és mtsai., 2011). A két transzmitterrendszer kapcsolatának meglétére bizonyítékul szolgálhat még Lagostena és mtsai. egyik kísérlete, amelyben bizonyították, hogy az alfa7 nACh-receptor agonista S-24795 megfelelő dózisban való adása erősíti a Schaffer-kollaterálison kiváltott LTP-t is (Lagostena és mtsai., 2008).

Továbbá a preszinaptikusan elhelyezkedő alfa7 nACh-receptorok aktiválásával fokozható a glutamáterg szinapszisok aktivitása a hippocampus agyszeleteken (Radcliffe & Dani, 1998). A nACh-receptorok aktiválása nagyobb mértékű Ca^{2+} felszabadulás segítségével szerepet játszhat ezen receptorok tüzelési aktivitásának növekedésében. Számos fiziológiai

esemény növelheti az intracelluláris Ca^{2+} -szintet, például az NMDA-receptorok aktivitásának serkentése (Griguoli és mtsai., 2009). A preszinaptikus facilitáció mellett posztzinaptikus erősítésre is képesek a nACh-receptorok, például a hippocampus területén a nikotin a szinaptikus glutamáterg neurotranszmisszió mértékét képes fokozni (Sharma & Vijayaraghavan, 2003). Halff és mtsai. munkája nyomán a nikotin az alfa7 nACh-receptorokon keresztül képes növelni és stabilizálni a GluA1 alegységet tartalmazó AMPA-receptorok számát hippocampális neuronok dendrit tüskéin (Halff és mtsai., 2014). Továbbá, az NMDA-receptor antagonisták adása során kimutatták, hogy ezen vegyületek befolyásolni tudja a nikotin függőséggel kapcsolatban a toleranciát, a szenzibilizációt, a fizikai függőséget és a nikotin-önadagolással kapcsolatos kondicionális folyamatokat (Trujillo & Akil, 1995). Papouin és mtsai. egy közvetlen útvonalat írtak le a kolinerg rendszer NMDA-receptor működés moduláló hatásának, kimutatták a hippocampusban található asztrocitákról, hogy a rajtuk elhelyezkedő alfa7 nACh-receptorok aktiválása az extracelluláris D-serin szint növelését eredményezi, így fokozva az NMDA-receptorok aktivitását, így LTP indukáló hatás tulajdonítható a folyamatnak (Papouin és mtsai., 2017). A glutamáterg transzmisszió alfa7 nACh-receptorok általi szabályozása a hippocampus területén széleskörűen kutatott terület volt az elmúlt évtizedben, több szinten és útvonalon sikerült kimutatni az alfa7 nACh-receptorok szabályozó működését. Így a két transzmitterrendszer (glutamáterg és kolinerg) összehangolt működése kulcsfontosságú szerepet tölt be az elemi tanulási folyamatokban, érintettek lehetnek a megváltozó szinaptikus hatékonyság kialakulásában (Cheng & Yakel, 2015; Koukouli & Maskos, 2015; S. Li és mtsai., 2013).



2. ábra

A hippocampus innervációja a mediális septumból származó kolinerg projekciós neuronokon keresztül. A két vonalak a mediális septumból származó hipotetikus kolinerg projekciós neuron axonjait ábrázolják, amelyek a hippocampus különböző régióit innerválják. Mindegyik doboz a hippocampusra jellemző valamelyik sejtípust ábrázolja a lehetséges helyén. A bal felső barna vonal a piramidális réteget (a piramissejtek sejttestjei), míg a jobb alsó barna vonal a molekuláris réteget (a szemcsesejtek sejttestjeit) jelöli. (CA1, 2 és 3 - Cornu Amonis 1, 2 és 3; DG - gyrus dentatus; SO - stratum oriens; SR - stratum radiatum; SLM - stratum lacunosum-moleculare (Letsinger és mtsai., 2022)

3.3. A neurokognitív zavarok gyógyszeres kezelése

A kognitív teljesítmény javításának a neurokognitív zavarok esetében, és a teljesítmény fokozásának egészséges emberek esetében széles körű irodalma és változatos formái vannak a számítógépes kognitív feladatoktól kezdve, az étrendi változtatásokon át a transzkraniális mágneses ingerléses terápiáig (Antal és mtsai., 2022; Dresler és mtsai., 2019; Phillips, 2017; Sanches és mtsai., 2021). Ebben a széles palettában foglalnak helyet a különböző gyógyszeres kezelések, melyek neurotranszmittereket vagy neuromodulátorokat céloznak meg kognitív funkciók javítására. A kifejezés széles körben elterjedt, így egészséges alanyok esetében a kognitív funkciók fokozása inkább a cél, míg neurodegeneratív vagy neuropszichiátriai betegek esetén a kognitív funkciókat érintő tünetek enyhítése (Sarter, 2006). Ezen gyógyszereket

összefoglaló néven kognitív teljesítményfokozóknak (cognitive enhancers) hívjuk (Dresler és mtsai., 2019).

A különböző kognitív tünetek javítását célzó kognitív teljesítményfokozó vegyületek preklinikai fejlesztése számos kihívást rejt magában. Talán a legfontosabb ezek közül a preklinikai tesztek és betegségmodellek limitált validitása (érvényessége) a humán alkalmazásuk viszonylatában. A validitás lényegében arról ad információt, hogy a megalkotott tesztek és állatmodellek valóban használhatóak és arra használhatóak-e, amire alkalmazni szeretnénk volna őket. A preklinikai kutatások viszonylatában többféle megközelítésben definiálhatjuk a validitás fogalmát. A „arculati” (face) validitás lényege, hogy a betegség és a modell közötti, tüneti megjelenésben megmutatkozó hasonlóságok alapján vél érvényesnek egy adott állatmodellt vagy preklinikai tesztet. Prediktív (predictive) validitás a preklinikai tesztek kontextusában annak a mértékét adja meg, hogy a kognitív funkciók javítására kifejlesztett vegyületeket vizsgáló állatkísérletes betegségmodellek és tesztek eredményei előre jelzik-e az adott vegyület kedvező kognitív funkciókra gyakorolt hatását humán klinikai vizsgálatokra vetítve. A „konstruktív” (construct) validitás a preklinikai tesztek esetében azon alapszik, hogy az adott állatmodell a modellezett betegséget vagy annak egy tünetét magyarázó elméletet több szinten is magába foglalja, ezek között ok-okozati viszonyt állít fel. Például egy olyan állatmodell érvényesnek tekinthető a „konstruktív” validitás szempontjából, mely reprodukálja a molekuláris–celluláris, a neuronális hálózat és/vagy a viselkedés és kogníció szintjein létrejövő, a betegség etiológiai hátterének megfelelő hibás működéseket (Sarter, 2006). Napjainkban egyre nagyobb igényként jelentkezik a preklinikai kutatásokban végzett kísérletek validitásának a humán vizsgálatok szempontjából való átfogóbb monitorozása és új, a jelenleginél nagyobb transzlációs hatékonyságú modellek fejlesztése. Ezáltal nagymértékben javítható lehet a preklinikai kutatások hatékonysága, ami a fals pozitív adatok nagy számának csökkentését eredményezheti mind az új kognitív teljesítményfokozók fejlesztésével, mind a már meglévő kognitív teljesítményfokozó gyógyszerek feltérképezésével kapcsolatban (Sarter, 1991, 2006; Sarter és mtsai., 1992). Az elmúlt évtizedekben számos potenciális neurotranszmitter-receptor szintű támadáspont került a preklinikai kutatások vizsgálatának tárgyává. Attól függően, hogy mely kognitív domén károsodott működésének a javítása a cél, változhat a különböző gyógyszerek és gyógyszerjelölt vegyületek támadáspontja (Lanni és mtsai., 2008). Ezen folyamatot gyógyszer újrapozicionálásnak (drug repurposing) hívjuk, és példa lehet rá a különböző antidiabetikus gyógyszerek demenciakutatásokban való megjelenése (Moran és mtsai., 2019)

Az **1. táblázat** (Lanni és mtsai., 2008 alapján, kiegészítve) a teljesség igénye nélkül

tartalmaz példákat már elfogadott gyógyszerekre és gyógyszerjelölt vegyületekre, olyan neurodegeneratív és neuropszichitária betegségek tüneti kezelésére, melyek esetében a memória és a figyelmi funkciók nem megfelelő működése fennáll (Lanni és mtsai., 2008). A jelen disszertációban tárgyalt kísérleteink során mi a memantin, különböző alfa7 nACh-receptor érzékeny agonista és PAM, valamint a D-szerin és a D-szerin visszavételét befolyásoló D-amino-oxidáz inhibitor (DAOOI) hatását vizsgáltuk, így a dolgozat további részében ezeket a vegyületeket és vegyülettípusokat tárgyaljuk részletesebben.

Osztály	Vegyület	Elfogadott használat	Referencia
kolinerg vegyületek	donapezil, rivastigmine, galantamine	AK tüneti kezelésére	(Birks & Craig, 2006; Birks, 2006; Gorus és mtsai., 2007)
nACh-receptorra ható vegyületek	alfa7 nACh-receptor agonisták vagy alfa4béta2 nACh-receptor parciális agonisták	nincs, fejlesztés alatti vegyületek	(Hoskin és mtsai., 2019; Lombardo & Maskos, 2015)
glutamáterg vegyületek	ampakine, memantine	A közepesen súlyos vagy súlyos AK-ral élő betegek kezelése	(Emre & Qizilbash, 2001; McShane és mtsai., 2019)
egyéb glutamáterg mechanizmusokon keresztül ható vegyületek	piracetam, aniracetam, oxiracetam, nefiracetam	Időseknél degeneratív vagy vaszkuláris eredetű figyelem- és memóriazavarokban, alkoholmegvonás kezelésében	(Malík & Tlustoš, 2022; Malykh & Sadaie, 2010; Shorvon, 2001)
catekolamin receptorokra ható vegyületek és stimulánsok	metilfenidát, modafinil, atomoxetine	ADHD és narkolepszia kezelésére	(Greydanus és mtsai., 2007; Keating & Raffin, 2005; Pataki és mtsai., 2004; Thorpy, 2020)
KIR keringést és anyagcserét befolyásoló vegyületek	nimodeipine, idebenone, hydergine, nicergoline	A szubarachnoidális vérzés utáni neurológiai kimenetel javítására, időseknél az érrendszeri eredetű agyi rendellenességeknél	(Dorhout Mees és mtsai., 2007; Kuang és mtsai., 2021)
egyéb vegyületek	acetil-L-karnitin, lecitin, ginkgo bilona, ginseng	Néhányuk felhasználása az EU országaiban különböző körülmények között engedélyezett, integrátor készítményekben a kognitív teljesítmény javítására	(Hudson & Tabet, 2003; Mancuso és mtsai., 2007; Zanelli és mtsai., 2005)

1. táblázat

Összefoglaló táblázat a különböző kognitív domének javításának lehetséges útvonalaairól és irodalmáról (Lanni és mtsai., 2008 alapján)

3.4.1. A memantin

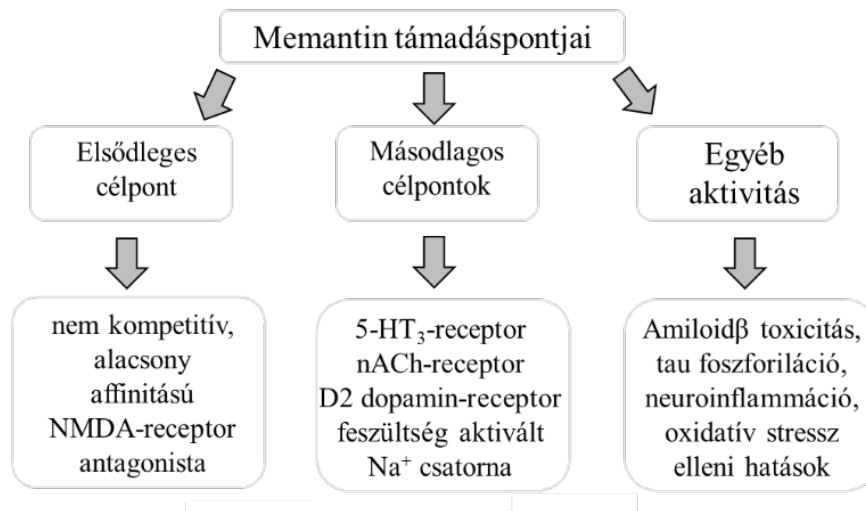
A memantin (1-amino-3,5-dimethyladamantane) egy Európában 2003 óta elfogadott vegyület a közepesen súlyos és súlyos AK-s betegek farmakoterápiás kezelésére (Rogawski & Wenk, 2006). A memantin jól tolerálható a betegek számára, biztonságos és elfogadható terápiás indexszel rendelkezik (Folch és mtsai., 2018). De nem mellékhatás nélküli a gyógyszer, előfordulhat például fejfájás, szédülés, magas vérnyomás, álmoság, nyugtalanság, székrekedés, hasmenés, hányinger, étvágytalanság, köhögés és nehézlégzés (Blanco-Silvente és mtsai., 2018; Thomas & Grossberg, 2009). Az AK-s betegek kezelése mellett klinikai és preklinikai kutatások folynak neuropszichiátriai betegségekben, például skizofrénia, depresszió vagy obszesszív-kompulzív zavar (OCD), való alkalmazhatóságával kapcsolatban (Czarnecka és mtsai., 2021; Modarresi és mtsai., 2018).

A gyógyszert önállóan adva monoterápiás kezelésként, vagy kombinálva acetilkolinészteráz-gátlókkal (például galantaminnal, donepezillel vagy rivastigminnel) alkalmazzák (Folch és mtsai., 2018; Matsunaga és mtsai., 2015; Schmidt és mtsai., 2015). A gyógyszer klinikai hatékonyságát elsősorban az NMDA-receptorok közepesen erős, gyors kinetikájú, ún. 'nem-kompetitív' gátlásához kötik (Rammes és mtsai., 2001). A nagy affinitású NMDA-receptor antagonistákkal ellentétben, mint például a ketamin, melynek kifejezetten negatív hatásai vannak a tanulás és a memória folyamatára, a memantin alacsony affinitású NMDA-receptor antagonisták közé tartozik, amely gyorsan képes asszociálni az NMDA-receptorokhoz és leválni róluk (Shafiei-Irannejad és mtsai., 2021). Így megfelelő mértékben tudja gátolni a glutamát által indukált túlzott mértékű sejtaktivitást, amely excitotoxicitást, és az ebből következő neuronális szintű károsodást, végül programozott sejthalált is kiválthat patológiás esetben (Zhou & Danbolt, 2014). Azonban a memantin receptor szintű hatásmechanizmusával kapcsolatban még számos megválaszolatlan kérdés maradt, főleg amiatt az ellentét miatt, hogy az NMDA-receptorok szinaptikus plaszticitásban betöltött szerepe és a memantin NMDA-receptor antagonistá hatása között nehezen húzható párhuzam. Ezen paradoxon magyarázatára a leginkább elfogadott nézet szerint a memantin a Mg^{2+} ionokhoz hasonlóan, feszültség-függő módon blokkolja az NMDA-receptorok működését, így nyugalmi helyzetben nem engedi azok kóros, tónusos aktivációját létrejönni. Megfelelő membránpotenciál változás esetén azonban leválik az NMDA-receptorokról, így létrejöhet a szinaptikus plaszticitás egyik alapmechanizmusának fiziológiai alapja, az LTP (Danysz & Parsons, 2003). A memantin szinaptikus plaszticitásra gyakorolt hatása mellett, több kutatócsoport kísérleteinek eredményei alapján neuroprotektív hatásának is bizonyult, ami alapján feltételezhető, hogy a tünetek javítása mellett a betegség progressziójára is hatással van

a vegyület (Epstein et al., 1994; Folch et al., 2018; Lees, 1993). Fontos továbbá megemlíteni, hogy a memantin nagyobb affinitással gátolja az extraszinaptikus, NR2B alegységet tartalmazó receptorokat, ezzel gátolva az extraszinaptikus receptor kiváltotta sejthalált, viszonylag megkímélve a normális szinaptikus aktivitást (Xia és mtsai., 2010).

A fentiekén túl több újabb hipotézis is létezik arra vonatkozóan, hogy milyen útvonalakon képes a memantin a memóriefunkciók javítására (Rogawski & Wenk, 2006). Például, a memantin, NMDA-receptor antagonistá hatása mellett az alfa7 nACh-receptorokhoz is kötődhet antagonistaként (Aracava és mtsai., 2005; Maskell és mtsai., 2003; Pohanka, 2012). Egyes tanulmányok a memantin terápiás hatása mögötti lehetséges folyamatok közé sorolják a vegyület alfa7 nACh-receptorokra gyakorolt részleges antagonistá hatását, bár Aracava és mtsai. (2005) egyértelműen negatív jelenséggként értelmezik a vegyület alfa7 nACh-receptor blokkoló hatását a betegség kezelésének a hatékonyságára nézve (Aracava és mtsai., 2005; Banerjee és mtsai., 2005).

Az alfa7 nACh-receptorok mellett a memantin megfelelő koncentrációban blokkolni tudja az 5-hidroxi-triptamin receptorokat (5-HT₃-receptorok vagy szerotonin receptorok) is (Rammes és mtsai., 2001; Reiser és mtsai., 1988). A memantin közvetett módon és közvetlenül a D2-es típusú dopaminreceptorokon keresztül is képes befolyásolni a dopaminerg rendszert (Seeman és mtsai., 2008). Az eddig felsorolt receptorokon kívül a memantin gyenge blokkolóként hat a hippocampális neuronokon található L-típusú és az N-típusú feszültségfüggő Ca²⁺ csatornákon is (Rogawski & Wenk, 2006). Zheng és mtsai. által készített összefoglaló cikk alapján készült összefoglaló ábra (**3. ábra**), több szinten mutatja be a memantin változatos hatásait a KIR-ben (Zheng és mtsai., 2014).



3. ábra

A memantin hatásának rendszerszintű felosztása, külön bemutatva elsődleges, másodlagos célpontjait, valamint neuroprotektív hatását, melyek együtt járulnak hozzá terápiás eredményességéhez és klinikailag jól tolerálható profiljához (Zheng et al., 2014).

3.4.2. A kolinerg rendszer, mint lehetséges támadáspont

Az AK kezeléséből kiindulva a betegség kezelésére szolgáló vegyületek következő csoportját a kolinerg rendszert befolyásoló szerek alkotják, mely alkalmazás az AK-hoz is kapcsolható kolinerg hipotézis segítségével magyarázható. A kolinerg hipotézis alap gondolata, hogy az AK során tapasztalt romlás a figyelem és a memória funkciókban az ACh szintézis mértékének csökkenésével magyarázható (Bartus és mtsai., 1982; Sarter, 1991; Sharma, 2019).

Számos, a kolinerg rendszer működését közvetlenül vagy közvetetten befolyásoló kognitív teljesítményfokozó vegyület hatását vizsgálták klinikai és preklínikai tesztekben. A teljesség igénye nélkül ide sorolhatunk mACh-receptor agonistákat, nACh-receptor agonistákat, acetilkolin-észteráz inhibitor (AChEI) vegyületeket, ACh felszabadulásra ható vegyületeket, vagy az ACh szintéziséhez szükséges prekursorokat egyaránt (Sarter, 1991).

Az AK-hoz visszatérve, a betegség gyógyszeres kezelésére az első elfogadott gyógyszerek között egy AChEI vegyületet találunk (Zheng és mtsai., 2014). Mára három, az FDA által elfogadott AChEI vegyület van forgalomban (donepezil, galantamine, rivastigmine) (Malek & Greene, 2015). AChEI adásával az acetilkolin-észteráz enzim gátlásán keresztül az ACh szinaptikus eliminációjának (hidrolízisének) a mértéke fog csökkenni, melynek hatására az extracelluláris ACh koncentráció növekedése következik be (Sharma, 2019).

A memóriajavító antikolinergiás szerek egy következő csoportját a nACh-receptorokat célzó gyógyszerjelölt vegyületek alkotják, mely receptorok kiemelkedő szereppel bírnak a

tanulási és memória folyamatokban (Dani & Bertrand, 2007; Levin, 2002). A nACh-receptor antagonisták vegyületek memóriarontó hatással bírhatnak, ezzel betegségmodellek alapját is képezve (Newman & Gold, 2016; Ohno és mtsai., 1993). Ezen állítást árnyalva fontos megemlíteni, a kísérletekben alkalmazott koncentráció fontosságát. Például Goethem és mtsai. az alfa7 nACh-receptor antagonisták, metil-likakonitin (MLA) pozitív hatását mutatták ki, mind *in vitro*, mind patkányok új tárgy felismeri tesztben nyújtott teljesítményével kapcsolatban (Goethem és mtsai., 2019). A nACh-receptor agonista vegyületek közül többről kimutatták, hogy javíthatják a memória-konzolidációs folyamatokat (Bodnar és mtsai., 2005). Például nikotin adásával is növelhető a térbeli munkamemória teljesítménye patkányok esetében (Levin & Rezvani, 2000). Fontos hozzátenni, hogy a kolinerg rendszerre ható agonista vegyületek megfelelő dózisban javítják a memóriát, de nagyobb dózisban alkalmazva ronthatják, így kialakítva egy fordított U alakú dózis hatás görbét (Braida és mtsai., 1996; MacLeod és mtsai., 2006; Newman & Gold, 2016; Robbins és mtsai., 1997; Terry és mtsai., 1997). Mind az alfa4beta2 nACh-receptor altípus, mind az alfa7 nACh-receptor altípusokra specifikus többféle agonista és pozitív allosterikus modulátor vegyület pozitív hatását kimutatták a memóriefunkciók tekintetében (Bertrand & Wallace, 2020; Thomsen és mtsai., 2010). Az RJR 2403 nevű alfa4beta2 nACh-receptor agonista vegyület egyértelműen javította a patkányok munkamemóriáját nyolckarú sugár labirintus tesztben (radial arm maze) vizsgálva, míg egy másik ezen receptorra specifikus vegyület, az ABT-418 javította a majmok késleltetett mintafelismerési feladatban (DMTS tesztben) nyújtott teljesítményét, memóriáját (Buccafusco és mtsai., 1995; Levin, 2002). Az ACh hidrolízise során keletkező kolin az alfa7 nACh-receptorok szelektív aktivátorának tekinthető, emellett számos más szelektív agonistát kifejlesztettek már a gyógyszeriparak, melyek specifikusak az alfa7 nACh-receptorokra (pl.: GTS-21, DMXB, SSR180711, TC-5619, RO 5313534) (Lendvai és mtsai., 2013). Közülük például, az alfa7 nACh-receptor agonista, anabazain analóg vegyületek jelentősen javították a munkamemóriát fiatal és idős patkányok esetében (Arendash és mtsai., 1995; Meyer és mtsai., 1994, 1997). Az általunk is vizsgált nagy szelektivitású PHA-543613 pozitív hatását a kognitív teljesítményre számos, a mi laboratóriumunkban és más kutatócsoportok laboratóriumában rágszálókon végzett viselkedés kísérlet bizonyította már, például T-labirintus spontán alternációs tesztben, Morris-féle vízi labirintus tesztben, valamint új tárgy felismerési tesztben (Bali és mtsai., 2015; Bruszt és mtsai., 2021; Sadigh-Eteghad és mtsai., 2015; Wishka és mtsai., 2006). Egyes kutatásokban az alfa7-nACh-receptorok neuroprotektív hatásáról is beszámoltak, mely hozzájárult ahhoz, hogy ezek a receptorok a terápiás beavatkozások új célpontjává váljanak (Ma & Qian, 2019; Roncarati és mtsai., 2009). Az alfa7 nACh-receptorok egyedi

tulajdonságai közé sorolható az alacsony ioncsatorna-nyitási gyakoriság és a gyors deszenzitizáció (Castro & Albuquerque, 1993; Letsinger és mtsai., 2022). Ezen tulajdonságai limitáló tényezőnek tekinthetők a gyógyszerfejlesztők számára az agonisták fejlesztése esetében. Ezzel szemben az alloszterikus modulátorok fejlesztése, megoldást jelenthet a deszenzitizáció, mint limitáló tényező esetében (Ledneczki és mtsai., 2021). Az alfa7 nACh-receptorokra ható számos farmakon közül csupán néhány jutott el addig, hogy humán alkalmazását is tesztelni tudják (Lendvai és mtsai., 2013; Ma & Qian, 2019).

Az alfa7 nACh-receptorok hagyományos kötőhelyéhez kapcsolódó agonista vegyületek mellett, PAM-ok és NAM-ok is befolyásolni tudják a receptor működését (Ledneczki és mtsai., 2021; Ledneczki és mtsai., 2021). A PAM-okról általánosan elmondható, hogy nem avatkoznak be közvetlenül az agonista hatására létrejövő aktiválódásba, azonban hatással lehetnek az agonista receptorhoz való kötődésének a folyamatára, így erősítve az alfa7 nACh-receptor agonisták pozitív vagy negatív kognitív hatásait (Hashimoto, 2015). Az első PAM vegyületek, pl. a galantamin, nem voltak elég receptor specifikusak, valamint fiziológiai hatásuk is gyenge volt (Storch és mtsai., 1995). Mára a megnövekedett érdeklődésnek köszönhetően számos alfa7 nACh-receptorra specifikus PAM vegyületet fejlesztettek ki, melyeket a receptor-deszenzitizációra való hatásuk alapján két csoportba sorolhatunk: 1. típusú és 2. típusú PAM-ok. Az 1. típusú PAM-ok leginkább a receptoron átfolyó áramcsúcsot befolyásolják, míg a 2. típusú PAM-ok a csatorna nyitás idejére hatnak, így befolyásolva a receptor deszenzitizációjának mértékét (Hashimoto, 2015). Például a genistein nevű 1. típusú PAM leginkább az áramcsúcsra van hatással, míg a PNU-120596 és a TQS megemelik az áramcsúcs nagyságát, miközben lassítják a deszenzitizáció folyamatát (2. típus) (Grønlien és mtsai., 2007). 1. típusú PAM-ok közé sorolható például az NS-1738. Ez a vegyület az alfa7 nACh-receptorokon mérhető áramcsúcsok amplitúdóját növeli meg. Timmermann és mtsai. nyomán az NS-1738 a többi 1. típusú PAM vegyülettel ellentétben hatással lehetnek a hippocampusban található idegsejtek receptor deszenzitizációjára is (Timmermann és mtsai., 2007). 1. típusú PAM-ok közé sorolhatjuk az NS-1738, AVL-3288 nevű vegyületeket, míg 2. típusú PAM például a CCMI, a PNU-120596 (Bertrand & Gopalakrishnan, 2007). Fontos megjegyeznünk, hogy a PAM vegyületek kinetikáját nagyban befolyásolja a hőmérséklet, így egy-egy kísérlet tervezésekor fontos figyelembe venni hőmérséklet-függésüket (Sitzia és mtsai., 2011). A PAM vegyületek citotoxikus hatását vizsgálva Hu és mtsai. egyértelműen bizonyították, hogy nincsenek káros, citotoxikus hatással az alfa7 nACh-receptorokat hordozó neuronokra (Hu és mtsai., 2008). Ezen pozitívnak tekinthető tulajdonságokat összegezve az alfa7 nACh-receptorokra érzékeny PAM vegyületek nagyszerű lehetőséget jelenthetnek az alfa7 nACh-

receptor agonista farmakonok kognitív teljesítményt fokozó hatásának potenciózására (Lendvai és mtsai., 2013).

3.4.3. D-szerin és a D-szerin szintet befolyásoló vegyületek

Egy további lehetőség lehet az NMDA-receptorok működésének befolyásolásra, a receptorok GluN1 alegységén található glicin modulációs helyre (GMS) ható vegyületek fejlesztése. Természetes szubsztrátja a GMS-nek a glicin, de a korábbi vizsgálatokhoz képest az endogén extracellulárisan jelen levő D-szerin is befolyásolja a receptorok működését. A két endogén aktivátor között különbséget is találtak, a D-szerin inkább a szinaptikus NMDA-receptorokat, míg a glicin az extraszinaptikusan elhelyezkedő NMDA-receptorokra van hatással (Papouin és mtsai., 2017; Sullivan & Miller, 2012). A hippocampális neuronokon található NMDA-receptorok GMS helyének, valamint a terület D-szerin szintjének csökkenését összefüggésbe hozták az idős korban megjelenő kognitív hanyatlás megjelenésével (Junjaud és mtsai., 2006; Potier és mtsai., 2010). A GMS farmakológiai modulálásnak további előnye lehet az NMDA-receptorokon ható agonista vegyületekkel szemben, hogy a receptor fiziológiai szintű aktiválása mellett nem okoz Ca^{2+} által kiváltott excitotoxicitást (Choi, 1988). A D-szerin alkalmazásának azonban számos gyógyszerbiztonsági szempontból kérdéses tulajdonsága van. Gyenge agyi penetrációval rendelkezik, így csak igen nagy dózisu intraperitoneális injekciók segítségével érhető el megemelkedett KIR-en belüli koncentráció (Hashimoto és mtsai., 1993; Takahashi és mtsai., 2002). Továbbá a D-szerin metabolizmusával összefüggésben, magas koncentráció esetén káros lehet a vesére, mivel nefrotoxicitást okozhat (Hasegawa és mtsai., 2019; Meftah és mtsai., 2021).

Az extracelluláris D-szerin szint egyik fő szabályozója a hippocampus CA1-es régiójában a piramissejtek dendritjeihez közel elhelyezkedő, D-szerin tartalmú asztrociták glutamáterg innervációja (Schell és mtsai., 1995, 1997). Az asztrociták D-szerin tartalmú vezikuláinak az ürítése legfőképpen fázisos jellegű AMPA receptorokon keresztül mediált (Kang és mtsai., 2013; Schell és mtsai., 1995). Azonban Papouin és mtsai. kiemelték az alfa7 nACh-receptorok asztrocita működést, ezen belül is D-szerin felszabadulást moduláló hatását is, mely finoman hangolja a szinaptikus NMDA-receptorok nyitását és zárását az éberségi állapotnak megfelelően (Papouin és mtsai., 2017). Az asztrociták D-szerin szintet szabályozó tulajdonságát a hippocampális LTP kialakulásának egyik fontos elemének is tartják, az NMDA-receptor működést befolyásoló hatása miatt (Yang és mtsai., 2003). Az extracelluláris D-szerin szint ellentétes irányú egyik szabályozója a D-aminosav-oxidáz enzim (DAAO enzim), mely a D-szerin fő katabolikus enzimjeként, az aminosav degradációján keresztül csökkenti a sejten

kívüli szintjét az aminosavnak, egy másik fontos szabályozó enzim, a szerin-rakamáz mellett (Khoronenkova & Tishkov, 2008). Az emlősök agyában *in situ* hibridizációval igazolták, hogy a DAAO enzim mind patkányokban, mind emberekben viszonylag magas expressziót mutat a KIR-ben, beleértve a neocortexet és a hippocampus területét is (Moreno és mtsai., 1999; Verrall és mtsai., 2007). Ezen útvonal több tanulmány alapját képezte, melyek a D-aminosav-oxidáz enzim-inhibitor (DAAOI) vegyületeket új terápiás lehetőségként vizsgálták különböző neuropszichiátriai és neurokognitív rendellenességek kezelésére (Coyle & Tsai, 2004; Lin és mtsai., 2014; Pei és mtsai., 2021; Verrall és mtsai., 2010). A D-aminosav-oxidáz-gátlókat először potenciális antipszichotikus hatásuk miatt fejlesztették és vizsgálták, és csak néhányukat vizsgálták kognitív erősítőként (Smith és mtsai., 2010). A nátrium-benzoát volt az egyik első vegyület, amelyet a DAAO enzim szelektív inhibitoraként írtak le. Az enzimhez való mérsékelt kötődése és gyenge gátló hatása ellenére a vegyület hatékonyan enyhítette a pszichózisszerű tüneteket a skizofrénia állatmodelljeiben (Li és mtsai., 2013; Szilágyi és mtsai., 2018; Walczak-Nowicka & Herbet, 2022). A nátrium-benzoátot, mint DAAOI nemcsak skizofréniaiban, hanem enyhe kognitív károsodás és AK esetén is vizsgálták klinikai kutatásokban (Lin és mtsai., 2014, 2018, 2019, 2020). A nátrium-benzoáton kívül számos más DAAOI vegyület pozitív antipszichotikus és prokognitív hatása is ismertté vált (O'Donnell és mtsai., 2023; Pei és mtsai., 2021).

3.4.4. Kombinált terápiák

A NKZ-ok kezelésére a kombinált terápiák egy lehetséges utat jelenthetnek a hatékonyabb kezelések elérése felé, így egyre több preklinikai vizsgálat tárgyát képezik. Kombinált terápiák közé változatos kezelések sorolhatóak, például: farmakológiai kezelés és kognitív terápia kombinálása, fizikai aktivitás növelése és farmakológiai kezelés kombinálása vagy fejbőr elektro-akupunktúrás kezelés és farmakológiai kezelés kombinálása (Yesavage et al., 2007; Yue et al., 2020). A disszertációban bemutatott kísérleteknek megfelelően, a különböző támadáspontú farmakológiai kezelések kombinált adásán alapuló terápiák irodalma kerül részletesebb bemutatásra.

A NKZ-ok kezelésére alkalmazott farmakoterápiák hosszú távon történő adagolása kompenzációs mechanizmusok kialakulásához vezethet, mely csökkentheti a gyógyszer terápiás hatékonyságát. Ezen hosszú távú negatív hatások enyhíthetők a gyógyszerek dózisának csökkentésével, ami viszont korlátozhatja hatékonyságukat (Borges & Bonakdarpour, 2017; Schmitt és mtsai., 2004). Így a kedvező terápiás hatások megőrzésének egyik lehetséges

stratégiája a dózis csökkentése mellett a kombinált kezelések alkalmazása, melynek egyik előnye a komplexebb hatásmechanizmus (pl.: többféle receptor szintű célpont), aminek következtében az NKZ-ok többféle patológias aspektusa is megcélozható. A kombinált terápiák szinergista hatást is eredményezhetnek az önálló kezelésekhez képest, anélkül, hogy mellékhatásokat vagy hosszú távon toleranciát idéznének elő (Woodruff-Pak és mtsai., 2007).

Egyik lehetséges vonala a kombinált terápiáknak az AK terápiás kezelésére engedélyezett gyógyszerek pl. a memantin és a különböző AChEI-ok (pl.: donepezil, galantamin, rivastigmin) kombinált alkalmazása. Preklinikai vizsgálatok eddig nem, vagy csak limitált mértékben igazolták kedvező farmakológiai kölcsönhatását ezen kétféle támadáspontú AK gyógyszer kombinált adásának (Deardorff & Grossberg, 2016; Molino és mtsai., 2013; Wenk és mtsai., 2000; Woodruff-Pak és mtsai., 2007; Zhao és mtsai., 2006). Ezzel szemben, különböző alfa7 nACh-receptor specifikus vegyületek és a memantin kombinált adásával kapcsolatban ígéretes preklinikai viselkedés vizsgálatokhoz köthető eredményeket publikáltak az elmúlt években (Bali és mtsai., 2019; Bruszt és mtsai., 2021; Nikiforuk és mtsai., 2016; Potasiewicz és mtsai., 2020).

Az eddig leírtak alapján levonható a következtetés, hogy a kognitív funkciók, különösen a tanulás és a memória javítására irányuló farmakológiai stratégiák változatos képet mutatnak a hatásmechanizmusukat tekintve, de kognitív teljesítményfokozó hatásukat számos preklinikai állatmodellben megerősítették viselkedés vizsgálatok segítségével. Azonban *in vivo* elektrofiziológiai adat a sejtszintű hatásukról (leginkább neuronok tüzelési aktivitásra és ingerlékenységére gyakorolt hatásukról) limitált mennyiségben található az irodalomban. A disszertációban bemutatott vizsgálatsorozatban különböző hatásmechanizmusú kognitív teljesítményfokozó vegyületek közvetlen celluláris hatásait vizsgáltuk, hogy felmérjük önállóan és kombinált kezelésben alkalmazva milyen moduláló hatással bírnak a patkány hippocampális neuronok tüzelési mintázatára.

4. Célkitűzések

Jelen disszertációban szereplő kísérletsorozat fő célja az volt, hogy megvizsgáljunk eltérő támadáspontú, kognitív teljesítmény fokozására használható vegyületek sejtszintű hatását *in vivo* körülmények között. A vizsgált agyterület mind a három kísérletsorozatban a deklaratív memória és a memória konszolidációs folyamatok szempontjából kiemelkedő hippocampus CA1-es régiója volt, de a vizsgált vegyületek eltérő hatásmechanizmussal rendelkeztek: a glutamáterg transzmissziót befolyásoló memantin vagy D-szerin és egy DAAOI vegyület, exogén alfa7 nACh-receptorokra ható vegyületek (agonisták és PAM-ok). Az alkalmazott háromféle kísérleti protokoll lehetővé tette, hogy megvizsgáljuk ezen vegyületek specifikus hatásait a sejtek spontán tüzelési aktivitására, illetve NMDA-ra és ACh-ra való érzékenységére. A vizsgált vegyületek egy részét lokális iontoforetikus anyag beadásokkal, másik részét szisztémás anyagbeadásokkal is vizsgáltuk, mely utóbbi kísérletek eredményei jobban összevethetőek voltak korábbi preklinikai viselkedés kísérleteink eredményeivel.

I. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek önálló és kombinált lokális hatásának vizsgálata

- Különböző alfa7 nACh- receptorra ható exogén vegyületek lokális adásának vizsgálata az idegsejtek spontán tüzelési aktivitására, valamint glutamáterg aktivációra adott tüzelési válaszaira.
- Az előzetesen önállóan is megvizsgált agonista és PAM vegyületek lehetséges kölcsönhatásainak vizsgálata kombinált lokális adás segítségével.

II. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek és a memantin önálló és kombinált szisztémás hatásának vizsgálata

- A különböző vizsgált vegyületek (memantin, alfa7 agonista és PAM) szisztémás adás utáni hatásainak vizsgálata a spontán, a lokális NMDA adásával, valamint a lokális ACh adásával kiváltott tüzelési aktivitásra.
- Annak vizsgálata, hogy az alfa7 nACh-receptor-specifikus vegyületek befolyásolják-e a memantin hatását a spontán, az NMDA-val kiváltott, valamint az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitásra.

III. A D-szerin és DAAOI önálló lokális és szisztémás hatásának vizsgálata

- D-szerin és a DAAOI vegyület lokális hatásának vizsgálata a spontán és az NMDA-val kiváltott hippocampális tüzelési aktivitásra
- D-szerin és DAAOI szisztémás hatásának vizsgálata a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra

5. Anyag és módszerek

5.1 Állatok és sztereotaxiás műtét

Etikai állásfoglalás

Kísérleteinket és az állatok tartását a hatályos hazai és nemzetközi állatvédelmi szabályozásokban előírtak figyelembevételével végeztük (40/2013. (II. 14.) Kormányrendelet, illetve 2010/63/EU direktíva). A kísérleteket a Pécsi Tudományegyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága (PTE MÁB), valamint az Agrárminisztérium és a NÉBIH Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanácsa (ÁTET) jóváhagyásával a Baranya Megyei Kormányhivatal engedélyezte (engedélyszám: BA02/2000-80/2017).

Kísérleti állatok

Az első kísérletsorozatban összesen negyvenhat felnőtt Wistar patkányt (31 hím és 15 nőstény, Charles River Laboratories, Németország), második kísérletsorozatban 207 hím Wistar patkányt (Toxicoop, Magyarország), harmadik kísérletsorozatban összesen 94 hím Wistar Han patkányt (Toxicoop, Magyarország) használtunk fel. A patkányokat párosával helyeztük el hagyományos állatházban (Pécsi Tudományegyetem, Kísérletes Állattani és Neurobiológiai Tanszék Állatháza, Pécs, Magyarország). Az állatházban a természetes fényhez hasonló megvilágítást biztosítottunk, mely 12 órás periódusban egy automatikus rendszer segítségével váltogatta a sötét és világos szakaszokat. A világos szakasz reggel 7 órától este 19 óráig, a sötét szakasz este 19 órától reggel 7-ig tartott. Az állatházban a nappal/éjszaka ciklus biztosításán kívül szabályozott hőmérséklet és páratartalom volt biztosítva az állatoknak ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérséklet és 40-60% relatív páratartalom). Víz és standard laboratóriumi patkánytáp ad libitum állt a patkányok rendelkezésére.

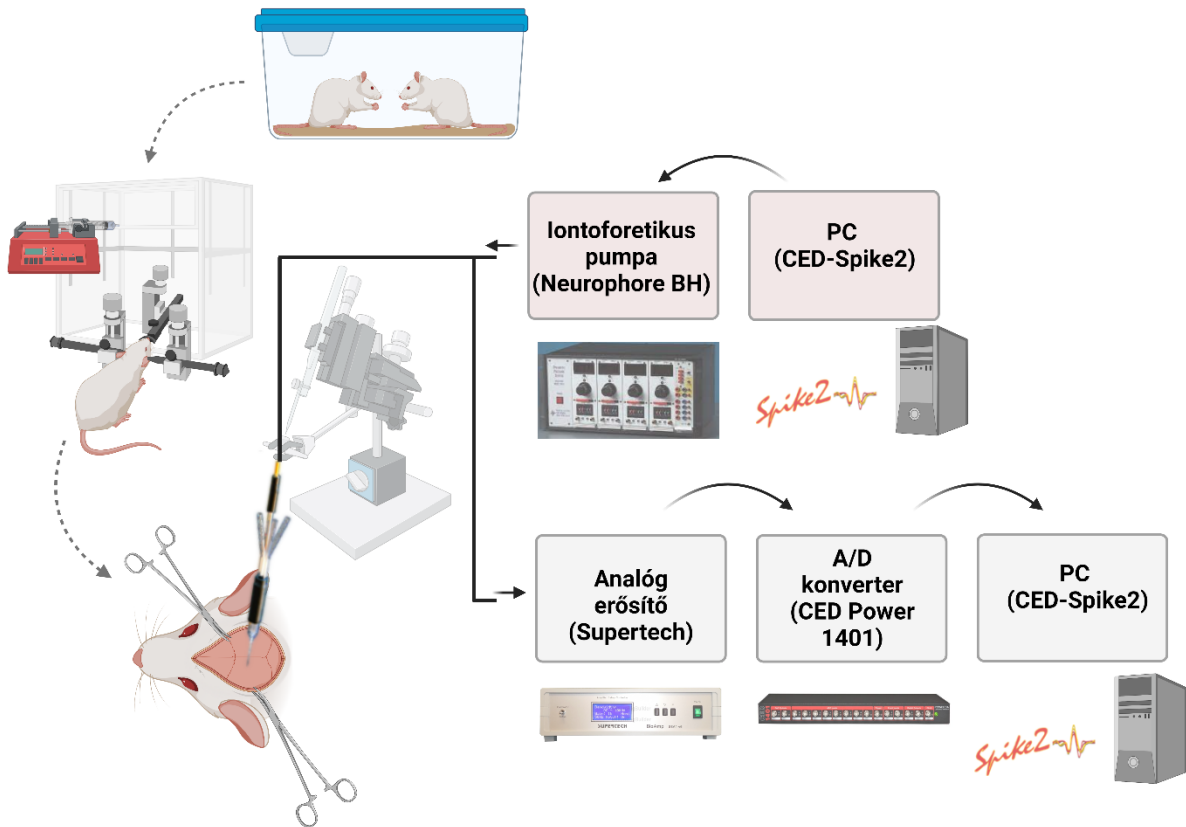
Sztereotaxiás műtét

A sztereotaxiás műtétet és az extracelluláris elektrofiziológiai méréseket klorál-hidrát (400 mg/ttk, Molar Chemical, Magyarország) altatásban végeztük. A műtét és a kísérletek ideje alatt a juguláris vénába beültetett kanülön keresztül folyamatosan adagoltuk a klorál-hidrátot, így biztosítva a stabil anesztéziát. A stabil altatás ellenőrzése végett bizonyos időközönként megcsíptük az állat farkának a végét vagy cornea-reflex segítségével ellenőriztük alvásának mélységét. A kísérletek végén az állatokat pentobarbitál intravénás túladagolásával (0,3-0,5 ml) humánus módon altattuk el. A műtétek során az állat fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd a koponya felszínéről eltávolítottuk a bőr, az izom és a kötőszövet rétegeit. Fertőtlenítés, a finomabb rétegek eltávolítása, valamint a vérzés csillapításának érdekében 5%-os hidrogén-peroxid oldatot (Hyperol, Meditop Gyógyszeripari Kft., Magyarország) cseppentettünk a

koponya felszínére. A műtét során bizonyos időközönként fiziológias sóoldattal tisztítottuk le a koponyát és az agyfelszín, ezzel elkerülve az agy felszínének száradását. A sztereotaxiás készülékhez stabilan rögzített mikromanipulátor segítségével a Bregmához viszonyítva jelöltük ki a vizsgálathoz használt mikroelektrod pontos helyét. Ezután a koponyán a megjelölt helyen 2-3 mm átmérőjű lyukat fúrtunk, majd egy csipesz segítségével megtisztítottuk a nyílást, eltávolítottuk az apróbb csont darabokat, és egy finom csipesz segítségével félrehúztuk a kemény agyhártyát a lyuk alatt található agyterület felületén. Ezután a mikromanipulátor segítségével pozicionáltuk a többcsatornás szénszálas (aktív része: körülbelül 7 μm átmérőjű, 25 μm hosszú aktív csúcsi rész) mikroelektrodot (Carbostar, Kation Scientific Ltd., Minneapolis, MN). Az elektrod központi csatornája körül 3-6 darab vékony üvegapilláris található, egyenként körülbelül 1 μm csúcsátmérővel. Az üvegapillárisok segítségével történtek a később részletezett mikrointoforetikus adások. Az elektrod helyzetének pontos koordinátáit Paxinos és Watson alapján, a patkányagy atlasz segítségével határoztuk meg: I. kísérletsorozat: AP: 3,2-5,5; ML: 1,2-2,8; DV: 2,05-3,9; II. kísérletsorozat: AP: 3,2-5,5; ML: 1,2-2,8; DV: 2,05-3,9; III. kísérletsorozat: AP: 3,2-5,5; ML: 1,2-2,8; DV: 2,05-3,9, mindegyik esetben a Bregmához képest viszonyítottuk az elektrod pontos helyének a mérését (George Paxinos, 2014). A sikeres kísérletek végén, ellenőrzésképp visszamértük az elektrodok helyzetét, ezzel azt is ellenőrizve, hogy a kísérlet alatt a megfelelő pozícióban voltak. Az általunk alkalmazott kísérleti összeállítás sematikus ábrája a 4. ábrán látható.

5.2 In vivo extracelluláris elvezetések

A többcsatornás mikroelektrodok centrálisan elhelyezkedő szénszálas csatornájának a segítségével végeztük az extracelluláris elvezetéseket (Budai & Molnár, 2001). Az elvezetések során BioAmp analóg erősítőt (Supertech Kft., Pécs, Magyarország), valamint a NeuroLog elektrofiziológiai rendszert (Digitimer Ltd., Welwyn Garden City, Egyesült Királyság) használtuk a jelek erősítésére és szűrésére (300 Hz és 3000 Hz között sávszűrést alkalmazva). A kísérleti összeállítás további részei közé tartozik egy analóg-digitális konverter (Power 1401), amely segítségével az analóg jelek digitalizását 25 kHz-en végeztük egy PC és a Spike2 szoftver (Cambridge Electronic Design Ltd., Cambridge, Egyesült Királyság). A mérések során a Spike2 program segítségével követtük nyomon az elektrofiziológiai jelben bekövetkező változásokat, valamint az adatok kiértékelésének kezdeti részét is ezen szoftver használatával végeztük. A használt műszerek összefoglalása az **4. ábrán** látható.



4. ábra

*Alkalmazott in vivo kísérletes összeállítás
Created with BioRender.com*

Piramissejtek meghatározása

A kísérleti ülések során extracellulárisan elvezetett akciós potenciálok (spike-ok) különböző típusait a Spike2 szoftver segítségével utólag határoztuk meg. A spike-okat éles (~1 ms szélességű) elektrofiziológiai jelekként definiáltuk, amelyek amplitúdója legalább 5-ször nagyobb volt, mint a háttérzaj négyzetes középértékének gyöke. A spike-ok hullámalakja, tüzelési mintázata, valamint autokorrelogramjai alapján két csoportra tudtuk osztani a spike-okat. A két elkülönített neuron csoportot a tüzelési mintázatuknak és az irodalomnak megfelelően – „komplex-tüzelésű” illetve „szimplatüzelésű” névvel illettük (Csicsvari, 1998). Csicsvari és munkatársai munkája alapján a komplex-tüzelésű neuronokat a hippocampus CA1 területén található piramissejteknek tekintettük, míg a szimplatüzelésű neuronokat az itt található interneuronoknak (Csicsvari és mtsai., 1998). Az egyes kísérletek során több piramissejt összesített aktivitását értékeltük.

Az első kísérletsorozatban a Klusters program segítségével válogattuk ki a komplex tüzelésű neuronok (Lynn Hazan, Buzsáki lab, Rutgers, Newark, NJ, USA, RRID:SCR_008020). Az adatok Spike2 és Klusters közötti konvertálását a laboratóriumukban készített, és korábban publikált szkript segítségével végeztük (Bali és mtsai., 2014).

A második és a harmadik kísérletsorozatokban az egyes neuroncsoportok szétválogatását a Spike 2 program (CED Cambridge, UK) segítségével végeztük.

Mind a három kísérletsorozatban csak a komplex-tüzelésű neuronokat elemeztük, így a további elemzésekből kizártuk azokat a neuronokat, amelyek nem komplex-tüzelésű neuronokra utaló viselkedést mutattak.

5.3. *In vivo* mikrointoforézis

A kísérletek során a többcsatornás mikroelektrod oldalsó kapillárisain keresztül juttattuk a tesztelt farmakonokat a vizsgált idegsejtek közvetlen közelébe. Az adagolás a Neurophore BH-2 mikrointoforézis pumpával (Medical Systems Corp., Greenvale, NY) történt, mely segítségével konstans áramerősséget tudtunk létrehozni. Az egyes kísérletsorozatokban alkalmazott iontoforetikus adott vegyületeket az **2. táblázat** foglalja össze. A vizsgált vegyületek szerkezeti képlete megtalálható a **8. ábrán**. A mikrointoforézissel adagolt vegyület mennyisége arányos volt az alkalmazott árammal és az iontoforetikus adás hosszával. A vegyületek beadása közötti szünetekben megfelelő nagyságú retenciós áramot használtunk a vegyület szivárgásának elkerülése érdekében.

Iontoforetizált vegyület (származás)	Pipettakonzentráció	Ejekciós áram
NMDA (Sigma-Aldrich)	50 mM	-10 és -75 nA között
ACh (Sigma-Aldrich)	100 mM	+ 2 és +15 nA között
PHA-543613 hidroklorid (Tocris)	50 mM	+20 és +200 nA között
PNU-120596 (Tocris)	40 mM	-10 és -100 nA között
NS-1738 (Tocris)	40 mM	-10 és -130 nA között
MLA (Sigma-Aldrich)	20 mM	+20 és +80 nA között
D-szerin (Sigma-Aldrich)	50 mM	-5 és -100 nA között
CPD30 (Orion Pharma)	100mM	-5 és -110 nA között

2. táblázat

A kísérletek során alkalmazott ejekciós áramerősségek és pipettakonzentrációk az egyes iontoforetizált vegyületek esetén.

5.4 Szisztémásan adott vegyületek

A szisztémás hatások vizsgálata során a megfelelő kontroll felvételrészlet után (T0), a vizsgált vegyületek subcutan (SC) injekcióban való beadása történt meg.

A memantin és kétféle alfa7 nACh-receptorra ható vegyület (PHA-543613, és CPDX) szisztémás vizsgálata során, tehát a második kísérletsorozatban az alábbi vegyületek szisztémás adása történt: 1) Memantin-hidroklorid (Cat. No. 0773, Tocris) 0,9%-os NaCl oldatban oldva, négy különböző dózisban vizsgálva: 0,01 mg/kg (MEM0,01); 0,1 mg/kg (MEM0,1); 1,0 mg/kg (MEM1,0); 3,0 mg/kg (MEM3,0); 2) PHA-543613 hidroklorid (Cat. No. 3092, Tocris) 0,9%-os sóoldatban oldva, három különböző dózisban alkalmazva: 0,1 mg/kg (PHA0,1); 1,0 mg/kg (PHA1,0) és 3,0 mg/kg (PHA3,0); 3) CPDX (szabadalmaztatott alfa7 nACh-receptor PAM vegyület, Richter Gedeon Nyrt, Budapest, Magyarország), 5% Tween 80-at (PBS-ben oldva) használtunk az oldáshoz, három különböző dózisban alkalmazva: 0,3 mg/kg (CPDX0,3); 1,0 mg/kg (CPDX1,0) és 3,0 mg/kg (CPDX3,0). Attól függően, hogy mi volt a vizsgált vegyület vivőanyaga, kétféle vehikulum csoportot teszteltünk kontrollként: 0,9 % NaCl oldat vagy 5%-os TWEEN80 PBS-ben oldva. Ezekén a szisztémás adásokon kívül különböző kombinált adásokat is vizsgáltunk. Elkülönítettünk alacsony dózisú és magas dózisú kombinált kezeléseket. Az alacsony dózisú kombinációk a következők voltak: 0,01 mg/kg memantin + 0,1 mg/kg PHA-543613 (MEM0,01+PHA0,1) és 0,01 mg/kg memantin + 0,3 mg/kg CPDX (MEM0,01+CPDX0,3). A nagy dózisú kombinációk: 3,0 mg/kg memantin + 3,0 mg/kg PHA-543613 (MEM3,0+PHA3,0) és 3,0 mg/kg memantin + 3,0 mg/kg CPDX (MEM3,0+CPDX3,0) voltak. A második kísérletsorozatban szisztémásan beadott anyagokat az **3. táblázat** foglalja össze. A **3.A** táblázat az önálló adásokat, a **3.B** táblázat a kombinált adások során alkalmazott vegyületeket és dózisukat foglalja össze. A vizsgált vegyületek szerkezeti képlete megtalálható a **8. ábrán**.

A) Önálló adások

Vizsgált anyag	Dózis	Vehikulum
Memantin	0,01 mg/kg	0,9 % NaCl
	0,1 mg/kg	
	1 mg/kg	
	3 mg/kg	
PHA-543613	0,1 mg/kg	0,9 % NaCl
	1 mg/kg	
	3 mg/kg	
CPDX	0,3 mg/kg	TWEEN80
	1 mg/kg	
	3 mg/kg	

B) Kombinált adások

Vizsgált anyag	Dózis	Vehikulum
Memantin + PHA-543613	0,01 mg/kg + 0,1 mg/kg	0,9 % NaCl
	3 mg/kg + 3 mg/kg	
Memantine + CPDX	0,01 mg/kg + 0,3 mg/kg	TWEEN80
	3 mg/kg + 3 mg/kg	

3. táblázat

A második kísérletsorozatban szisztémásan beadott anyagok összefoglaló táblázatai. Mind a két táblázatban az adott vizsgált anyaggal egy sorban található a hozzá tartozó vehikulum. Az **A)** táblázat tartalmazza az önállóan vizsgált dózisokat. Az **B)** táblázat a különböző kombinált adásokat foglalja össze.

A harmadik kísérletsorozatban az alábbi vegyületek tüzelési aktivitásra kifejtett hatását vizsgáltuk: D-szerin 0,9% -os NaCl-ben oldva, vizsgált dózis: 1280 mg/kg. A Compound 30 (CPD30) nevű vegyületet 10%-os PEG-400 (PBS-ben oldva) oldva, két különböző dózisban vizsgálva: 0,1 vagy 1,0 mg/kg. Ebben az esetben is a vivőanyagtól függően kétféle vehikulum csoport hatását vizsgáltuk meg kontrollként: 0,9 % NaCl oldat vagy 10%-os PEG-400 (PBS-ben oldva). A harmadik kísérletsorozatban szisztémásan beadott anyagokat az **4. táblázat** foglalja össze. A vizsgált vegyületek szerkezeti képlete megtalálható a **8. ábrán**.

Vizsgált anyag	Dózis	Vehikulum
D-szerin	1280 mg/kg	0,9 % NaCl
CPD30	0,1 mg/kg	PEG-400
	1 mg/kg	

4. táblázat

A harmadik kísérletsorozatban szisztémásan beadott anyagok összefoglaló táblázata. A táblázatban az adott vizsgált anyaggal egy sorban található a hozzá tartozó vehikulum.

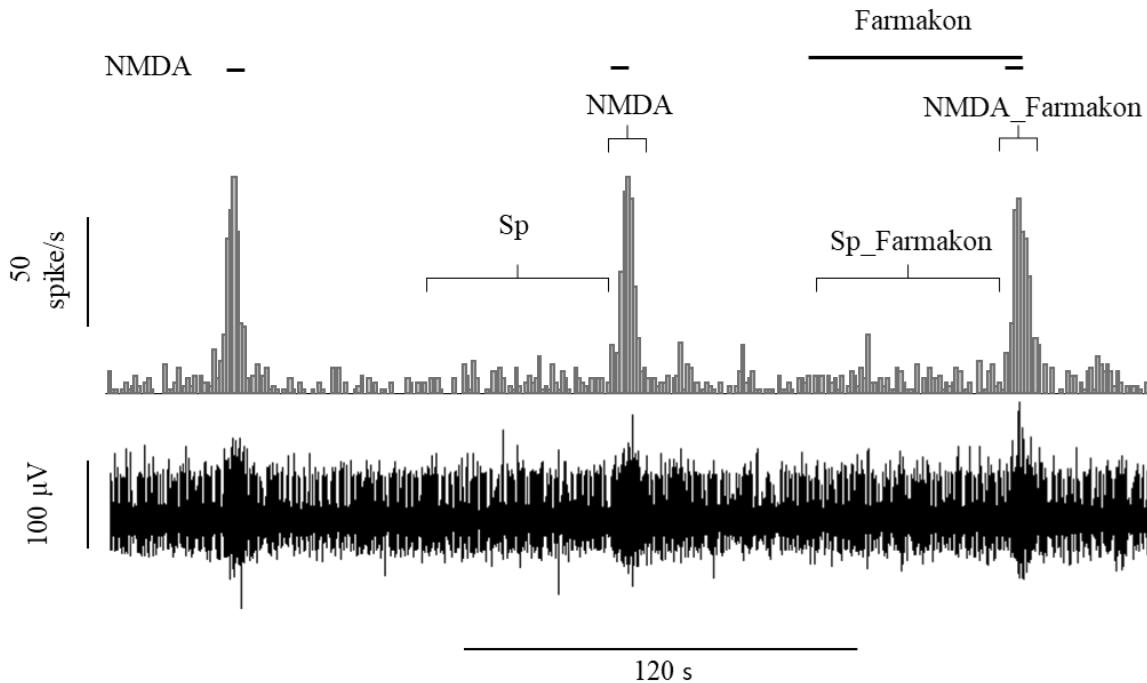
5.5. Lokális hatások vizsgálata és az adatok elemzése

Lokális hatások vizsgálatára az első és a harmadik kísérletsorozatban került sor. Az első kísérletsorozat középpontjában a kolinerg és glutamáterg rendszer, valamint a kettő kapcsolatának vizsgálata állt. A kísérletek során alfa7 nACh-receptorokra ható agonista (PHA-543613), PAM (PNU-12596 és NS1738), antagonisták (GABA) hatását vizsgáltuk a hippocampális piramissejteken lokális mikroinotoforetikus adások segítségével. A harmadik kísérletsorozat első felében különböző, az NMDA-receptorokra ható vegyületek hatását teszteltük lokális iontoforetikus adásokat alkalmazva. A vizsgált vegyületek közé a D-szerin és CPD30 nevű vegyületek tartoztak.

Protokoll

Az extracelluláris elvezetések során az idegsejtek tüzelési aktivitását vizsgáltuk, azon belül is külön vizsgáltuk a sejtek NMDA-ra adott válaszait és a spontán tüzelési aktivitásukat. A kísérletek menete az alábbi protokollt követte: minden 120. másodperctől kezdve 5 másodpercen keresztül ingereltük a vizsgált neuronokat NMDA iontoforetikus adásával. Az NMDA iontoforetikus adásának nagyságát úgy állítottuk be, hogy NMDA adásának hatására jelentős tüzelési frekvencia növekedést érzünk el az idegsejteken, ezáltal létrehozva a vizsgálni kívánt NMDA-excitációkat. Az NMDA csúcsok, vagyis az 5 másodperc intervallumon keresztül tartó, NMDA-val kiváltott excitációk nagyságát a kontroll szakasz felvétele előtt úgy állítottuk be, hogy NMDA adásának hatására jelentős tüzelési frekvencia növekedést érzünk el az idegsejteken, ezáltal létrehozva a vizsgálni kívánt NMDA-excitációkat. A stabil NMDA válaszok mellett további kritériumunk volt azon ejekciós áram elfogadása, amely esetében az iontoforetikus áramerősség növelésével még fokozni lehetett az NMDA-csúcsok nagyságát, ezáltal elkerülve a lehetséges maximum elérését. Három vagy több megfelelő lokális NMDA adással kiváltott excitáció után, a vizsgált farmakonokat (Első kísérletsorozatban: PHA-543613, NS-1738, PNU-120596, MLA és GABA; Harmadik kísérletsorozatban: D-szerin, CPD30 vegyületeket) is ejektáltuk 70 másodpercen keresztül (60 s-mal a következő NMDA-csúcs előtt kezdődött az adásuk), oly módon, hogy ezek iontoforetikus adása átfedésben volt az NMDA adásával. Kontroll értéknek a vizsgált farmakonok beadása előtti, NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásokat vettük. Az első kísérletsorozatban a különböző alfa7 nACh-receptorokra ható vegyületek mindegyikét egy-egy kísérleti ülés során önállóan is teszteltük, valamint az alfa7 nACh-receptor agonista PHA-543613 és az alfa7 nACh-receptor PAM NS-1738 közötti kölcsönhatások vizsgálata érdekében a két vegyület hatását egyidejű iontoforetikus adásuk

során is vizsgáltuk. A harmadik kísérletsorozatban a vizsgált D-szerint és CPD30-at csak önálló adások segítségével vizsgáltuk. Az alkalmazott kísérleti protokollt az **5. ábra** mutatja be.



5. ábra

Egy reprezentatív kísérlet felvételének tüzelési frekvencia és nyers reprezentatív részlete, mely jól ábrázolja az első kísérletsorozatban alkalmazott kísérleti protokollt. A tüzelési aktivitás hisztogramján (Spike/s) jelöltük a kísérletek után összehasonlított különböző kondíciók (spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás) kontroll (Sp és NMDA) és a vizsgált vegyületek valamelyikének hatása alatti értékeket (Sp_Farmakon és NMDA_Farmakon).

Adatok elemzése

A neuronok tüzelési aktivitását úgy határoztuk meg, hogy az adott intervallum alatt regisztrált spike-ok számát elosztottuk az intervallum másodpercben kifejezett hosszával (átlagos tüzelési aktivitás, 1/s, Hz). A farmakonok spontán tüzelési aktivitásra gyakorolt hatásának értékelésekor kontrollként (Sp) a farmakon beadása előtt 120 másodperccel kezdődő 60 s hosszú intervallum alatt mért átlagos tüzelési frekvenciát használtuk, ehhez hasonlítottuk a vizsgált farmakon iontoforézise során az első 60 másodpercben (tehát az NMDA iontoforézisét megelőző intervallumban) mért spontán átlagos tüzelési frekvenciát (Sp_Farmakon). Az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás kontroll értékét (NMDA) a vizsgált farmakon(ok) iontoforézisét megelőző három NMDA beadás során mért tüzelési frekvenciák átlagából számoltuk. Ehhez hasonlítottuk a vizsgált farmakon és az NMDA szimultán

iontoforézise során mért tüzelési frekvencia értéket (NMDA_Farmakon) (**5. ábra**). A vizsgált farmakonok hatását a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra százalékban is ki lettek fejezve a hozzájuk tartozó kontroll értékekhez képest (továbbiakban: normalizált spontán tüzelési aktivitás és normalizált NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás). Ezek számolása az alábbi képlet alapján történt:

$$Sp_Farmakon/Sp) \times 100; \text{ and } (NMDA_Farmakon/NMDA) \times 100.$$

Farmakonok általános hatásának elemzése: A normalizált tüzelési aktivitást, mint a tesztvegyület idegsejtekre gyakorolt hatását az egyes próbák adatainak mediánjaként határoztuk meg (a kiugró értékek okozta torzítás elkerülése érdekében). Valamint a normalizált tüzelési aktivitás medián értékei alapján (tehát az adatok kontroll értékektől való eltérése alapján) három csoportba osztottuk a sejteken mért tüzelési aktivitásban történt változásokat. Így elkülönítettünk olyan sejteket, amelyek esetében növekedést tapasztaltunk, olyanokat, amelyeknél csökkenést és egy olyan csoportot is elkülönítettünk, ahol nem tapasztaltunk változást. A kontroll értékektől való eltérést úgy határoztuk meg, hogy legalább 20%-os különbséget tekintettünk az eltérés irányától függően növekedésnek vagy csökkenésnek. Azokban az esetekben jelentettük ki, hogy nem tapasztaltunk változást, ahol 20%-nál kisebb volt a kontroll érték és a vegyület beadása utáni frekvencia adatok közötti különbség. Egy adott tesztvegyület általános hatását úgy határoztuk meg, hogy összehasonlítottuk a tüzelési frekvencia növekedését és csökkenését mutató neuronok számát kétfarkú binomiális teszt segítségével (a kezelésekre nem reagáló neuronokat kizártuk ebből az elemzésből). Ha a binomiális teszt szignifikáns volt ($p < 0,05$), akkor a nagyobb gyakorisággal jelentkező hatást (azaz a tüzelési aktivitás növekedését vagy csökkenését) tekintettük a vegyület általános hatásának. Az adott vegyület hatását a normalizált tüzelési aktivitás értékeinek elemzése alapján is értékeltük, összehasonlítva a vizsgált farmakonok hatásait a kiindulási értékekkel (100%), egymintás Wilcoxon előjeles rang teszt segítségével. Valamint a különböző vizsgált farmakonok hatásait többszörösen is összehasonlítottuk. Az egyes kezelések normalizált tüzelési aktivitása közötti különbségeket Kruskal-Wallis-teszt (Holm-módszerrel korrigálva, post hoc Mann-Whitney U-teszt) segítségével hasonlítottuk össze (Holm, 1979). Az első kísérletsorozatban a PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű iontoforetikus adásának hatását vizsgáló próbákban a farmakonok hatását a kontroll tüzelési aktivitás és az önálló vagy kombinált vegyület alkalmazása során mért tüzelési aktivitás összehasonlításával teszteltük, párosított mintákra vonatkozó Wilcoxon előjeles rang teszt segítségével.

Farmakonok közötti kölcsönhatások vizsgálata az első kísérletsorozatban: Az eddig felsorolt összehasonlításokon túl, az első kísérletsorozatban elemeztük a különböző vizsgált farmakonok közötti kölcsönhatások természetét. Kutatócsoportunk korábbi tanulmányában hasonló analízist írtunk le az NMDA és az ACh hatása közötti additív/szuperadditív kölcsönhatás tesztelésére (Bali és mtsai., 2017). Az alkalmazott analízis segítségével PHA-543613 és az NS1738 kombinált adás során vizsgált hatását a spontán tüzelési aktivitásra az alábbi képlet segítségével számoltuk ki:

$$(Sp_PHA - Sp) + (Sp_NS - Sp) \text{ vs. } Sp_PHA\&NS - Sp$$

A képletben a kombinált adás során is vizsgált vegyületek önálló adásai során spontán aktivitásra gyakorolt hatásának az összegét $(Sp_PHA - Sp) + (Sp_NS - Sp)$ hasonlítottuk össze a kombinált adás spontán aktivitásra gyakorolt hatásával $(Sp_PHA\&NS - Sp)$. Ugyanílyen összehasonlítást végeztünk a kombinált adás az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatásainak értékelésére:

$$(NMDA_PHA - NMDA) + (NMDA_NS - NMDA) \text{ vs. } NMDA_PHA\&NS - NMDA.$$

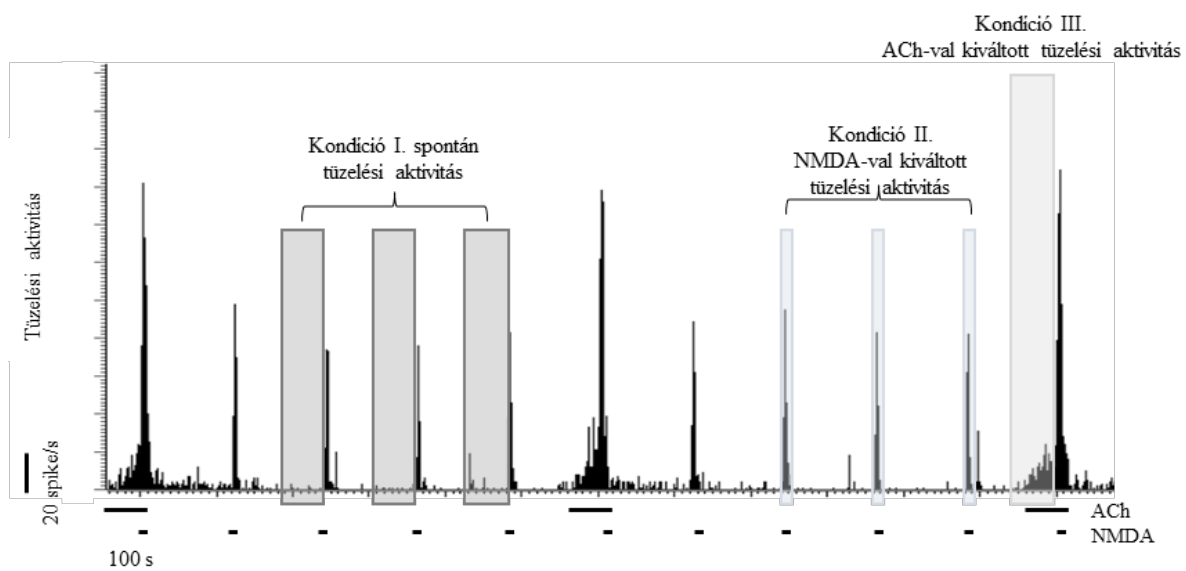
Mindkét interakciós elemzésben az egyéni hatások összegét a kombinált hatással hasonlítottuk össze párosított mintákra vonatkozó Wilcoxon előjeles rang teszt segítségével. A két vegyület egyidejű alkalmazása során a szignifikánsan magasabb relatív változás a két vegyület szuperadditív (szinergista) kölcsönhatására utalt a neuronok tüzelési aktivitásának növekedésében. Ezzel ellentétben az egyéni hatások összegénél szignifikánsan alacsonyabb kombinált hatás antagonistá kölcsönhatásra utalt. A nem szignifikáns eredmény a két vizsgált farmakon hatásai közötti esetleges additív kapcsolatra utalt.

5.6. Szisztémás hatások vizsgálata és az adatok elemzése

A dolgozatban vizsgált vegyületek szisztémás adásának hatását a második és a harmadik kísérletsorozatokban teszteltük.

Szisztémás hatások vizsgálata a második kísérletsorozatban: A második kísérletsorozatban különböző már forgalomban levő vagy gyógyszerjelölt vegyületeként vizsgált kognitív teljesítményfokozó vegyületek hatását vizsgáltuk szisztémás beadás után a hippocampus CA1-es régiójában található piramissejtek tüzelési aktivitását elemezve. Az alkalmazott kísérleti protokoll lehetővé tette, hogy mind a sejtek NMDA iontoforézisére adott

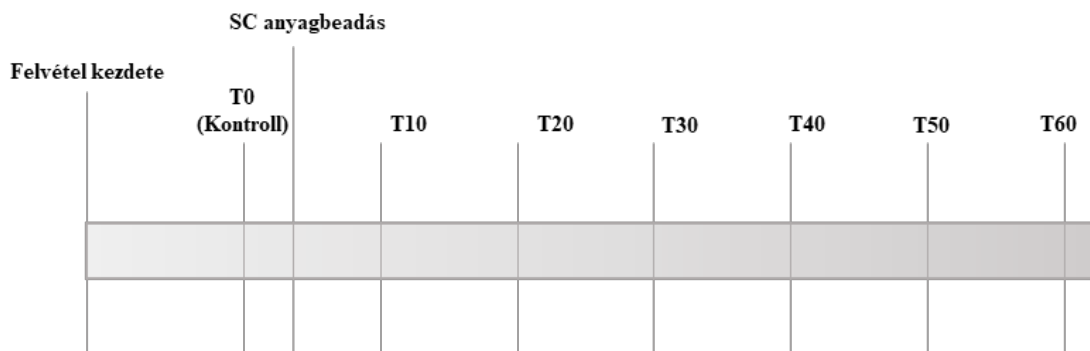
válaszaiban bekövetkező változásokat, mint az ACh adására adott válaszokat is analizálni tudjuk, a spontán tüzelési aktivitás mellett. A kísérletsorozat során egy-egy állatból csupán egy elvezetést végeztünk, hogy az egyes szisztémásan adott anyagok hatását kezelés-naiv patkányokon tudjuk megvizsgálni. Az egyes vizsgált vegyületekhez köthető kísérleti ülések során 2 percenként, 5 másodpercen keresztül adagoltunk iontoforézis technikájával NMDA-at a sejtek közvetlen közelébe. Miután az első kísérletsorozathoz hasonlóan itt is stabil NMDA-csúcsokat tudtunk kiváltani, 70 másodpercen keresztül ACh-t adagoltunk iontoforetikusan a sejtek mellé. Ezt követően az ACh adások 10 percenként történtek, így négy NMDA adás történt az egyes ACh adások között. Az alkalmazott protokoll segítségével három különböző tüzelési kondíciót tudtunk meghatározni: 1) az első kondíciót az idegsejtek spontán tüzelési aktivitása jelentette, melyet az iontoforézisek szünetében, az ACh adását megelőző, az NMDA csúcsok előtti három 60 másodperc hosszú intervallum alatt mért tüzelési aktivitások átlagából kalkuláltunk; 2) a második tüzelési kondíciót az NMDA által kiváltott tüzelési aktivitás jelentette, melyet az ACh beadását megelőző három NMDA csúcs átlagából számoltunk ki; 3) a harmadik tüzelési kondíció az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást foglalta magába, melyet az ACh iontoforetikus adásának első hatvan másodpercében detektált tüzelési aktivitást foglalta magába, mely nem volt átfedésben az NMDA adásával. A különböző tüzelési kondíciók ábrázolása egy reprezentatív felvételen az **6. ábrán** látható.



6. ábra

Egy reprezentatív kísérlet felvételének részlete, mely jól ábrázolja a második kísérletsorozatban alkalmazott kísérleti protokollt. A vizsgált piramissejtek tüzelési aktivitás hisztogramján (spike/s) jelöltük a kísérletek során mért különböző kondíciókat (spontán, NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás, ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás) számításának a módját.

A stabil spontán, NMDA-val kiváltott és ACh-val kiváltott kontroll tüzelési aktivitás mérése után (T0) különböző farmakológiai kezeléseket alkalmaztunk szisztémásan, SC injekció segítségével. A szisztémás kezelést követően az NMDA és ACh iontoforetikus adagolását periodikusan ismételtük a teljes felvétel során (T10, T20, T30, T40, T50, T60), amely 60 percig tartott. A szisztémás adások időzítését és a felvételek sematikus protokollját az **7. ábra** foglalja össze.



7. ábra

Egy felvétel sematikus ábrája, melyen jól elkülönülnek a szisztémás anyagbeadáshoz köthető egyes események (kontroll, SC anyagbeadás, majd a felvétel végéig az egyes kitüntetett időpontok).

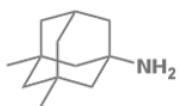
Szisztémás hatások vizsgálata a harmadik kísérletsorozatban: A harmadik kísérletsorozatban különböző NMDA-receptorokra ható vegyületek hatását teszteltük szisztémás adásuk után. A vizsgált vegyületek közé a D-szerin és CPD30 nevű anyagok tartoztak. Az alkalmazott kísérleti protokoll segítségével a hippocampális sejtek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitását tudtuk megvizsgálni, a hatásmechanizmusuknak megfelelően. Így a második kísérletsorozathoz nagyon hasonló iontoforetikus protokollt alkalmaztunk, de a harmadik kísérletsorozatban nem vizsgáltuk a sejtek ACh érzékenységét. A harmadik kísérletsorozatban két különböző tüzelési kondíciót vizsgáltunk: a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásokat. Röviden összefoglalva: az NMDA iontoforetikus adások két percenként történtek, 5 másodpercen keresztül tartottak. Öt darab megfelelő NMDA csúcs után (T0, kontroll) a vizsgált anyag beadása vagy ezekhez tartozó vehikulum (0,9% NaCl oldat, vagy PEG-400) beadása történt SC injekció segítségével. A vizsgált anyag beadása után a felvétel folytatódott, az NMDA beadások két percenként követték egymást 60 percen keresztül. A szisztémás adások időzítését és a felvételek sematikus protokollját az **7. ábra** foglalja össze.

Adatok elemzése a szisztémás vizsgálatok során

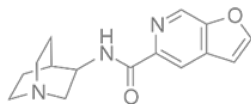
A vizsgált vegyületek hatását a különböző tüzelési kondíciókban (második kísérletsorozatban: spontán, az NMDA-val kiváltott és az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás; harmadik kísérletsorozatban: spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás) a normalizált tüzelési aktivitás segítségével elemeztük. Az adatokat a kezelés beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagértékével normalizáltuk. Az egyes tüzelési kondíciókat minden esetben külön kezeltük. Először a szisztémásan beadott vegyületek időbeli hatását elemeztük, az alapján, hogy a kontroll értéktől (T_0) eltér-e az időben, az anyag beadásához képest később mért normalizált tüzelési aktivitás. A hipotézisek teszteléséhez egytényezős hierarchikus lineáris modellt használtunk („linear mixed effect model”), melyben az ismételt mérések (azaz egy adott állatból elvezetett neuronok tüzelési frekvencia értékei) korrelációját ún. random intercept modell használatával hajtottuk végre. A különböző vegyületek időbeli hatását vizsgálva összehasonlítottuk az SC injekció beadása utáni időpontokban mért (T_{10} - T_{60}) és a kontrollpont (T_0) közötti különbségeket LSD teszt segítségével (Holm-módszerrel korrigálva) (Holm, 1979).

A vizsgált vegyületek időbeli hatásán kívül összehasonlítottuk a vizsgált vegyületek tüzelési aktivitásra kifejtett hatását a hozzájuk tartozó vivőanyag-kontroll, vehikulum hatásával. Ezen összehasonlításnak az alapját a vizsgált vegyületekhez köthető regressziós egyenesek adták, melyek az adott vegyülethez tartozó tüzelési aktivitás idő függvényében való változásából számítható. Így a két összehasonlítandó vegyület (a vizsgált vegyület és a hozzá tartozó kontroll vegyület) regressziós egyenesének a meredeksége került összehasonlításra, itt is egytényezős hierarchikus lineáris modellt („linear mixed effect model”) használva. Az analízishez használt képletben a TŰZELÉS a kapott tüzelési frekvencia értékeket jelenti (Hz), az IDŐ folyamatos prediktort, mely a vizsgált anyag beadásától eltelt időt jelentette, $KEZELÉS[1]$ - $KEZELÉS[n]$ az adott összehasonlításban szereplő tesztvegyületeket, b_0 - b_{2n+1} becsült paramétereket, v_i a random intercept-et és az e a hibát. Az alsó indexekben található i betű az i -edik állatnak, míg az alsó indexben található j betűk a j -edik ismételt mérésnek felelnek meg. Ha az IDŐ és a KEZELÉS közötti főhatások szignifikánsak voltak (ANOVA), arra következtettünk, hogy a tüzelési aktivitás mértéke az idő függvényében, az adott kezelési csoportban szignifikánsan különbözik a kontroll kezelés hatására létrejövő tüzelési aktivitás változásától az idő függvényében.

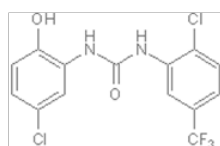
$$\begin{aligned}
TÜZELÉS_{ij} &= b_0 + b_1 \times IDŐ_{ij} + b_2 \times KEZELÉS[1]_{ij} + \dots + b_{n+1} \times KEZELÉS[n]_{ij} \\
&+ b_{n+2} \times IDŐ_{ij} \times KEZELÉS[1]_{ij} + \dots + b_{2n+1} \times IDŐ_{ij} \times KEZELÉS[n]_{ij} \\
&+ v_i + e_{ij}
\end{aligned}$$



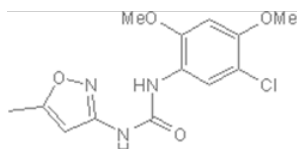
Memantin



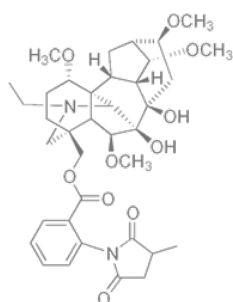
PHA-543613



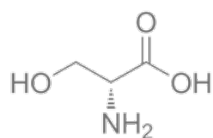
NS-1738



PNU120596



MLA



D-szerin

8. ábra
A vizsgált vegyületek szerkezeti képlete

6. Eredmények

6.1. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek önálló és kombinált lokális hatásai

Az első kísérletsorozatban különböző alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek (agonista: PHA-543613; PAM: NS-1738 és PNU120596; antagonisták: MLA) spontán tüzelési aktivitásra és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatását összesen 111 hippocampális piramissejten vizsgáltuk meg. Ezen túlmenően a GABA hatását kontrollként 19 neuronon (8 patkánytól; az adatok nem szerepelnek az ábrákon) vizsgáltuk.

Spontán tüzelési aktivitásra gyakorolt hatások: A PHA-543613 alfa7 nACh-receptor agonista iontoforézise során a vizsgált neuronok igen nagy számánál, közel egyenlő mértékben tapasztaltunk növekedést és csökkenést a kontroll spontán tüzelési aktivitáshoz képest. A 71 neuronból 30 neuronban (42,3%) a PHA-543613 növelte a spontán tüzelési frekvenciát, míg 21/71 neuron (29,6%) tüzelési frekvencia csökkenéssel reagált a PHA-543613 adására (növekedés vs. csökkenés): 30 vs. 21, binomiális teszt: $p=0,262$; **9. ábra**). A normalizált tüzelési aktivitást vizsgálva a PHA-543613 hatására a kontroll aktivitáshoz képest szignifikánsan magasabb tüzelési aktivitást detektáltunk ($293,3 \pm 59,2\%$ vs. 100%, egymintás Wilcoxon próba: $W=1635,5$, $z=2,048$, $p=0,041$).

Ezzel szemben az alfa7 nACh-receptor PAM-ok túlnyomórészt növelték a neuronok spontán tüzelési aktivitását. A neuronok nagy többsége a tüzelési aktivitás növekedéssel reagált mind az NS-1738, mind a PNU-120596 lokális adására (34/40, 85%, illetve 7/8, 87,5%), ami a tüzelési frekvenciát növelő hatások szignifikánsan nagyobb gyakoriságát eredményezte a tüzelési frekvenciát csökkentő hatásokhoz képest (NS-1738: 34 vs. 3 neuron, $p<0,001$; PNU-120596: 7 vs. 0 neuron, $p<0,001$; **9. ábra**). A neuronok spontán tüzelési aktivitása mindkét PAM vegyület alkalmazása során szignifikánsan megnőtt a kiindulási értékhez képest (NS-1738: $679,6 \pm 197,8\%$ vs. 100%, $W=784$, $z=5,027$, $p<0,001$; PNU-120596: $284,6 \pm 110,1\%$ vs. 100%, $W=36$, $z=2,521$, $p=0,012$). Az NS-1738 adása során a normalizált tüzelési aktivitás szignifikánsan magasabb volt, mint a PHA-543613 adása során kapott érték (Kruskal-Wallis teszt: $H=21,1$, $p<0,001$; NS-1738 vs. PHA-543613: $p<0,001$; **10. ábra**).

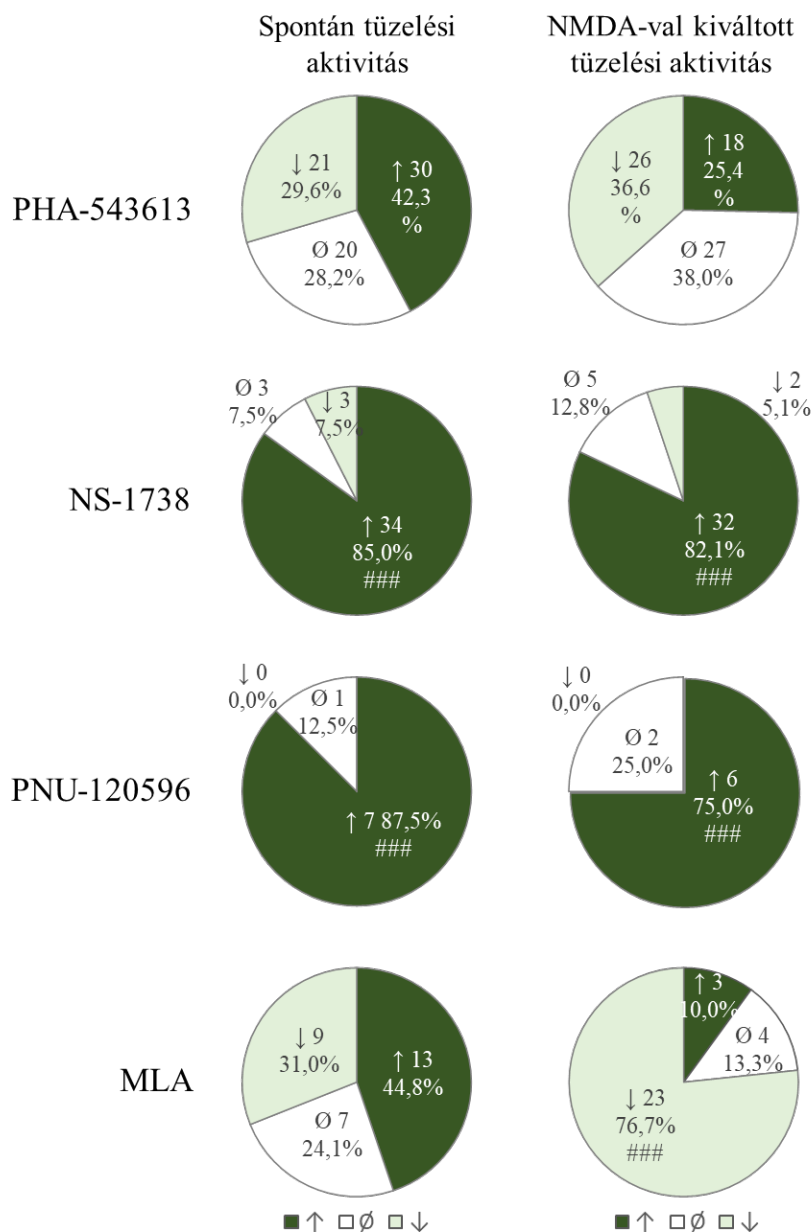
MLA adás hatására is szinte egyenlően oszlottak meg a tüzelési frekvenciát növelő (13/29 neuron, 44,8%) és a csökkentő (9/29 neuron, 31,0%) hatások, hasonlóan a PHA-543613-hoz (növekedés vs. csökkenés: 13 vs. 9, $p=0,524$; **9. ábra**). De a normalizált tüzelési frekvencia nem különbözött szignifikánsan a kontroll spontán tüzelési aktivitástól az MLA alkalmazása után ($179,8 \pm 47,3\%$ vs. 100%, $W=277$, $z=1,685$, $p=0,092$).

Referencia gátló vegyületként alkalmazott GABA mind a 18 vizsgált neuron spontán tüzelési rátáját csökkentette (növekedés vs. csökkenés: 0 vs. 18, $p < 0,001$). A spontán tüzelési ráta a GABA alkalmazása következtében a kiindulási aktivitás $20,9 \pm 3,7\%$ -ára csökkent ($20,9 \pm 3,7\%$ vs. 100% , $W=171$, $z=3,724$, $p < 0,001$).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatások: A spontán tüzelési aktivitásra gyakorolt hatásokhoz hasonlóan a PHA-543613 a neuronok NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitására is közel azonos arányban fejtett ki növelő és csökkentő hatásokat (növekedés: 18/71 neuron, $25,4\%$; csökkenés: 26/71 neuron, $36,6\%$; 18 vs. 26: $p=0,291$; **9. ábra**). Továbbá, a PHA-543613 alkalmazása során az NMDA-val kiváltott normalizált tüzelési aktivitás nem volt szignifikánsan magasabb, mint a kontroll NMDA-val kiváltott normalizált tüzelési aktivitás ($105,5 \pm 7,6\%$ vs. 100% , $W=1385$, $z=0,834$, $p=0,404$). A PHA-543613 tüzelési frekvenciát növelő és csökkentő hatásának reprezentatív felvételeit az **1. sz. melléklet A és B paneljén** látható.

Ezzel szemben a PAM-vegyületek (NS-1738 és PNU-120596) túlnyomórészt növelték a neuronok NMDA kiváltotta tüzelési aktivitását (NS-1738: 32/39 neuron, $82,1\%$, növekedés vs. csökkenés: 32 vs. 2, $p < 0,001$; PNU-120596: 6/8 neuron, $75,0\%$, növekedés vs. csökkenés: 6 vs. 0, $p < 0,001$; **9. ábra**). A kontroll NMDA-val kiváltott normalizált tüzelési aktivitáshoz képest jelentősen magasabb normalizált tüzelési aktivitást eredményeztek a vizsgált idegsejteknel a PAM vegyületek (NS-1738: $154,5 \pm 8,1\%$, $W=750$, $z=5,024$, $p < 0,001$; PNU-120596: $122,6 \pm 5,8\%$, $W=34$, $z=2,240$, $p=0,025$). A PAM-ok szignifikánsan magasabb NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást eredményeztek a PHA-543613 hatásához képest is (**10. ábra**; $H=49,3$, $p < 0,001$; NS-1738 vs. PHA-543613: $p < 0,001$; PNU-120596 vs. PHA-543613: $p=0,049$). Az NS-1738 és a PNU-120596 tüzelési frekvenciát növelő hatásának reprezentatív felvételeit az **1. sz. melléklet C panelje** mutatja.

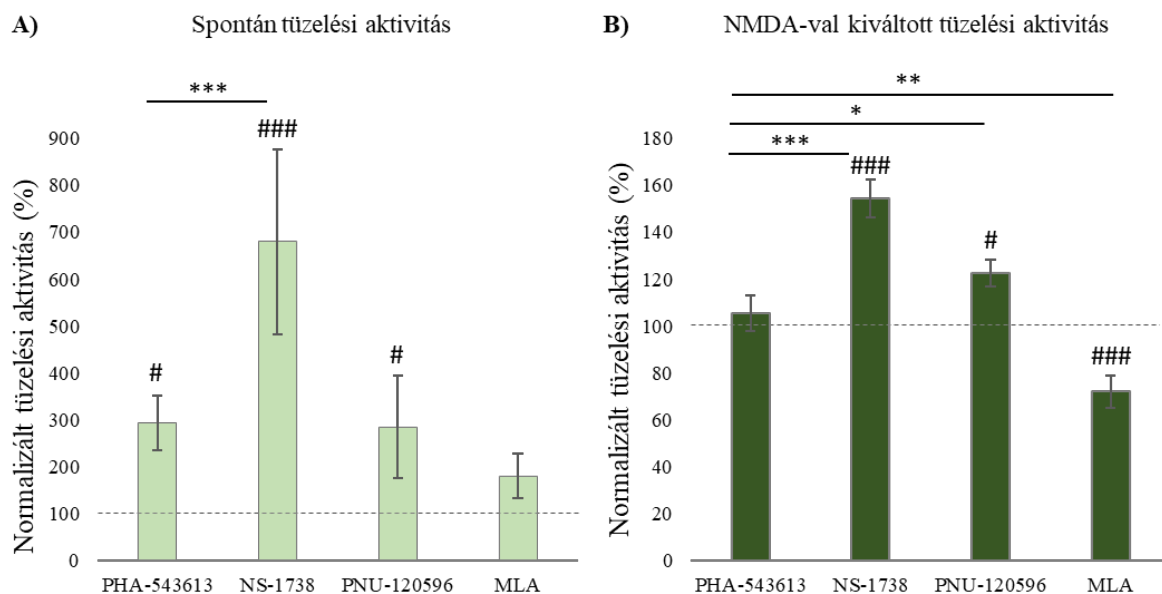
Az MLA jelentős gátló hatást gyakorolt az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra, csökkentve azt 30 neuronból 23 esetben ($76,7\%$, növekedés vs. csökkenés: 3 vs. 23, $p < 0,001$; **9. ábra**). MLA hatására a sejtek aktivitása átlagosan a kontroll NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás $72,0 \pm 6,9\%$ -ára csökkent ($72,0 \pm 6,9\%$ vs. 100% , $W=402,5$, $z=3,500$, $p < 0,001$). A PHA-543613-hoz képest a normalizált NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás az MLA alkalmazása során szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a PHA-543613 alkalmazása során (MLA vs. PHA-543613: $p=0,001$; **10. ábra**).



9. ábra

A vizsgált iontorofertikusan adott farmakonok hatására létrejövő jellemző válaszai (csökkenés (↓), növekedés (↑), nem változott (∅)) a sejteknek kördiagramon ábrázolva. A kettőskereszt szimbólumok azt jelzik, hogy a binomiális teszt szerint a hatások szignifikánsan nagyobb valószínűséggel jelentkeztek, mint az ellenkező hatás (azaz a tüzelési frekvencia növekedése vagy csökkenése közötti különbségeket mutatja): ### $p < 0,001$.

A refenciaként alkalmazott GABA 19 neuronból 17-ben csökkentette az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, a maradék két esetben a nem változott kategóriába tudtuk sorolni a sejtek válaszát (növekedés vs. csökkenés: 0 vs. 17, $p < 0,001$). A GABA iontoforetikus adásának hatására az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás a kontroll NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás $38,1 \pm 7,1\%$ -ára csökkent ($38,1 \pm 7,1\%$ vs. 100% , $W=188$, $z=3,743$, $p < 0,001$).



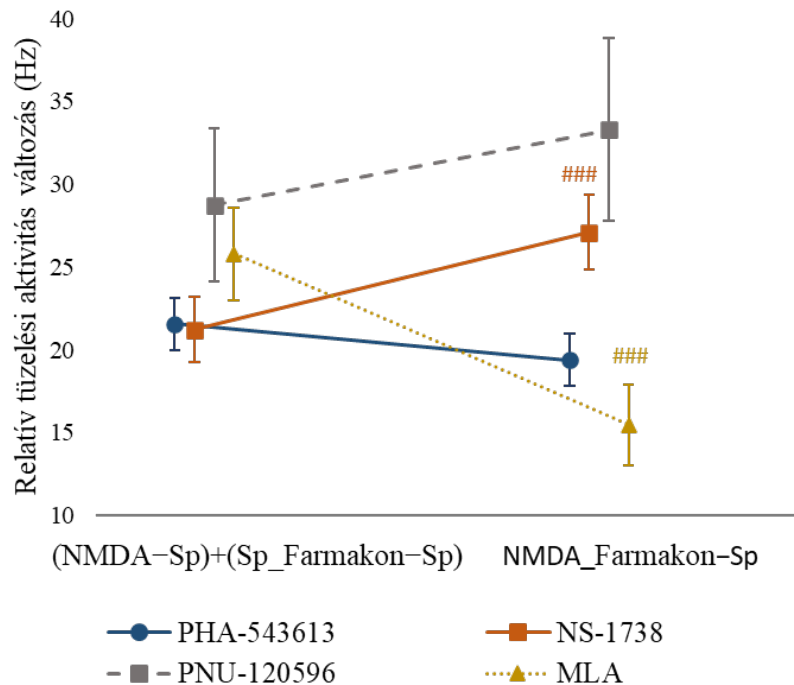
10. ábra

A spontán (A) és az NMDA-val kiváltott (B) normalizált tüzelési aktivitás összehasonlítása a különböző tesztvegyületek lokális alkalmazása után (átlag \pm SEM). A PHA-543613, NS-1738, PNU-120596 és MLA hatását a spontán tüzelési frekvenciára 71, 40, 8 és 29 neuronon vizsgáltuk (Kruskal-Wallis $H=21,1$, $p<0,001$). A PHA-543613, NS-1738, PNU-120596 és MLA hatását az NMDA kiváltott tüzelési frekvenciára 71, 39, 8 és 30 neuronon vizsgáltuk (Kruskal-Wallis $H=49,3$, $p<0,001$). A sávok feletti kettős kereszt szimbólumok azt jelzik, hogy az adott kezelés az alapvonalnál (100%) szignifikánsan magasabb normalizált tüzelési aktivitást eredményezett: # $p<0,05$, ### $p<0,001$. A csillag szimbólumok az átlagos normalizált tüzelési aktivitások közötti szignifikáns különbségeket jelzik a különböző vizsgált farmakonok adásának hatására (post-hoc összehasonlítások): * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$.

Az NMDA és a vizsgált kolinerg farmakonok közötti kölcsönhatások

Összehasonlítottuk az NMDA és a különböző tesztelt vegyületek hatásának összegét az NMDA és az adott farmakon egyidejű alkalmazásának a tüzelési frekvenciára gyakorolt hatásával [(NMDA-Sp)+(Sp_Farmakon-Sp) vs. NMDA_Farmakon-Sp]. Az NMDA és a PHA-543613 egyidejű alkalmazása utáni tüzelési aktivitás ($19,37\pm 1,58$ Hz) nem különbözött a külön-külön iontoforetizált NMDA és PHA-543613 hatásainak összegétől ($21,56\pm 1,55$ Hz, $W=1607$, $z=1,885$, $p=0,059$), ami arra utal, hogy az egyidejűleg alkalmazott NMDA és PHA-543613 additív hatást gyakorolt a tüzelési aktivitásra. A másik alfa7 nACh-receptor ligand, a PAM, NS-1738 szuperadditív módon növelte a tüzelési aktivitást, amikor NMDA-val együtt adtuk iontoforetikusan, összehasonlítva a külön-külön alkalmazott hatásuk összegével [(NMDA-Sp)+(Sp_Farmakon-Sp) vs. NMDA_Farmakon-Sp]: $27,09\pm 2,27$ Hz vs. $21,21\pm 1,97$ Hz, $W=698$, $z=4,298$, $p<0,001$]. Továbbá, az NMDA és az MLA közötti antagonisták kölcsönhatást tovább erősítette, hogy az NMDA és az MLA egyedi hatásainak összegéhez képest

szignifikánsan alacsonyabb kombinált hatást találtunk [(NMDA-Sp)+(Sp_Farmakon-Sp) vs. NMDA_Farmakon-Sp): $15,47 \pm 2,43$ Hz vs. $25,80 \pm 2,81$ Hz, $W=408$, $z=4,120$, $p<0,001$]. Az összehasonlításokat a **11. ábra** mutatja be.



11. ábra

Az NMDA és a különböző vizsgált vegyületek közötti kölcsönhatás értékelése. Az adatpontok átlagos értékeket jelölnek, a hibasávok SEM-et ábrázolnak. A vizsgált sejtszámok az alábbiak: 71, 39, 8 és 29 volt a PHA-543613, NS-1738, PNU-120596 és MLA esetében. A kettős kereszt szimbólumok szignifikáns különbséget jeleznek az NMDA és az adott testvegyület összesített és önálló hatása között [(NMDA-Sp)+(Sp_Drug-Sp)] és a kombinált iontoforetikus adásuk között (NMDA_Drug-Sp): ### $p<0.001$.

A PHA-543613 és az NS-1738 közötti kölcsönhatások

A PHA-543613 és az NS-1738 közötti kölcsönhatásokat 19 neuronon teszteltük, megvizsgálva a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatásukat az önálló és kombinált adásuk után [(Sp_PHA-Sp)+(Sp_NS-Sp) vs. Sp_PHA&NS-Sp), és (NMDA_PHA-NMDA)+(NMDA_NS-NMDA) vs. NMDA_PHA&NS-NMDA]. A PHA-543613, az NS-1738 és a kombinált adásuk hatására vonatkozó reprezentatív felvételek a **2. sz. mellékletben** láthatók.

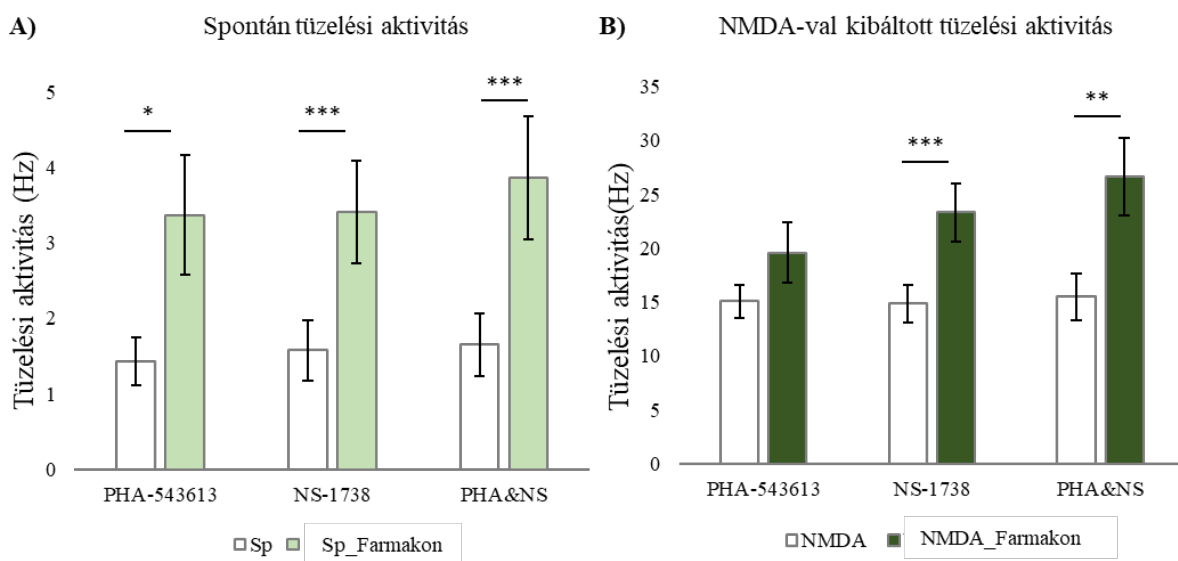
Spontán tüzelési aktivitás: A 19 neuron közül a PHA-543613 önálló adása 12 idegsejt spontán tüzelési aktivitását növelte, míg mindössze 3 neuron tüzelési aktivitása csökkent a

vegyület alkalmazása után. A spontán tüzelési aktivitás szignifikánsan nagyobb volt a PHA-543613 adása során mért spontán tüzelési aktivitás és a kontroll spontán tüzelési aktivitás között $1,4\pm 0,3$ Hz-ről $3,4\pm 0,8$ Hz-re ($W=141$, $z=2,417$, $p=0,016$, **12. ábra**). Az NS-1738 önálló adása során a 19 neuront vizsgálva 17 esetben növelte a spontán tüzelési aktivitást (1 neuronban csökkent a tüzelési aktivitás), a kontroll spontán tüzelési aktivitással összehasonlítva, a tüzelési aktivitás átlagosan $1,6\pm 0,4$ Hz-ről $3,4\pm 0,7$ Hz-re nőtt ($W=198,5$, $z=3,492$, $p<0,001$). A PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű iontoforetikus adása során a 19 neuronból 18-ban a spontán tüzelési aktivitás növekedését eredményezte, és nem volt megfigyelhető csökkenő hatás. A PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű alkalmazása két olyan neuron tüzelési aktivitását is növelte, amelyek a PHA-543613 önálló adására csökkent tüzelési aktivitással reagáltak. A PHA-543613 és az NS-1738 kombinált adása a spontán tüzelési aktivitást $1,7\pm 0,4$ Hz-ről $3,9\pm 0,8$ Hz-re növelte ($W=207$, $z=3,808$, $p<0,001$). A PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű adása nem eredményezte a spontán tüzelési aktivitás szignifikánsan nagyobb relatív növekedését (kombinált adás) a két vegyület önálló adásai során mért tüzelési aktivitások összegéhez képest [$Sp_PHA\&NS-Sp$ vs. $(Sp_PHA-Sp)+(Sp_NS-Sp)$]: $2,2\pm 0,6$ Hz vs. $3,8\pm 0,9$ Hz, Wilcoxon teszt: $W=143$, $z=1,419$, $p=0,156$].

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: A PHA-543613 önálló adása a 19 neuronból 9-ben növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, míg 6 neuronban az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás csökkenését figyeltük meg. A PHA-543613 önálló alkalmazása után az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás ($19,6\pm 2,8$ Hz) nem volt szignifikánsan magasabb, mint a kontroll NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás ($15,1\pm 1,5$ Hz, $W=127$, $z=1,288$, $p=0,198$, **12. ábra**). Az NS-1738 önálló adása a 19 neuronból 15-ben növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, és nem volt olyan neuron, amely esetében csökkent volna az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás. Átlagosan az NS-1738 önálló adása szignifikánsan növelte a neuronok tüzelési aktivitását $14,9\pm 1,7$ Hz-ről $23,3\pm 2,7$ Hz-re ($W=190$, $z=3,823$, $p<0,001$). A PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű iontoforetikus adása 19 neuronból 16-ban növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, míg 2 neuron esetében csökkent az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás a kombinált iontoforetikus kezelés hatására. A PHA-543613 és az NS-1738 kombinált alkalmazásának hatására az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás szignifikánsan megnőtt a kontroll aktivitáshoz képest $15,5\pm 2,2$ Hz-ről $26,6\pm 3,6$ Hz-re ($W=171$, $z=3,058$, $p=0,002$). A PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű alkalmazása azonban nem mutatott nagyobb relatív hatást, mint a két vegyület önálló adása során létrejövő relatív tüzelési aktivitások

összege [NMDA_PHA&NS-NMDA vs. (NMDA_PHA-NMDA)+(NMDA_NS-NMDA): 11,1±2,8 Hz vs. 12,9±4,0 Hz, W=107, z=0,483, p=0,629].

Amit viszont fontos kiemelni, hogy a 6 neuron közül, amelyek a PHA-543613 önálló alkalmazására csökkent NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitással reagáltak, 5 neuron a PHA-543613 és az NS-1738 egyidejű adására ezzel ellentétes választ mutatott, növelve az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást. Ezt a jelenséget tovább elemezve külön összehasonlítottuk a PHA-543613 és az NS-1738 önálló alkalmazása során detektált változások összegét a kombinált adásuk során mért hatásukkal azon a 6 neuronon is, amelyek a PHA-543613 önálló adására csökkent NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitással reagáltak. Ezt a kis csoportot vizsgálva a PHA-543613 és az NS-1738 kombinált adásának hatása szuperadditív módon növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, amikor a PHA-543613 önálló adása csökkentő hatást gyakorolt a tüzelési aktivitásra [NMDA_PHA&NS-NMDA vs. (NMDA_PHA-NMDA)+(NMDA_NS-NMDA): -1,0±3,5 Hz vs. 16,6±5,9 Hz, W=21, z=2,201, p=0,028]. Ez az eredmény arra utalhat, hogy a PHA-543613 gátló hatása az alfa7 nACh-receptorra serkentő hatásra változhat, ha a receptorra specifikus PAM NS-1738 is jelen van.



12. ábra

Az alfa7 nAChR agonista PHA-543613 és a PAM NS-1738 hatásainak összehasonlítása külön-külön és kombinált adásuk során. Az ábrákon a kontroll tüzelési aktivitás és a farmakon adása alatti tüzelési aktivitás értékeket ábrázoltuk (átlag±SEM) (A, N=20, spontán tüzelési aktivitás és (B, N=19, NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás) A csillag szimbólumok az adott farmakon szignifikáns hatását jelzik a Wilcoxon próbák alapján a kontroll tüzelési aktivitáshoz képest képest: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

6.2. Alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyületek és a memantin önálló és kombinált szisztémás hatásai

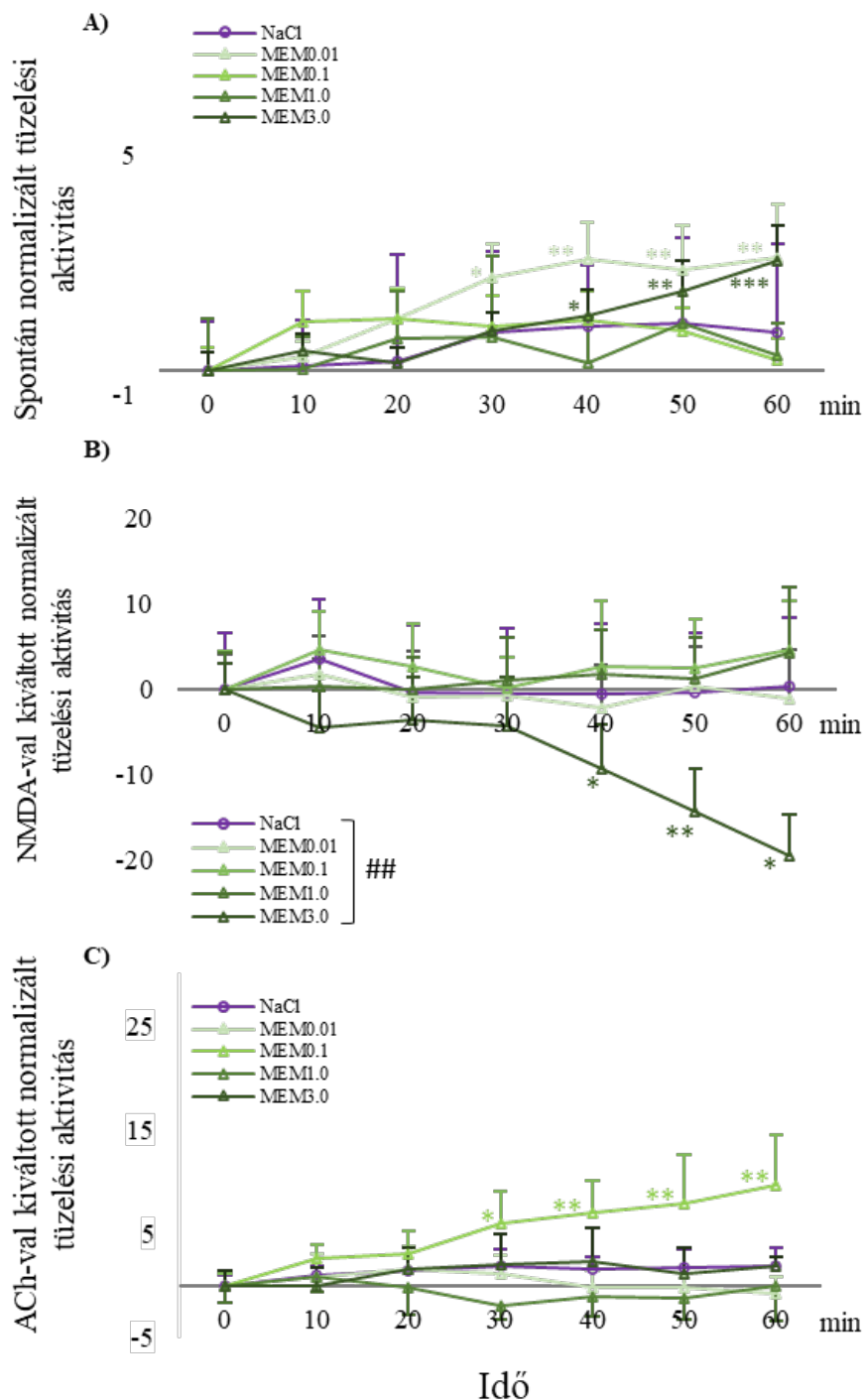
A hippocampus piramis sejtjeinek tüzelési aktivitását a három különböző tüzelési kondícióban 185 elektrofiziológiai felvétel segítségével mértük és elemeztük. Az alkalmazott farmakológiai kezeléseket a vizsgált vegyületek szerint külön csoportokra lehetett osztani, valamint attól függően, hogy önállóan vagy kombinálva alkalmaztuk a különböző farmakológiai kezeléseket, el tudunk különíteni monoterápiás kezeléseket és kombinált kezeléseket. A monoterápiás és kombinált kezeléseknél ugyanazokat a kontrollfelvételeket használtuk a statisztikai összehasonlítások során. Így a 0,9%-os NaCl és Tween 80-as felvételek száma megegyezik a monokezelések és a kombinált kezelések esetében.

A memantin hatása a hippocampális neuronok tüzelési aktivitására a három különböző tüzelési kondícióban

Spontán tüzelési aktivitás: A memantin dózis függően növelte a spontán tüzelési sebességet az idő múlásával (MEM0,01: $F(6, 71,1)=3,257, p=0,007$), a tüzelési sebesség már 30 perccel a MEM0,01 beadása után szignifikánsan magasabb volt az injekció beadása előtti kontrollértékekhez képest (T0: $1,07\pm 0,40$ Hz; T30: $2,98\pm 0,73$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $1,94\pm 0,73; p<0,001$), és tovább nőtt a kezelés végéig (T60: $3,40\pm 1,14$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $2,35\pm 1,14; p<0,001$) (**13.A ábra**). Ezenkívül a memantin esetében vizsgált legmagasabb dózis (MEM3,0) szintén növelte a spontán tüzelési aktivitást (T40: $2,36\pm 0,55$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $1,15\pm 0,55; p=0,032$) a T0 kontrollértékhez (T0: $1,33\pm 0,52$ Hz) képest; MEM3,0: ($F(6, 70,2)=4,872, p<0,001$).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: Az összes vizsgált memantin dózis közül csak a legmagasabb memantin dózis, a MEM3,0 csökkentette az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást az idő múlásával (MEM3,0: $F(6, 65,882)=2,762, p=0,019$), a neuronok NMDA-érzékenysége 40 perccel a memantin beadása után kezdett el jelentősen csökkenni (T40: $26,86\pm 5,24$ Hz vs. T0: $36,21\pm 3,02$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $-9,34\pm 5,24; p=0,02$), és tovább csökkent a következő 20 percben a felvételek végéig (T50: $31,81\pm 6,7$ Hz vs T0: $36,21\pm 3,02$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $-14,41\pm 5,02; p=0,02$) és (T60: $27,53\pm 7,19$ Hz vs T0: $36,21\pm 3,02$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $-19,48\pm 4,7; p=0,001$) (**13.B ábra**). A 0,9%-os NaCl oldat és a MEM3,0 regressziós meredekségét összehasonlítva az IDŐ és a KEZELÉS közötti szignifikáns kölcsönhatás megerősítette a memantin hatékonyságát a vehikulumos kezeléshez képest (IDŐ×KEZELÉS: ($F(4, 339,6)=4,255, p=0,002$; paraméter becslések: TIME×[MEM_3,0]: $-0,22\pm 0,08, df=339,4, t=-2,793, p=0,006$).

ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás: A memantin 0,1 mg/kg dózisban szignifikánsan növelte a neuronok ACh-val kiváltott tüzelési aktivitását az idő múlásával (MEM0,1: $F(6, 575,451)=2,948, p=0,014$), az időbeli hatás a kezelés után 30 perccel jelent meg (T0: $7,41\pm 1,16$ Hz; T30: $13,47\pm 3,0$ Hz, normalizált tüzelési aktivitás: $6,06\pm 3,0; p=0,023$); **13.C ábra**). Az idő múlásával azonban nem volt különbség a két kezelés között (vehikulum és a memantin) (IDŐ×KEZELÉS: $F(4, 290,3)=4,788, p=0,058$).



13. ábra

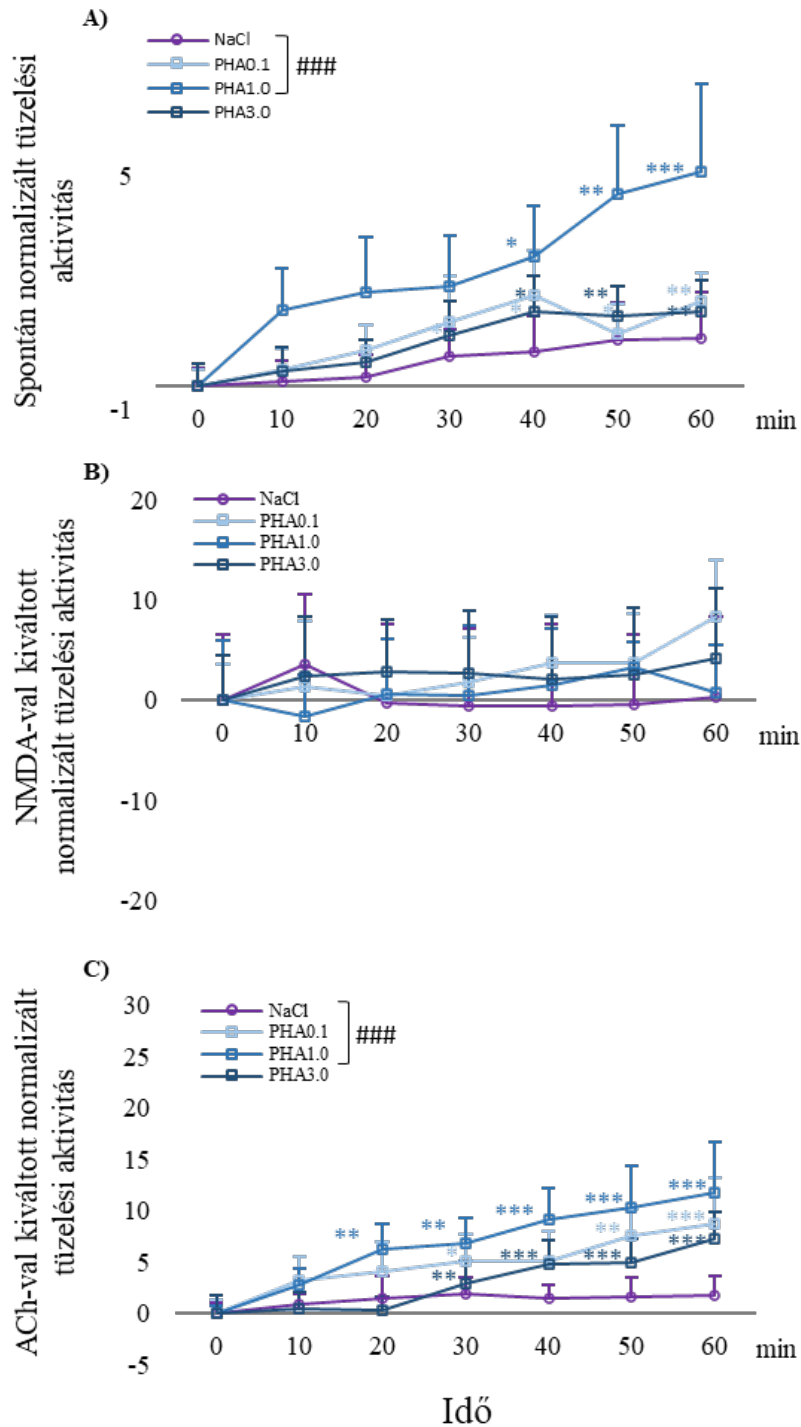
Hippocampus CA1-es régió piramissejtjeinek normalizált tüzelési aktivitása (az adatokat a kezelés beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagértékével normalizáltuk) 1 ml/kg sóoldat (0,9% NaCl) és a vizsgált négy memantin dózis (0,01 mg/kg; 0,1 mg/kg; 1 mg/kg; 3 mg/kg) beadása előtt (T0) és után (T10-T60). A hibasávok az adott adatponthoz tartozó SEM értékeket jelenítik meg. (A) Spontán tüzelési aktivitás (B) NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás (C) ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsoron végeztük. Az egyes időpontok feletti csillag szimbólumok az adott kezelési csoportban mért kontroll értékektől való szignifikáns eltéréseket mutatják: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. A kettős kereszt szimbólum szignifikáns különbséget jelöl a különböző vizsgált vegyületek hatása között: ## $p < 0,01$

A PHA-543613 hatása a hippocampális neuronok tüzelési aktivitására

Spontán tüzelési aktivitás: Az alfa7 nACh-receptor parciális agonista PHA-543613 minden alkalmazott dózisban befolyásolta a spontán tüzelési aktivitást az idő függvényében: PHA0,1; PHA1,0 és PHA3,0 mind növelték a spontán tüzelési aktivitást a kezelés előtti kontroll értékekhez képest (PHA0,1: (F(6, 59.944)=3.901, p=0.002); PHA1,0: (F(6, 53.726)=3.314, p=0.008); PHA3,0: (F(6, 61.186)=3.382, p=0.006)). A tüzelési aktivitás először a PHA-543613 beadása után 30 vagy 40 perccel volt szignifikánsan magasabb a beadás előtti kontroll értékekhez képest, a növekvő tendencia a felvételek végéig megmaradt (**14.A ábra**). A PHA1,0 szignifikánsan nagyobb volt a 0,9% NaCl oldat hatásával összehasonlítva (IDŐ×KEZELÉS: (F(3, 254,0)=4,991, p=0,002; paraméter becslések: IDŐ×[PHA1,0]: 0,06±0,02, df=255,3, t=3,702, p=0,0003).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: A PHA-543613 egyik vizsgált dózisa sem befolyásolta szignifikánsan az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást, és nem volt különbség a 0,9%-os NaCl oldat és a specifikus PHA-543613 dózisok hatásai között (**14.B ábra**).

ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás: Az alfa7 nACh-receptor agonista PHA-543613 nagy mértékben növelte az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást az idő függvényében az összes vizsgált dózisban (PHA0,1: F (6, 57,227) =3,369, p= 0,007; PHA1,0: F (6, 62,964)=5,567, p=0,0001; PHA3,0: F(6, 54,0)=11,716, p<0,001; **14.C ábra**). Továbbá a PHA1,0 hatása szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontroll 0,9%-os NaCl oldat hatása az ACh-val kiváltott normalizált tüzelési aktivitásra (IDŐ×KEZELÉS: (F(3, 249,7)=5,406, p<0,001; paraméter becslések: IDŐ×[PHA_1,0]: 0,19±0,05, df=251,467, t= 1,071, p=0,0002).



14. ábra

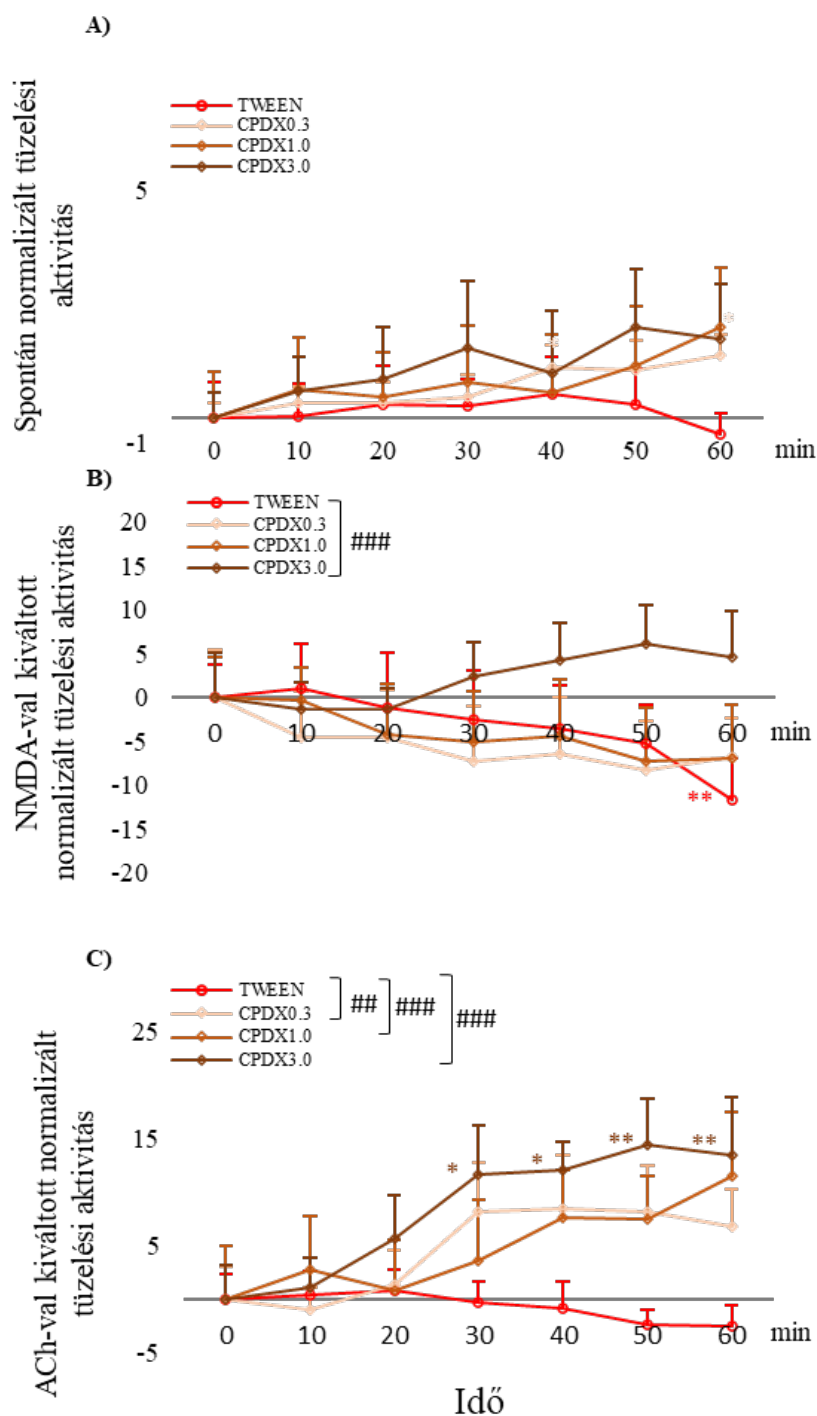
Hippocampus CA1-es régió piramissejtjeinek normalizált tüzelési aktivitása (az adatokat a kezelés beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagértékével normalizáltuk) 1 ml/kg sóoldat (0,9% NaCl) és a vizsgált három PHA-543613 dózis (0,1 mg/kg; 1 mg/kg; 3 mg/kg) beadása előtt (T0) és után (T10-T60). A hibásávok az adott adatponthoz tartozó SEM értékeket jelenítik meg. (A) Spontán tüzelési aktivitás (B) NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás (C) ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsoron végeztük. Az egyes időpontok feletti csillag szimbólumok az adott kezelési csoportban mért kontroll értékektől való szignifikáns eltéréseket mutatják: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. A kettős kereszt szimbólum szignifikáns különbséget jelöl a különböző vizsgált vegyületek hatása között: ### $p < 0,001$

A CPDX hatása a hippocampális neuronok tüzelési aktivitására

Spontán tüzelési aktivitás: Az alfa7 nACh-receptor pozitív allosztérikus modulátor CPDX csak gyenge tüzelési aktivitást növelő hatást gyakorolt a spontán tüzelési aktivitásra a 0,3 mg/kg dózisban alkalmazva (CPDX0,3: $F(6, 29,9)=2,577$, $p=0,027$). A tüzelési frekvencia csak a beadást követő 40. percben volt szignifikánsan magasabb a kezelés előtti kontroll spontán tüzelési aktivitáshoz képest (T40: $4,30\pm 0,98$ Hz vs T0: $2,16\pm 0,72$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: T40: $1,00\pm 0,44$; $p=0,04$). A CPDX többi vizsgált dózisa nem befolyásolta a spontán tüzelési aktivitást (**15.A ábra**).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: Bár az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás nem nőtt az idő függvényében egyik vizsgált CPDX dózis hatására sem, a CPDX3,0 kezelés hatása és a hozzá tartozó kontroll vehikulum vegyület (Tween 80) hatása között szignifikáns különbséget találtunk (IDŐ×KEZELÉS: ($F(3, 268,2)=4,877$, $p=0,003$; paraméter becslések: IDŐ×[CPDX_3,0]: $0,30\pm 0,08$, $df=268,3$, $t=3,622$, $p<0,001$) (**15.B ábra**). Érdekes módon a Tween 80 csökkentette az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást (TWEEN: $F(6, 75,953)=2,889$, $p=0,014$) 60 perccel a beadása után (T60: $26,44\pm 3,78$ Hz vs. T0: $38,08\pm 4,63$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $-11,64\pm 4,63$; $p=0,003$).

ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás: A CPDX jelentős hatással volt a neuronok ACh-érzékenységére. A CPDX3,0 növelte (CPDX3,0: $F(6, 49,2)=3,114$, $p=0,011$) az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást az idő függvényében. Az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás már 30 perccel a beadást követően szignifikánsan magasabb volt, mint a kezelés előtti kontroll ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás (T30: $24,25\pm 4,70$ Hz vs T0: $12,66\pm 3,19$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $11,60\pm 4,70$; $p=0,021$), és a felvételek végéig magas maradt (T60: $31,48,11\pm 7,11$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $18,82\pm 7,11$; $p=0,005$). A vizsgált vegyületek hatásának regressziós egyeneseit összehasonlítva, azt láttuk, hogy minden CPDX-dózis nagy mértékben növelte az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást a Tween 80-al kezelt kontroll vehikulum kezelés hatásához képest (IDŐ×KEZELÉS: ($F(3, 268,4)=6,728$, $p<0,001$; paraméter becslések: IDŐ×[CPDX_0,3]: $0,22\pm 0,07$, $df=265,2$, $t=2,959$, $p=0,003$; IDŐ×[CPDX_1,0]: $0,24\pm 0,08$, $df=265,9$, $t=3,184$, $p=0,002$; IDŐ×[CPDX_3,0]: $0,34\pm 0,08$, $df=272,9$, $t=4,092$, $p<0,001$; **15.C ábra**).



15. ábra

*Hippocampus CA1-es régió piramissejtjeinek normalizált tüzelési aktivitása (az adatokat a kezelés beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagértékével normalizáltuk) 1 ml/kg sóoldat (0,9% NaCl) és a vizsgált három CPDX dózis (0,3 mg/kg; 1 mg/kg; 3 mg/kg) beadása előtt (T0) és után (T10-T60). A hibasávok az adott adatponthoz tartozó SEM értékeket jelenítik meg. (A) Spontán tüzelési aktivitás (B) NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás (C) ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsoron végeztük. Az egyes időpontok feletti csillag szimbólumok az adott kezelési csoportban mért kontroll értékektől való szignifikáns eltéréseket mutatják: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. A kettőskereszt szimbólum szignifikáns különbséget jelöl a különböző vizsgált vegyületek hatása között: # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$*

A kombinált kezelések hatása a hippocampális neuronok tüzelési aktivitására

Spontán tüzelési aktivitás: A memantin és PHA-543613 (MEM0,01+PHA0,1) alacsony dózisú kombinált kezelése szignifikánsan növelte a spontán tüzelési aktivitást az idő függvényében (MEM0,01+PHA0,1: $F(6, 66,7)=6,352, p<0,001$). A kezelés előtti kontrollhoz képest a tüzelési aktivitás magasabb volt a kombinált kezelés után 40 perccel (T40: $3,90\pm 1,11$ Hz vs T0: $1,24\pm 0,22$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $2,66\pm 1,95; p=0,002$), és ez a növekedés megmaradt a felvételi ülések végéig (T50: $4,35\pm 1,20$ Hz vs T0: $1,24\pm 0,22$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $3,10\pm 1,20; p<0,001$) és (T60: $5,25\pm 1,33$ Hz vs T0: $1,24\pm 0,22$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $4,01\pm 1,33; p<0,001$). Ezenkívül az alacsony dózisú memantin és PHA-543613 kombinált adásának hatása szignifikánsan nagyobb volt, mint a hozzá tartozó vehikulumos (0,9% NaCl oldat) kezelés hatása (IDŐ×KEZELÉS: $F(2, 194,8)=16,429, p<0,001$; paraméter becslések: IDŐ×[MEM0,01+PHA0,1]: $0,05\pm 0,01, df=195,6, t=3,848, p<0,001$; **16.A ábra**). Ezzel szemben a memantin és a PHA-543613 nagy dózisú kombinációja (Mem3,0+PHA3,0) nem befolyásolta a spontán tüzelési frekvenciát.

Az alfa7 nACh-receptor agonista és memantin kezeléshez hasonlóan az alfa7 nACh-receptor PAM és memantin kombinált kezelés esetében is az alacsony dózisú kombináció (Mem0,01+CPDX0,3) bizonyult hatásosnak a spontán tüzelési aktivitás növelésének tekintetében. A MEM0,01+CPDX0,3 kombinált kezelés hatása és a vehikulumos kezelés (Tween 80) hatása között (IDŐ×KEZELÉS $F(2, 194,1)=18,958, p<0,001$; paraméter becslések: IDŐ×[MEM0,01+CPDX0,3]: $0,06\pm 0,01, df=194,5, t=4,333, p<0,001$; **16.D ábra**).

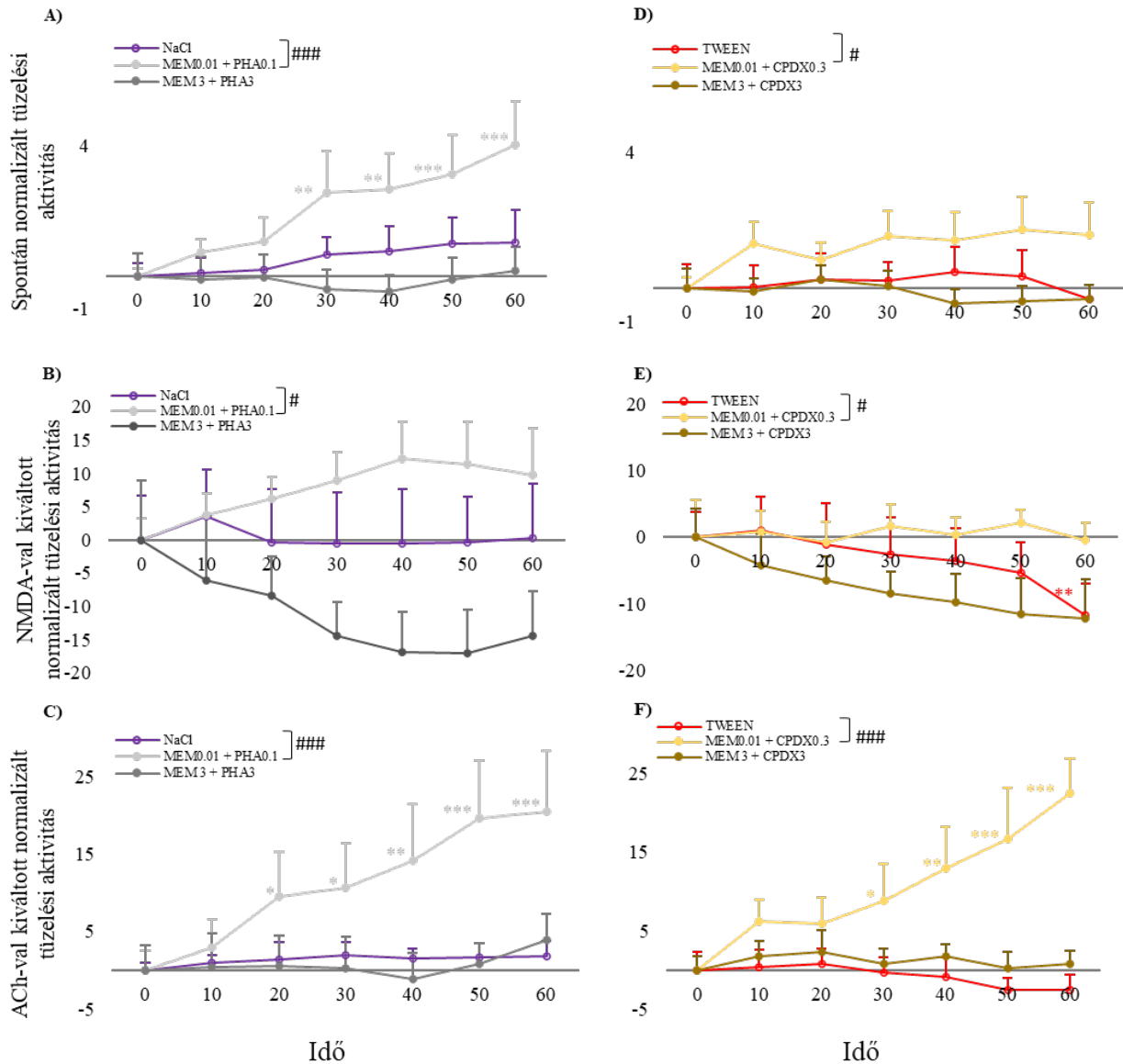
NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: Az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra is csak a memantin és a PHA-543613 vagy a memantint és CPDX alacsony dózisú kombinált kezelés volt hatással. A regressziós egyenesek összehasonlítása szignifikáns különbséget mutatott a MEM0,01+PHA0,1 kezelés és a hozzá tartozó vehikulum kezelés (0,9% NaCl oldat) között (IDŐ×KEZELÉS: $F(2, 200,2)=3,851, p<0,023$; paraméter becslések: IDŐ×[MEM0,01+PHA0,1]: $0,02\pm 0,01, df=199,3, t=2,328, p=0,021$; **16.B ábra**).

A MEM0,01+CPDX0,3 kombinált kezelés esetében is szignifikánsan nagyobb hatást találtunk a kombinált kezelés és a hozzá tartozó vehikulumos kezelés (Tween 80) hatása között (IDŐ×IDŐ: $F(2, 189,9)=3,049, p=0,05$; paraméter becslések: IDŐ×[MEM0,01+CPDX0,3]: $0,19\pm 0,08, df=188,8, t=2,411, p=0,017$; **16.E ábra**).

ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás: A kombinált kezelések közül a MEM0,01+PHA0,1 növelte ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást az idő függvényében

(MEM0,01+PHA0,1: $F(6, 60,4)=6,349$, $p<0,001$). A hatását a tüzelési aktivitásra már a beadást követő 20. percben tapasztaltuk a kezelés előtti értékhez viszonyítva (T20: $22,63\pm 5,73$ Hz vs T0: $13,11\pm 2,44$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $9,52\pm 5,73$; $p=0,044$), és ez a hatás a felvételi ülések végéig tartott (T60: $39,16 \pm 6,45$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $20,46\pm 7,81$; $p<0,001$). Ezenkívül a MEM0,01+PHA0,1 kezelés általi hatás és a hozzá tartozó vehikulum hatása között szignifikáns különbséget találtunk (IDŐ×KEZELÉS: $F(2, 184,1)=18,625$, $p<0,0001$; paraméter becslések: IDŐ×[MEM0,01+PHA0,1]: $0,38\pm 0,07$, $df=184,8$, $t=5,223$, $p<0,001$; **16.C ábra**).

Ehhez hasonlóan, az alfa7 nACh-receptor PAM-os kombinált kezelés esetében is az alkalmazott kisebb dózis növelte a neuronok ACh-ra adott válaszkészségét az idő függvényében (MEM0,01+CPDX0,3: $F(6, 43,4)=5,666$, $p<0,001$). A beadást követő 40. percben tapasztaltuk először a szignifikáns hatást (T40: $22,63\pm 5,73$ Hz vs T0: $13,11\pm 2,44$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $9,52\pm 5,73$; $p=0,003$) a kezelés előtti kontroll értékhez képest. Továbbá, a MEM0,01+CPDX0,3 kezelés hatásának meredeksége szignifikánsan magasabb volt, mint a hozzá tartozó vehikulumé (IDŐ×KEZELÉS: $F(2, 185,7)=29,761$, $p<0,0001$; paraméterbecslések: TIME×[MEM0,01+PHA0,1]: $0,38\pm 0,05$, $df=184,6$, $t=7,531$, $p<0,0001$; **16.F ábra**).

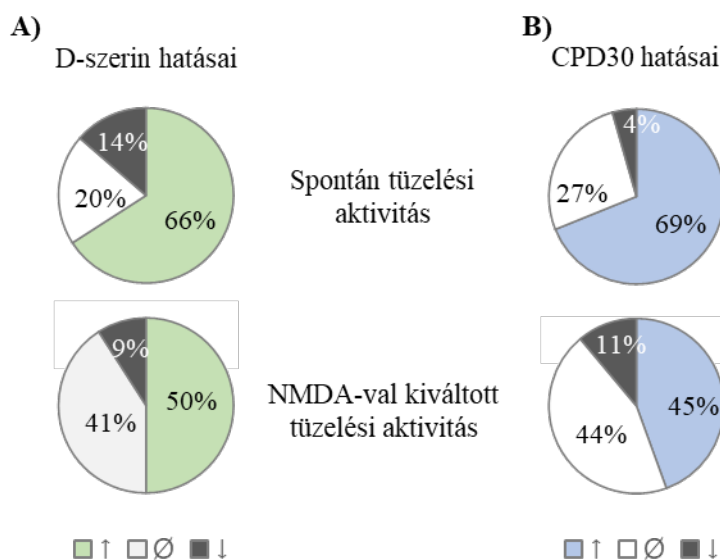


16. ábra

*Hippocampus CA1-es régió piramissejtjeinek normalizált tüzelési aktivitása (az adatokat a kezelés beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagértékével normalizáltuk) 1 ml/kg sóoldat (0,9% NaCl) és a vizsgált kétféle kombinált kezelés beadása előtt (T0) és után (T10-T60). A hibasávok az adott adatponthoz tartozó SEM értékeket jelenítik meg. (A) Spontán tüzelési aktivitás (B) NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás (C) ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsoron végeztük. Az egyes időpontok feletti csillag szimbólumok az adott kezelési csoportban mért kontroll értékektől való szignifikáns eltéréseket mutatják: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. A kettőskereszt szimbólum szignifikáns különbséget jelöl a különböző vizsgált vegyületek hatása között: # $p < 0,05$; ### $p < 0001$*

6.3. D-szerin és DAAOI vegyületek önálló lokális és szisztémás hatásai

A harmadik kísérletsorozatban a D-szerin és a DAAOI inhibitor CPD30 nevű vegyület lokális és szisztémás hatását vizsgáltuk a hippocampális sejtek tüzelési aktivitására. A vizsgált vegyületek lokális hatásait összesen 25 állaton vizsgáltuk, a D-szerint 44, illetve a CPD30 lokális hatását 45 neuronon teszteltük. A vizsgált vegyületek szisztémás hatásainak vizsgálatakor a D-szerin 1280 mg/kg dózist 15, a hozzá tartozó kontroll vehikulumot (0,9% NaCl oldat) 13 felvételen vizsgáltuk. A 0,1 és 1,0 mg/kg dózisu CPD30-at 14-14 különálló felvételi ülésen teszteltük, míg a hozzájuk tartozó kontroll vehikulumot (PEG-400), 13 felvételi ülésen. A **3. sz. melléklet A és B panelje** a D-szerinnel és a CPD30-al végzett kísérletekből származó reprezentatív nyers felvételek egy-egy részletét mutatják.



17. ábra

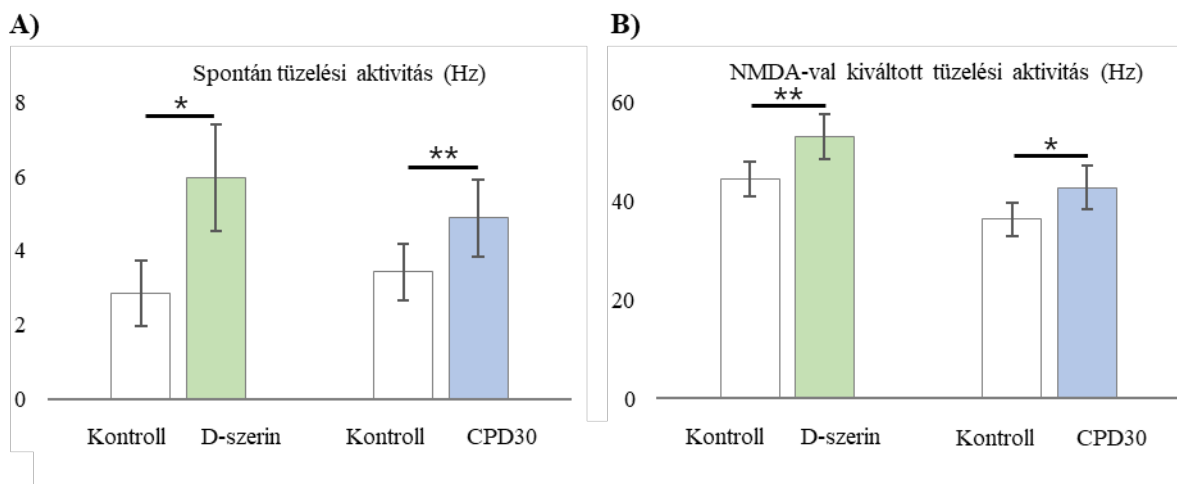
A vizsgált ionotrofikusan adott farmakonok hatására létrejövő jellemző válaszai (csökkenés (↓), növekedés (↑), nem változott (∅)) a sejteknek kördiagramon ábrázolva.

D-szerin és CPD30 lokális hatásai

Spontán tüzelési aktivitás: Mindkét vegyület növelte a neuronok spontán tüzelési aktivitást: a tüzelési aktivitás növekedését szignifikánsan több neuronnál tapasztaltuk, mint a tüzelési aktivitás csökkenését a D-szerin vagy a CPD30 iontoforetikus adásának eredményeként (29 vs. 6, illetve 31 vs. 2 neuron, binomiális teszt: $p < 0,001$ mindkét vegyület esetében; **17.A** és **17.B ábra**). A D-szerin szignifikánsan növelte a spontán tüzelési aktivitást a $2,83 \pm 0,88$ Hz-es kontroll tüzelési aktivitáshoz képest $5,96 \pm 1,45$ Hz-re ($t = 2,285$, $df = 43$, $p = 0,027$; **18.A ábra**). A CPD30 iontoforézise során a spontán tüzelési aktivitás $3,42 \pm 0,77$ Hz-ről $4,88 \pm 1,04$ Hz-re nőtt

($t=3,295$, $df=44$, $p=0,002$) (**18.A ábra**). A kontingenciatáblázat és a chi-négyzetpróba szerint nem találtunk szignifikáns különbséget a D-szerin és a CPD30 hatása között ($\chi^2=2,484$, $p=0,289$). Az átlagos normalizált tüzelési aktivitás változása a növekedés irányába $2,74\pm 0,20$ és $2,45\pm 0,19$ volt a D-szerin és a CPD30 iontoforézise után ($t=1,025$, $df=50$, $p=0,310$).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: A vizsgált neuronok többsége a D-szerin és a CPD30 iontoforetikus adásának hatására az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás jelentős növekedésével reagált (**17. ábra**). Az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás növekedését nagy számú neuronnál tapasztaltuk, a lokálisan adott vegyületek hatása szignifikáns volt a D-szerin ($p<0,001$) vagy a CPD30 ($p<0,01$) adása során (22 vs. 4, illetve 20 vs. 5 neuron). A D-szerin lokális adása során a kontroll NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás $44,43\pm 3,60$ Hz-ről $53,10\pm 4,57$ Hz-re nőtt ($t=3,277$, $p=0,002$), míg a CPD30 az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás $36,25\pm 3,37$ Hz-ről $42,67\pm 4,46$ Hz-re ($t=2,390$, $p=0,021$) (**18.B ábra**). A D-szerin és a CPD30 iontoforézisét követően az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatások eloszlása hasonló volt a két vizsgált vegyület esetében ($\chi^2=0,300$, $p=0,860$). A D-szerin alkalmazása átlagosan $1,56\pm 0,07$ -et növekedést eredményezett az NMDA-val kiváltott normalizált tüzelési aktivitás tekintetében, amely nem különbözött szignifikánsan a CPD30 hatásától ($1,75\pm 0,11$; D-szerin vs. CPD30: $t=-1,463$, $df=40$, $p=0,151$).



18. ábra

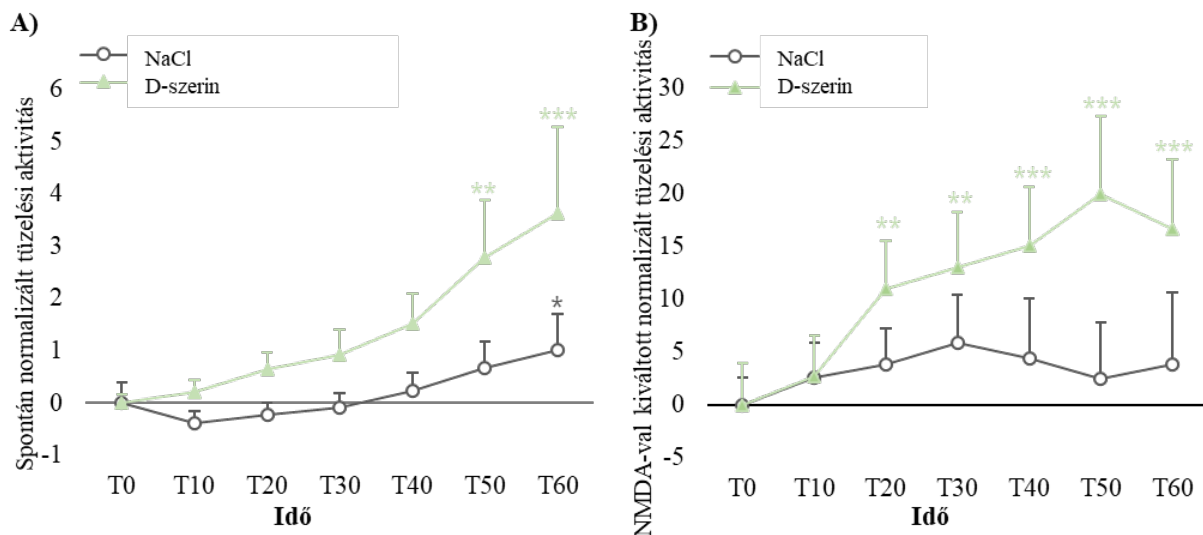
*A D-szerin és a CPD30 hatása a vizsgált neuronok átlagos spontán (A) és NMDA-val kiváltott (B) tüzelési aktivitására (a D-szerin és a CPD30 elemszámai: 44, illetve 45 neuron voltak). A sávok feletti csillag szimbólumok jelzik, hogy az adott lokális kezelés a kontrollnál szignifikánsan magasabb átlagos tüzelési aktivitást eredményezett * $p<0,1$; ** $p<0,01$.*

D-szerin szisztémás hatása a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra

A vegyületek szisztémás adása során a lokális adáshoz hasonlókat tapasztaltunk. A 4. sz. melléklet a reprezentatív elektrofiziológiai felvételekből származó nyers tüzelési hisztogramokat mutatja.

Spontán tüzelési aktivitás: A D-szerin szignifikánsan növelte a spontán tüzelési aktivitást az idő függvényében ($F(6, 58,8)=5,377, p<0,001$). A spontán tüzelési aktivitás szignifikánsan magasabb volt a kezelés előtti kontrollértéknél (T0: $0,68\pm 0,18$ Hz) 50 perccel a D-szerin beadása után (T50: $3,45\pm 1,12$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $2,78\pm 1,12$), és tovább nőtt T60-nál ($4,32\pm 1,65$; normalizált tüzelési aktivitás: $3,64\pm 1,65$) (19.A ábra).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: A D-szerin növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást ($F(6,58,0)=10,213, p<0,001$), szemben a kontroll 0,9%-os NaCl oldattal, amely nem okozott szignifikáns változást az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásban az idő függvényében ($F(6,59,0)=0,618, p=0,715$) (18.B ábra). A D-szerin hatása a kezelés után 20 perccel már statisztikailag is igazolható volt (T20: $37,0\pm 4,5$ Hz vs. T0: $26,0\pm 4,0$; normalizált tüzelési aktivitás T20-nál: $11,1\pm 4,5$; 19.B ábra) és a felvételek végéig megmaradt. A D-szerin hatása a beadást követő 50. percben érte el a maximális nagyságát a felvételek alatt (T50: $45,9\pm 7,5$).



19. ábra

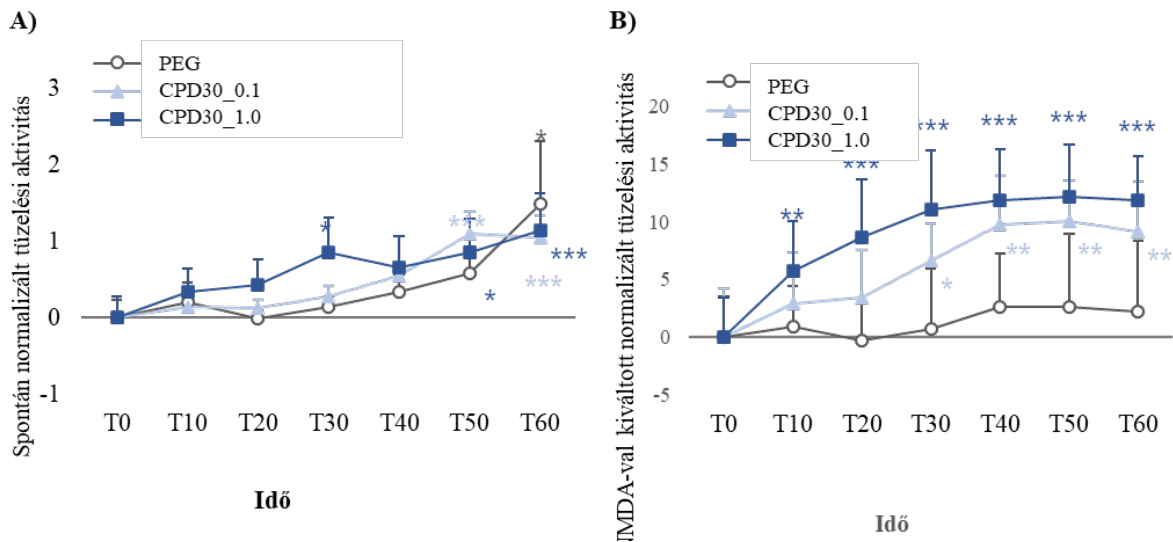
A D-szerin hatása az idegsejtek tüzelési aktivitására a szisztémás beadásukat követően: átlag \pm SEM ábrák, amelyek a normalizált spontán (A) és NMDA-val kiváltott (B) tüzelési aktivitás ábrázolják a D-szerin és a kontroll vehikuluma (0,9% NaCl oldat) beadása után. A D-szerint 1280 mg/kg dózisban (4 ml/kg térfogat). T0: kontroll tüzelési aktivitás, a vizsgált vegyület vagy a vehikulum beadása előtt. T10-T60: tüzelési aktivitás 10-60 perccel a szisztémás kezelés beadása után. Az adatokat az injekció beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagos értékeivel normalizáltuk. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsorral végeztük. Az adott kezelés utáni időpont (T10-T60) és kiindulási pont (T0) közötti szignifikáns különbségeket csillag szimbólumokkal jelöltük: * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

A CPD30 szisztémás hatása a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra

A vegyületek szisztémás adása során a lokális adáshoz hasonlókat tapasztaltunk. A **4. sz. melléklet** a reprezentatív elektrofiziológiai felvételekből származó nyers tüzelési hisztogramokat mutatja.

Spontán tüzelési aktivitás: A D-szerinhez hasonlóan a CPD30 mindkét vizsgált dózisban jelentősen növelte a neuronok spontán tüzelési aktivitását az idő függvényében (0,1 mg/kg: $p < 0,001$; 1,0 mg/kg: $p = 0,001$; **20.A ábra**).

NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás: A CPD30 szintén növelte az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást mindkét vizsgált dózisban az idő függvényében (0,1 mg/kg: $F(6, 60,1) = 4,718$, $p = 0,001$; 1,0 mg/kg: $F(6, 64,0) = 8,653$, $p < 0,001$), míg a CPD30-hoz tartozó kontroll vehikulum (PEG-400) nem befolyásolta az NMDA-val kiváltott tüzelés aktivitást az idő függvényében ($F(6, 54) = 0,149$, $p = 0,988$; **20.B ábra**). Az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás növekedése a 0,1 mg/kg CPD30 adását követő 30. perctől kezdve szignifikáns eltérést mutatott (T30: $43,6 \pm 3,3$ Hz vs. T0: $37,0 \pm 4,2$ Hz, normalizált tüzelési aktivitás T30-nál: $6,6 \pm 3,3$; $p < 0,05$). A legnagyobb hatást az injekció beadása után 50 perccel érte el (T50: $47,1 \pm 3,6$; normalizált tüzelési frekvencia: $10,1 \pm 3,6$; $p < 0,01$). Az alacsonyabb vizsgált dózishoz képest az 1 mg/kg dózisú CPD30 már a beadást követő 10. percben hatásos volt a beadás előtti kontroll értékhez képest (T10: $38,8 \pm 4,4$ vs. T0: $33,1 \pm 3,5$, normalizált tüzelési aktivitás T10-ben: $5,7 \pm 4,4$; $p < 0,05$), és az NMDA-ra adott tüzelési válaszok tovább növekedtek, egy platóhoz konvergálva (maximális hatás T50-ben: $45,2 \pm 4,5$ Hz; normalizált tüzelési aktivitás: $12,2 \pm 4,5$; $p < 0,001$). A CPD30 mindkét dózisának hatása összehasonlítva hozzájuk tartozó vehikulum hatásával szignifikánsan nagyobb volt (IDŐ×KEZELÉS $F(2, 193,6) = 4,727$, $p = 0,010$; paraméter becslések: IDŐ×[CPD_0,1]: $0,12 \pm 0,06$, $df = 193,7$, $t = 2,036$, $p = 0,043$; IDŐ×[CPD_1,0]: $0,18 \pm 0,06$, $df = 193,1$, $t = 3,027$, $p = 0,003$).



20. ábra

A CPD30 hatása az idegsejtek tüzelési aktivitására a szisztémás beadásukat követően: átlag \pm SEM ábrák, amelyek a normalizált spontán (A) és NMDA-val kiváltott (B) tüzelési aktivitás ábrázolják a CPD30 és a kontroll vehikuluma (PEG 400) beadása után. A vizsgált vegyületet 0,1 mg/kg (CPD_0,1) és 1,0 mg/kg (CPD_1,0) dózisban (5 ml/kg térfogat) alkalmaztuk. T0: kontroll tüzelési aktivitás, a vizsgált vegyület vagy a vehikulum beadása előtt. T10-T60: tüzelési aktivitás 10-60 perccel a szisztémás kezelés beadása után. Az adatokat az injekció beadása előtti kontroll tüzelési aktivitás átlagos értékeivel normalizáltuk. A hipotézisvizsgálatot a normalizált adatsorral végeztük. Az adott kezelés utáni időpont (T10-T60) és kiindulási pont (T0) közötti szignifikáns különbségeket csillag szimbólumokkal jelöltük: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

7. Az eredmények megbeszélése

7.1. Alfa7 nACh-receptorra ható vegyületek önálló és kombinált lokális hatásai

Az első kísérletsorozatban célunk volt különböző alfa7 nACh-receptorokra ható vegyületek lokális hatásának vizsgálata patkány hippocampális piramissejtek tüzelési aktivitására és NMDA-val kiváltott gerjeszthetőségére.

A kísérletek során sikerült kimutatni, hogy az alfa7 nACh-receptorok ortogonális agonistája és PAM vegyületei eltérő módon befolyásolják a neuronok spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitását. Az alfa7 nACh-receptor specifikus agonista, a PHA-543613 lokális iontoforetikus adása mind az NMDA-val kiváltott, mind a spontán tüzelési aktivitás tekintetében közel egyenlő mértékben váltott ki tüzelési aktivitást serkentő (facilitáló) és csökkentő (gátló) hatást a kontroll tüzelési aktivitáshoz képest. Az alfa7 nACh-receptor agonista PHA-543613 kapcsolatos eredményeink összhangban vannak Prickaerts és mtsai. korábbi *in vitro* eredményeivel, mely alapján az alfa7 nACh-receptor agonista EVP-6124, *Xenopus laevis* oocitákon vizsgálva kisebb koncentrációban (0,3nM-1nM) potencírozó hatással volt az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitásra, míg nagyobb koncentrációban (3nM) az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás csökkenését tapasztalták (Prickaerts és mtsai., 2012). Wallace és mtsai. is hasonló eredményeket kaptak az RG-3478 alfa7 nACh-receptor agonista vizsgálatakor. *In vitro* patch-clamp kísérleteikben bizonyították az agonista koncentrációfüggő hatását a sejteken mért áramcsúcsokra (Wallace és mtsai., 2011). Mindkét kutatócsoport az agonista lehetséges deszenzitizáló hatásának tulajdonította a kapott eredményeket, mely folyamatnak lehetséges prokognitív és neuroprotektív hatást is tulajdonítanak (Nordberg, 2001). Fontos kiemelni, hogy ezekben az *in vitro* kísérletekben a vizsgált sejteken ACh-val kiváltott tüzelési aktivitást vizsgálták. *In vivo* kísérleti eredmények közé tartozik alfa7 nACh-receptor agonistával kapcsolatban Huang és mtsai. kísérlete, ahol az agonista (PSAB-OFP) iontoforetikus adása után vizsgálták a hippocampus CA3 területén található piramissejtek válaszait, ahol a vizsgált 10 piramissejtből 7 esetében tapasztaltak tüzelési aktivitás növekedést, míg három esetében neuron esetében gátlást tapasztaltak (Huang és mtsai., 2010). A különbség a tapasztaltak között következhet abból, hogy Huang és mtsai. kisebb elemszámban vizsgálták a hippocampális sejteket, valamint abból, hogy a CA3 és CA1 régió piramissejtjei közötti különbség elektrofiziológiájuk és aktivitásuk között (Mizuseki és mtsai., 2012). *In vivo* kísérleten alapuló eredmény azonban azzal kapcsolatban korábban még nem született, hogy alfa7 nACh-receptor agonista többféle, egymással ellentétes hatásokat is létrehozhat a piramissejtek tüzelési aktivitásának modulálása közben (facilitáló, gátló és semleges hatás). A

PHA-543613 többféle hatása mögött állhat továbbá a vizsgált piramis sejtek sejt populációjának heterogenitása. Bár hippocampus CA1-es régióján belül általában homogén sejt populációként hivatkoznak a piramis sejtekre, de az interneuronokhoz hasonlóan több altípust tudunk elkülöníteni esetükben is. Például tüzelési aktivitás alapján a felsőbb rétegekhez képest, az alsóbb rétegek piramis sejtjei a CA1-es régió belül nagyobb sebességgel és frekvenciával tüzelnek, az alvás közbeni lassú hullámok erőteljesebben modulálják őket. De anatómiai szempontból, a régió kívüli projekciók CA1-es régió belül célhelye alapján sem mondhatjuk homogén sejt populációnak a piramis sejteket (Mizuseki és mtsai., 2011).

A vizsgált két PAM vegyület (NS-1738 és PNU-120596) ezzel szemben az esetek döntő hányadában facilitáló hatással volt a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra egyaránt a kontroll, anyagbeadás előtti értékekhez képest, valamint szignifikánsan nagyobb NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást eredményezett iontoforetikus adásuk az agonista PHA-543613-hoz képest is. A PAM vegyületekről általánosan elmondható, hogy hatással vannak az agonista receptorhoz való kötődésének folyamatára és *in vitro* körülmények között önálló adás esetén nem váltanak ki csatornanyitást a receptoron (Sitzia és mtsai., 2011; Storch és mtsai., 1995; Timmermann és mtsai., 2007). A mi vizsgálatunkban az NS-1738 és a PNU-120596 önálló adásakor mindkét vegyület feltehetően az endogén ACh-ra volt hatással. Ezt megerősíti, hogy az egyik PAM vegyület, az NS-1738 szuperadditív módon tudta növelni az NMDA válaszokat, oly módon, hogy az endogén ACh glutamáterg aktivitást fokozó hatását potenciózta az alfa7 nACh-receptorokon keresztül (Hajos, 2004; Wishka és mtsai., 2006). Malysz és mtsai. *in vitro* kísérleteikben mutatták meg alfa7 nACh-receptorra ható PAM (A-867744) potenciózó hatását az ACh-val kiváltott áramcsúcsokra oocitákon és hippocampális agyseletek CA1-es régiójában (Malysz és mtsai., 2009). Az alkalmazott kísérleti elrendezés nem teszi lehetővé annak bizonyítását vagy cáfolatát, de több kísérletben is kimutatták, hogy exogén PAM jelenlétében a CA1 piramis sejteken található alfa7 nACh-receptorok fiziológiás szintű endogén kolin jelenlétében is aktiválhatók (Gusev & Uteshev, 2010; Kalappa és mtsai., 2010).

A kétféle vegyület (agonista és PAM) eltérő hatása a neuronok spontán aktivitására és NMDA érzékenységre az alfa7 nACh-receptorok erős deszenzitizációra való hajlamával magyarázható. Az agonista bekötődése után létrejövő csökkent alfa7 válaszok két különálló folyamatra is visszavezethetők: magának a receptornak a deszenzitizációja, valamint az agonista által létrehozott csatornablokkra. Ezen két folyamat következtében a receptorok egy bizonyos ideig nem gerjeszthetők újból agonista bekötődésével (Ochoa és mtsai., 1989; Quick & Lester, 2002; Uteshev, 2012). Fontos még kiemelni, hogy az agonista bekötődése

következtében létrejövő csatornablokk erőteljes koncentrációfüggést mutat és nagy mértékben befolyásolja kialakulását, hogy bekötődése milyen membránpotenciál mellett történik (Kalappa & Uteshev, 2013). Így esetünkben a deszenzitizáció folyamata, valamint az agonista bekötődése következtében a fiziológias szinten jelen levő endogén agonisták blokkolása eredményezhette az agonista hatására létrejövő semleges és antagonistá szerű gátló hatásokat. A spontán aktivitás tekintetében az agonista PHA-543613 hasonló arányban okozott gátlást a neuronok tüzelésében, az antagonistá MLA-hoz hasonlóan. Az NMDA-val kiváltott aktivitás tekintetében azonban különbség volt a két vegyület között, az antagonistá MLA iontoforetikus adása a neuronok legnagyobb hányada esetén gátló hatást eredményezett, míg a PHA-543613 nevű agonista az NMDA-val kiváltott aktivitáshoz hasonló arányban váltott ki facilitáló vagy gátló hatásokat. Érdeemes külön foglalkozni a spontán tüzelési aktivitással kapcsolatos eredményekkel, és a spontán aktivitás kialakulásának hátterével. A spontán tüzelési aktivitás növekedésének hátterében a hippocampusban található transzmitterrendszerek modulálása áll. Eredményeink összefüggnek korábbi kísérletek eredményeivel, melyekben bizonyították, hogy preszinaptikusan elhelyezkedő alfa7 nACh-receptorok glutamáterg, GABAerg vagy szerotonerg neurotranszmisszióra gyakorolt moduláló hatása mögött a transzmitter-ürülés szabályozása áll (Hajos, 2004; Wishka és mtsai., 2006). A preszinaptikusan expresszálódó alfa7 nACh-receptorok ugyanis nagy mértékben képesek serkenteni a glutamát felszabadulást a preszinaptikusan elhelyezkedő terminálokból (Fisher & Dani, 2000). Fontos azonban kiemelnünk, hogy az agonista bekötődése az alfa7nACh-receptorhoz egyaránt előidézhet növekedést és csökkenést is a spontán tüzelési aktivitást befolyásoló különböző transzmitter-rendszereken keresztül (Wallace & Porter, 2011). Összefoglalva elmondható, hogy a különböző kötőhelyű és hatású alfa7 nACh-receptor vegyületek (agonista, antagonistá, PAM) eltérő hatással voltak a hippocampális neuronok tüzelési aktivitására.

A lokális iontoforetikus önálló adások után, megvizsgáltuk, hogy az alfa7 nACh-receptor agonista PHA-543613 hatása modulálható-e, ha vele kombináltan exogén PAM vegyületet (NS-1738) adunk iontoforetikusán. A kétféle vegyület együttes iontoforézise additív hatást eredményezett mind a spontán, mint az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra. Valamint, a kombinált lokális adás során az agonista, PHA-543613 gátló hatását az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra a PAM, NS-1738 való kombinált adás visszafordította. Ebben az esetben szuperadditív hatást eredményezve az önállóan gátló hatást kiváltó PHA-543613 hatásához képest. Egyes tanulmányok kimutatták, hogy a PAM vegyületek egyik lehetséges fiziológiai hatása lehet a már aktiválódott alfa7 nACh-receptorok működésének további, kismértékű serkentése, amely eredményeként nagyobb mértékű lehet a célsejtek aktivációja

(Gusev & Uteshev, 2010; Kalappa és mtsai., 2010). Az általunk végzett kísérletekben a vegyületek kombinált adásakor tapasztalt jelenségekre magyarázatot adhat a PAM vegyületek deszenzitizációt befolyásoló fiziológiai hatása. Témánk szempontjából érdekes lehet Cheng és Yakel tanulmánya, melyben a hippocampus CA3-as régiójában található piramis sejtek és a mohasejtek által közvetített glutamaterg neurotranszmisszió kapcsolatát vizsgálták patch-clamp technika segítségével. Kísérletükben az agonista nikotin hatását nagy mértékben potenciórozta az NS-1738 szimultán adása (Cheng & Yakel, 2014). Annak ellenére, hogy az NS-1738 a Type I-es PAM-ok közé sorolható, mely típusba sorolható PAM-ok a kezdeti leírás alapján nincsenek hatással receptor deszenzitizáció folyamatára, Timmermann és mtsai. tanulmánya alapján az NS-1738 a hippocampus CA1-es régiójában marginális gátló hatást tudott kifejteni az alfa7 nACh-receptorokon lezajló deszenzitizáció folyamatára (Timmermann és mtsai., 2007). Tanulmányuk alapján magyarázni tudjuk az agonista és a PAM szimultán adása során kapott eredményeinket: az NS-1738 csökkenteni tudja a PHA hatására kialakult deszenzitizációs folyamatok számát, ezáltal a kombinált adás során a PHA tüzelési aktivitást serkentő hatása fog érvényesülni.

7.2. Alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyületek és a memantin önálló és kombinált szisztémás hatásai

A következő kísérletsorozatban azt vizsgáltuk, hogy különböző kognitív teljesítményfokozó vegyületek (memantin, PHA-543613, CPDX), patkány viselkedés kísérletek szempontjából releváns dózisaiken milyen módon befolyásolják a hippocampus CA1-es régiójában található piramis sejtek spontán, NMDA-val kiváltott és ACh-val kiváltott tüzelési aktivitását. Az első kísérletsorozattal ellentétben, itt a vizsgált alfa 7 nACh-receptor agonista és PAM, valamint az NMDA-receptor antagonistá memantin beadása szisztémásan, i.p. injekció segítségével történt.

Az AK kezelésére törzskönyvezett memantin dózis függően modulálta a piramis sejtek tüzelési aktivitását mindegyik vizsgált tüzelési kondícióban (spontán, NMDA-val kiváltott, ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás). Az NMDA-val kiváltott aktivitás esetében, csak a legmagasabb alkalmazott memantin dózis (3,0 mg/kg) volt hatásos a tüzelési aktivitás modulálásban. A tapasztalt gátló hatás, ami a memantin NMDA-receptor blokkoló hatásához köthető összhangban van korábbi *in vitro* és *in vivo* eredményekkel (Parsons és mtsai., 2000; Song és mtsai., 2018; Szegedi és mtsai., 2010). A memantin magas dózisainak alkalmazása nem volt hatékony bizonyos memória tesztekben, hanem ezzel ellentétesen akár memória és motoros aktivitás rontó hatását is megfigyelték (Creeley és mtsai., 2006; Wise & Lichtman, 2007).

Kiegészítésként az előző mondathoz: bár Creeley és mtsai. alacsony dózisként említik közleményükben az 5 és 10 mg/kg dózist, a Beconi és mtsai. által végzett farmakokinetikai kísérletsorozat eredményei alapján ezek már a magas memantin dózisok közé sorolhatók (Beconi és mtsai., 2011). A kapott eredmények mögött az is állhat, hogy a memantin eltérő módon befolyásolja a szinaptikus és az extraszinaptikus NMDA-receptorokat. Az NMDA-receptor blokkoló vegyület nagyobb affinitással gátolja az extraszinaptikus, NR2B alegységet tartalmazó receptorokat, ezzel gátolva az extraszinaptikus receptor kiváltotta sejthalált, viszonylag megkímélve a normális szinaptikus aktivitást, viszont a szinaptikus NMDA-receptorokon kevésbé van gátló hatása (Xia és mtsai., 2010). Az alacsony memantin dózisok ezzel szemben nem befolyásolták az NMDA-excitációkat, de az egyik, viselkedés kísérletekben is releváns memantin dózis (0,1 mg/kg) hatékonyan növelte a neuronok ACh érzékenységét a mi kísérleteinkben is. Korábbi irodalmi adatok alapján nem meglepő ez az eredmény, mivel a memantin az NMDA-receptorokhoz alacsony affinitással kötődik antagonistaként, valamint *in vitro* vizsgálatok kimutatták nagyobb affinitását más receptorcélpontokhoz, például az alfa7 nACh-receptorokhoz (Aracava és mtsai., 2005; Rogawski & Wenk, 2006). Kutatócsoportunk korábbi viselkedés kísérletei is azt mutatták, hogy az alacsony memantin dózissal kezelt laboratóriumi patkányok végezték el sikeresen a különböző térbeli memóriát tesztelő feladatokat szkopolaminnal kiváltott tranziens amnézia modellben (Bali és mtsai., 2019; Bruszt és mtsai., 2021). A jelen elektrofiziológiai mérések során kapott eredmények a korábbi viselkedés eredményeinkkel együtt azt sugallják, hogy a memantin kognitív teljesítményfokozó hatása nem feltétlenül igényli az NMDA-receptorok közvetlen antagonizmusát.

A PHA-543613 szisztémás adásának vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy az alfa7 nACh-receptor agonista vegyület jelentős mértékben serkentette a hippocampális piramisisejtek spontán és ACh-val kiváltott tüzelési aktivitását, de nem befolyásolta az NMDA-val kiváltott aktivitásukat. A PHA-543613 hatása a spontán és az ACh-val kiváltott neuronális aktivitásra fordított U-alakú dózis hatás görbe szerint alakult, tehát a vizsgált alacsony dózis és a legmagasabb dózis nem fejtettek ki annyira jelentős serkentő hatást a tüzelési aktivitásra, mint a két véglet között elhelyezkedő dózisok. Az U-alakú dózis-hatás görbe a memória és figyelem kognitív doméneket vizsgáló viselkedési tesztekben is jellemző az alfa7 nACh-receptor agonista vegyületekre (Pismataro és mtsai., 2021; Weed és mtsai., 2017; Yang és mtsai., 2013). A leghatékonyabb dózis a spontán és az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás serkentésére a 1,0 mg/kg-os dózis volt, mely a viselkedési tesztekben is hatékonynak bizonyult MK-801 által kiváltott tranziens memóriazavar ellen (Bali és mtsai., 2015; Ning és mtsai., 2017).

A harmadik vizsgált vegyület az alfa7 nACh-receptor pozitív alloszterikus modulátor CPDX volt. A lokális farmakológiai vizsgálatok során (első kísérletsorozat, cikk hivatkozás a mondat végén) jelentős eltérést találtunk az alfa7 nACh-receptor agonista és PAM vegyületek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt hatásának a tekintetében, mely különbséget az agonista direkt receptorhoz kötődésével létrejött blokk és a deszenzitizáció folyamatával magyaráztunk (Bali és mtsai., 2019). Jelen tanulmányban a CPDX nevű PAM vegyület kis mértékben befolyásolta a hippocampális neuronok spontán tüzelési aktivitását (enyhe serkentő hatás), de jelentősen növelte a neuronok lokálisan adott ACh-ra való érzékenységét. A kapott eredmények összhangban vannak olyan korábbi irodalmi adatokkal, ahol az alfa7 nACh-receptor PAM NS-1738 nagy mértékű sejtaktivitást befolyásoló facilitáló hatását mutatták ki az endogén agonista, ACh adása mellett *in vitro*, valamint a vegyület tüzelési aktivitást facilitáló hatását *in vivo* is kimutatták (Bali és mtsai., 2019; Timmermann és mtsai., 2007). Továbbá a vizsgált PAM vegyület az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást is tudta modulálni (enyhe serkentő hatással volt rá). Ezen két eredmény a PAM vegyületek lehetséges pozitív terápiás tulajdonságára utalhatnak a kognitív teljesítményfokozó vegyületek között, mivel a CPDX csak az endogén ligandok (ACh és NMDA) adása mellett modulálta az idegsejtek aktivitását, ami előnyös lehet a nemkívánatos off-target hatások és az ezekhez köthető egyéb mellékhatások elkerülésében. Ezen kívül, a PAM vegyület általi szabályozás a kolinerg jelátvitel serkentése mellett, megtartja az alfa7 nACh-receptorok fiziológiai szinten történő aktiválódását a KIR által szabályozott endogén ACh felszabadulás révén (Lewis és mtsai., 2017).

A második szisztémás adásokon alapuló kísérletsorozatunk második felében azt vizsgáltuk, hogy a szisztémás monokezelések során többféle dózisban vizsgált vegyületek kombinált adása hogyan befolyásolja a hippocampális neuronok spontán, NMDA-val kiváltott és ACh-val kiváltott tüzelési aktivitását. A kombinált kezelések során azt szeretnénk volna feltérképezni, hogy a memantin hatása alfa7 nACh-receptor agonista vagy PAM vegyülettel való kombinált adásával hogyan modulálható. Kétféle dóziskombinációt vizsgáltunk: szubeffektív, alacsony dózisú és magas dózisú kombinált kezeléseket. A monokezelések során egyik tüzelési kondícióban sem hatásos alacsony dózisú PHA-543613 és CPDX vegyületek kombinált alkalmazása a monoterápiásan szintén szubeffektív memantinnal, mindegyik vizsgált kondícióban (spontán, NMDA-val kiváltott és ACh-val kiváltott tüzelési aktivitás) tüzelési aktivitást serkentő hatású volt, ami az NMDA-receptor antagonistá és a két vizsgált alfa7 nACh-receptor (agonista és PAM) közötti előnyös kölcsönhatásra utalhat. *In vivo* elektrofiziológiai eredményünk párhuzamba hozható számos viselkedés vizsgálattal, ahol a

glutamáterg és a kolinerg rendszert célzó kognitív teljesítményt fokozó vegyületek alacsony, önállóan nem hatásos dózisainak kombinált alkalmazása javító hatással volt a vizsgált kognitív funkciókra (Bali és mtsai., 2019; Bruszt és mtsai., 2021; Nikiforuk és mtsai., 2016; Potasiewicz és mtsai., 2020). Fontos azonban megjegyezni, hogy a PHA-543613 és a memantin kombinált adása jelentősebb serkentő hatást gyakorolt a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitásra, mint a CPDX és memantin kombinált adása. Ezen eredmény összhangban van farmakodinamikai tulajdonságaikkal, mely alapján a PAM vegyületek hatásának kifejtéséhez megfelelő extracelluláris szinten jelen levő endogén vagy exogén agonista jelenléte szükséges (Timmermann és mtsai., 2007). A magas dózisú kombinált kezelések vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a memantin és az alfa7 nACh-receptorok kombinált adása a monoterápiás kezelésekhez képest csökkent tüzelési aktivitás változásokat eredményezett, mely lehetséges off-target hatásokkal vagy a kombinált vegyületek közös receptorkötőhelyekért való versengésével magyarázható. A memantin többféle támadáspontú vegyületként, az alfa7 nACh-receptorokhoz is tud kötődni, antagonisták kiváltva a receptor működésében (Becker és mtsai., 2013). Érdekes módon a nagy dózisú memantin NMDA-val kiváltott aktivitásra gyakorolt gátló hatását a nagy dózisú PAM-mal való kombinálás vissza tudta fordítani, ami további bizonyítékul szolgálhat a két vegyület közötti interakció meglétére. Annak ellenére, hogy kísérleti elrendezésünkben csökkent neuronális aktivitás volt köthető a magas dózisú kombinált kezelések szisztémás adása és az önálló kezelések között, a vegyületek közötti interakciónak előnyös hatása lehet az NMDA-receptorokra. Mivel vissza tudja fordítani a memantin hatására létrejövő túlzott antagonisták hatásokat, mely lehetővé teszi a receptorok egészséges fiziológiai szinten történő aktiválódását, az LTP kialakulását és a memóriakonzolidációs folyamatokat (Grüter és mtsai., 2015; Newcomer & Krystal, 2001).

A kétféle alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyület (agonista és PAM) és a memantin szisztémás hatásainak vizsgálata során kapott eredményeink azt mutatják, hogy mind a monoterápiás kezelések, mind a kombinált terápiák esetében kulcsfontosságú a megfelelő dózis kiválasztása, mely eltérhet az egyes kognitív hanyatlással járó betegségek esetében.

7.3. D-szerin és DAAOI vegyületek önálló lokális és szisztémás hatásai

A harmadik kísérletsorozatban a D-szerin és a DAAOI CPD30 hippocampális piramissejtek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitására gyakorolt hatását vizsgáltuk. A vegyületek hatását a tüzelési aktivitásra lokális miktoriontoforetikus adásuk segítségével és szisztémás SC. injekció segítségével is megvizsgáltuk.

A lokális vizsgálatok során mind a D-szerin, mind a DAAOI CPD30 jelentős mértékben serkentették a spontán és az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitását az idegsejteknek. A D-szerin NMDA-receptorok működését befolyásoló hatása összhangban van korábbi elektrofiziológiai eredményekkel. Salt és mtsai. a thalamus idegsejtjeit vizsgálva mutatták ki a mikrointoforetikusan adott D-szerin glutamáterg működést serkentő hatását (Salt, 1989). A D-szerin hatását árnyalja Martina és mtsai. kísérlete, mely szerint *in vitro* körülmények között a D-szerin csak a hippocampális piramis sejtek egy bizonyos hányadának aktivitását serkenti és eltérően modulálja a CA1-es régióban található interneuronokat és piramis sejteket. Kísérleteink során mi is azt tapasztaltuk, hogy a D-szerin a vizsgált piramis sejtek közel felénél nem váltott ki tüzelési aktivitás növekedést (Martina és mtsai., 2003). A D-szerinhez köthető eredményeinkkel kapcsolatban kiemelhető, hogy a szinaptikus NMDA-receptorokon hatva a D-szerin fontos szerepet tölt be az LTP folyamatában, valamint sejten belüli Ca^{2+} -szignalizációs útvonalakon keresztül neuroprotektív hatást fejt ki az NMDA-receptorok aktiválásán keresztül. Így a D-szerin NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást növelő hatásának hátterében feltételezhetően a szinaptikus NMDA-receptorok nagy mértékű serkentése áll. A vizsgált D-szerin szintet befolyásoló DAAOI vegyület a D-szerinhez hasonló hatást váltott ki. A két vegyület hatása között nem találtunk szignifikáns különbséget, tehát az extracelluláris D-szerin szint növelése közvetlenül és DAAOI segítségével hasonló mértékben befolyásolta a neuronok tüzelési aktivitását. Az AS057278 nevű DAAOI-ról kimutatták *in vitro* és *ex vivo*, hogy a D-szerin szintet sikeresen megemelte a patkányok kérgi és közepagygi régiójában, így a D-szerin funkcionális hatásait utánozva (Adage és mtsai., 2008). Primer patkány hippocampális idegsejtkultúrán vizsgálva DAAOI hatását, kimutatták, hogy sikeresen növelik az NMDA-receptor mediálta szinaptikus aktivitást, valamint a kiváltott hippocampális theta ritmus mértékét is képesek voltak növelni (Strick és mtsai., 2011). Ezen eredmény, összhangban az asztrociták theta ritmust szabályozó tulajdonságával, melynek egyik eleme a gliotranszmittereken belül a D-szerin szint szabályozása (Hassanpoor és mtsai., 2014). A theta oszcilláció igen fontos elektrofiziológiai eleme a memória konszolidációnak és az emlékek előhívásának (Buzsáki & Moser, 2013; Hasselmo & Stern, 2014; Nicolás és mtsai., 2021). A DAAOI vegyülettel kapcsolatban is fontos kiemelni, a D-szerinhez hasonlóan, hogy csak a neuronok közel felében váltott ki serkentő hatást mind a spontán, mind az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitást nézve. Az általunk alkalmazott *in vivo* kísérleti összeállítás következtében, nem csupán a vizsgált piramis sejtek körüli közvetlen hatások, hanem a többi hippocampális régióhoz vagy a KIR hippocampuson kívüli részeihez köthető CA1-es régió piramis sejtjeit szabályozó folyamatok is befolyásolják a kapott eredményeket. Így, mind a két vegyület

esetében, a hippocampusban található neuronális körökön belül, és a kollaterális gátlással is magyarázható a kapott eredmény, mely segít egyensúlyban tartani a hippocampus serkentő és gátló folyamatait (Topolnik & Tamboli, 2022; Witter és mtsai., 2014).

A két vegyület szisztémás adásának vizsgálatok a lokális eredményeknek megfelelő hatásokat tapasztaltunk. Mind a D-szerint, mind a CPD30 nevű vegyület szignifikánsan növelte a hippocampális idegsejtek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitását a beadás előtti kontroll tüzelési aktivitáshoz képest. Ezzel összhangban Hopkins és mtsai. a DAAOI SUN nevű vegyület intraorális beadása után azt tapasztalták, hogy a vizsgált anyag jelentősen növelte a hippocampális, NMDA-receptor függő LTP létrejöttét, valamint a patkányok viselkedésének a szintjén prokognitív hatása volt új tárgy felismerési tesztben (Hopkins és mtsai., 2013). Elektrofiziológiai eredményeink alátámasztják a D-szerin és a DAAO enzim gátlásának NMDA-receptor működést moduláló hatását, mely folyamat lehetséges neurokognitív zavarok kezelésében is kulcsfontosságú lehet. D-szerinnel kapcsolatban kimutatták egerekben, hogy alacsony dózisban alkalmazva javítja az állatok teljesítményét MK-801 segítségével előidézett tranziens amnéziával szemben új tárgy felismerési tesztben és a térbeli, valamint munkamemóriát vizsgáló T-labirintusban, majd a kísérletek után HPLC technikával emelkedett D-szerin szintet mértek a kezelt állatok esetében (Bado és mtsai., 2011). Ezentúl egyéb térbeli memórián alapuló tesztekben is kimutatták a D-szerin memóriajavító hatását pl.: Nikseresht és mtsai. toxikus amiloid béta fragmensekkel transzkraniálisan injektált patkányok MWM-ben nyújtott teljesítményét vizsgálva, valamint Zhang és mtsai. önállóan alkalmazva a kezelés nélküli állatokhoz képest (Nikseresht és mtsai., 2021; Zhang és mtsai., 2008). A kis dózisu krónikus D-szerin kezelés MK-801 farmakológiai modellben javította a patkányok szociális memória teljesítményét (Zhou és mtsai., 2016). A D-szerinhez köthető hatásokkal párhuzamosan, a DAAO aktivitás csökkenésével kapcsolatban is bizonyos kognitív funkciók javulását kötik össze rágcsló viselkedés kísérletekben. Maekawa és mtsai. a DAAO enzim szintézisért felelős gén nélkül rendelkező egerek (DAO-/- egerek) MWM-ben nyújtott jobb teljesítményéről számoltak be a genetikailag vad típusú egerekhez képest, miközben a mutáns egerekből származó hippocampális szeleteken nagyobb LTP-t mértek (Maekawa és mtsai., 2005).

8. Összefoglalás

Bevezetés, célkitűzések: A különböző NKZ-kal élő emberek száma drasztikusan megnövekedett az elmúlt évtizedekben. A növekvő tendencia a betegeken kívül érinti a környezetüket, az egészségügyi rendszert és globális szinten gazdasági vonzatai is lehetnek. A problémára megoldást keresve, igen nagy számú kutatás központi elemét képezik a különböző súlyosságú NKZ-ok patológiai hátterének felderítése és az egyes betegségek lehetséges gyógyszeres kezelése. Jelenleg azonban elmondható, hogy még mindig vannak ismeretlen elemei az egyes betegségek hátterének és nem elég széleskörű a rendelkezésre álló farmakoterápiás kezelések palettája. Jelen PhD dolgozatban szereplő kísérletek célja is hasonló volt: feltérképezni már forgalomban levő és preklinikai kutatások tárgyát képező vegyületek hatását. A vizsgált vegyületek különböző támadáspontúak voltak a receptorok szintjén: NMDA-receptor antagonistá memantin, alfa7 nACh-receptor agonista, antagonistá és PAM vegyületek, valamint az NMDA-receptorok GMS helyéhez kötődő D-szerin és a D-szerin extracelluláris szintjét befolyásoló DAAOI vegyület. A kísérletek során a vizsgált agyterület a memóriefunkciók megfelelő működéséhez elengedhetetlen hipocampus volt, mely KIR struktúra még részletesebb feltérképezése, megismerése egyaránt kulcsfontosságú a hatékony farmakológiai terápiák kidolgozásához.

Módszerek: A vegyületek lokális mikroiontoforetikus adással kiváltott hatását és szisztémás alkalmazás utáni hatását egyaránt vizsgáltuk altatott patkányok hipocampusának CA1-es régiójában található piramissejtek extracellulárisan elvezetett tüzelési aktivitásának elemzésével. A glutamáterg és a kolinerg transzmissziót moduláló hatásukat az alkalmazott kísérleti protokollok tették lehetővé, melyek alapját a KIR-ben természetesen is megtalálható neurotranszmitterek (NMDA és ACh) időzített iontoforetikus adásai adták. Az NMDA-val és ACh-val kiváltott excitációk mellett a vizsgált sejtek spontán tüzelési aktivitását is vizsgáltuk.

Eredmények:

I. Tézis: Az alfa7 nACh-receptor agonista és PAM vegyületek eltérő módon befolyásolják a hippocampális piramis sejtek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitását.

- Az agonista vegyület antagonistá szerű hatását tapasztaltuk a lokális hatások vizsgálatakor, ami mögött a vegyület receptor deszenzitizáló hatása állhat, melynek lehetséges prokognitív és neuroprotektív hatást is tulajdonítanak.
- A PAM vegyületek ezzel szemben egyértelműen serkentő hatással voltak a tüzelési aktivitásra. A tapasztaltak háttérében a PAM vegyület endogén ACh agonista természetes aktivitására gyakorolt facilitáló hatásai lehetnek.
- Az agonista és a PAM vegyület kombinált adása additív módon befolyásolta a neuronok aktivitását az önálló adásokhoz képest, valamint az agonista gátló hatását a PAM-ral való kombinált adás vissza tudta fordítani. A kapott eredményeket a PAM vegyületek deszenzitizációt befolyásoló hatására szolgálhatnak további bizonyítékkul.

Vonatkozó saját publikáció:

Bali, Z. K., Nagy, L. V., Budai, D., & Hernádi, I. (2019). Facilitation and inhibition of firing activity and N-methyl-D-aspartate-evoked responses of CA1 hippocampal pyramidal cells by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor selective compounds *in vivo*. *Scientific Reports*, 9(1), 9324. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45796-7> IF: 3,998

II. Tézis: Az alfa7 nACh-receptor érzékeny vegyületek és a memantin hatásmechanizmustól és az alkalmazott dózistól függően eltérő módon befolyásolják a hippocampális piramis sejtek spontán, NMDA-val és ACh-val kiváltott tüzelési aktivitását.

- A törzskönyvezett AK gyógyszer, a memantin legmagasabb vizsgált dózisa volt csak gátló hatással az NMDA-receptorokra, ami az irodalomnak megfelelő NMDA-receptor gátló hatásának megfelel. A többi, viselkedés kísérletek szempontjából releváns dózis nem befolyásolta az NMDA-excitációkat, de hatással volt a spontán és az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitásra. Ezen eredmény megkérdőjelezi, hogy valóban a memantin NMDA-receptor antagonizmusa áll-e a vegyület kognitív teljesítményfokozó hatása mögött.

- A vizsgált alfa7 nACh-receptor agonista vegyület leginkább facilitáló hatással volt a spontán és az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitásra, valamint a viselkedés kísérletekben tapasztaltakhoz hasonlóan fordított U-alakú dózis hatás görbe jellemezte a vegyületet. A különleges dózis hatás görbe hátterében az állhat, hogy az alacsony dózisok túl kicsi KIR-en belüli koncentrációt idéznek elő, míg a magas dózisok a receptor deszenzitizáció és a receptor kötőhely foglалás miatt nem váltanak ki serkentő hatást a neuronok működésében.
- A vizsgált alfa7 nACh-receptor PAM vegyület az ACh-val kiváltott tüzelési aktivitásra gyakorolt nagy mértékű serkentő hatást gyakorolt, míg a másik két tüzelési kondícióban nem vagy kevésbé. A tapasztaltak hátterében a PAM vegyületek agonista függő hatásmechanizmusa állhat.
- A kombinált adásokat elemezve, kutatócsoportunk viselkedési tesztek eredményeivel összhangban a vizsgált szubeffektív dózisok kombinációja hozott létre jelentős tüzelési aktivitás növekedést, míg a vizsgált magas dózisú kombinációk esetében nem tapasztaltunk jelentős aktivitásbeli különbséget. A magas dózissal kapcsolatos eredmények hátterében a két vegyület egymást kioltó hatása vagy off-target hatások állhatnak. Egyértelműen kijelenthető, hogy az alfa7-es vegyületek modulálni tudták a memantin hatását szubeffektív kis dózisban és nagy dózisban adva egyaránt, így ezen eredmények bizonyítékul szolgálhatnak a kétféle hatásmechanizmusú vegyület közötti interakcióra.

Tervezett saját publikáció:

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. Modulation of spontaneous and N-methyl-D-aspartate or acetylcholine-evoked firing activity of hippocampal CA1 pyramidal neurons by systemically applied cognitive enhancer compounds in the anesthetized rat. (*Beküldés alatt*)

III. Tézis: A D-szerin tüzelési aktivitásra a vizsgált piramissejtek nagy számánál facilitáló hatással volt a lokális és szisztémás hatások vizsgálatokor egyaránt, melyhez hasonlóakat tapasztaltunk az extracelluláris D-szerin szintet befolyásoló DAAOI vegyület adásakor.

- A D-szerin és DAAOI vegyület lokális hatásainak vizsgálatokor a két vegyület egymáshoz hasonló módon növelte a piramissejtek tüzelési aktivitását. A spontán aktivitás tekintetében a vizsgált sejtek közel háromnegyedében, míg az NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitás tekintetében az esetek felében tapasztaltuk serkentő hatását a két vegyületnek. A jelenség hátterében a hippocampuson belüli helyi neuronális kapcsolatok szabályozó szerepe állhat.
- A lokális adáshoz hasonlóan, a szisztémás hatások vizsgálatokor is hasonlóan hatott a D-szerin és a D-szerin szintet befolyásoló vegyület, mely eredmények az irodalomban korábban leírt pozitív kognitív és prokognitív viselkedés kísérletekben tapasztalt hatásukkal is összekapcsolhatóak. Így a krónikus adás esetén nefrotoxikus és nehezebb agyi penetrációval rendelkező D-szerin kiváltására nagyszerűen alkalmazhatóak a degradáló enzimjüket befolyásoló DAAOI vegyületek.
- A két vegyület hatása között nem találtunk szignifikáns különbséget se a lokális, se a szisztémás adások vizsgálata során, tehát az extracelluláris D-szerin szint növelése közvetlenül és DAAOI segítségével hasonló mértékben befolyásolta a neuronok tüzelési aktivitását, ami a D-szerin krónikus adagolása során létrejövő lehetséges perifériás hatások miatt előnyt jelenthet a DAAOI-k számára a gyógyszerfejlesztések szempontjából.

Vonatkozó saját publikáció:

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Kapus, G., Pelsőczy, P., Farkas, B., Lendvai, B., Lévy, G., & Hernádi, I. (2021). Converging Evidence on D-Amino Acid Oxidase-Dependent Enhancement of Hippocampal Firing Activity and Passive Avoidance Learning in Rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(5), 434–445. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa095> IF: 5,678

9. Summary

Introduction, objectives: The number of people living with various neurocognitive disorders has increased dramatically in the recent decades. This growing trend affects not only patients but also their environments, the healthcare system and also has economic implications at a global level. In order to address this problem, numerous research programs have focused worldwide on elucidating the pathological background of neurocognitive disorders and the possible pharmacological treatments for the diseases. At present, however, it can be said that there are still unknown underlying mechanisms in the background of each identified disease and the range of available pharmacotherapeutic treatments options are not satisfying. The aim of the experiments in the present research project and PhD thesis was to investigate the effects of pharmacological compounds which are already on the market or involved in preclinical research as potential neurocognitive enhancers. The tested compounds had different targets at the receptor level: NMDA receptor antagonist memantine, alpha7 nACh receptor agonist (PHA-543613), antagonist (Methyllycaconitin – MLA) and PAM compounds (NS-1738, PNU-120596, CPDX), as well as D-serine, a compound that binds to the glycine binding site of the NMDA receptor, and a DAAO inhibitor compound that affects the extracellular level of D-serine. The brain area investigated in the experiments was the hippocampal region of the rat, which is essential for memory formation and consolidation, and further mapping and understanding of this brain region is crucial for the development of effective pharmacological therapies in neurocognitive disorders.

Methods: Both the local and systemic effects of the tested compounds were investigated by measuring the extracellular firing activity of pyramidal cells in the CA1 region of the hippocampus of anaesthetized rats. We measured how the different test compounds affect the glutamatergic and cholinergic neurotransmission, as the applied experimental protocols were based on iontophoretic delivery of endogen neurotransmitters (NMDA and ACh). In addition to NMDA and ACh-induced excitations, the spontaneous firing activity of the pyramidal neurons was also investigated.

Results:

I. Thesis: Alpha7 nACh receptor agonist and PAM compounds differentially affect spontaneous and NMDA-evoked firing activity of hippocampal pyramidal cells.

- An antagonistic-like effect of the agonist compound was observed in the study of local effects, which may be due to the receptor desensitizing effect of the compound, which is also attributed to possible procognitive and neuroprotective effects.
- In contrast, PAM compounds had a clear stimulatory effect on firing activity. This finding may be due to the facilitating effects of PAM on the natural activity of the endogenous ACh agonist.
- Combined administration of the agonist and the PAM compound additively modulated neuronal activity compared to their single administration, and the inhibitory effect of the agonist was reversed by the combined administration of the agonist with PAM. The results obtained may provide further evidence for the influence of PAM compounds on desensitization.

Relevant own publication:

Bali, Z. K., Nagy, L. V., Budai, D., & Hernádi, I. (2019). Facilitation and inhibition of firing activity and N-methyl-D-aspartate-evoked responses of CA1 hippocampal pyramidal cells by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor selective compounds *in vivo*. *Scientific Reports*, 9(1), 9324. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45796-7> IF: 3,998

II. Thesis: The alpha7 nACh receptor-sensitive compounds and memantine modulate the spontaneous, the NMDA- or ACh-evoked firing activity of hippocampal pyramidal cells differentially depending on the mechanism of action and the doses applied.

- The highest dose of the registered AK drug memantine tested had only an inhibitory effect on NMDA receptors, which is consistent with the NMDA receptor inhibitory effect reported in the literature. The other doses relevant to behavioural experiments did not modulate NMDA-induced excitations but did affect spontaneous and ACh-induced firing activity. This result questions the canonically accepted NMDA-receptor mediated antagonism of memantine behind its previously observed cognitive enhancer effects.

- The alpha7 nACh receptor agonist compound had mostly facilitating effect on spontaneous and ACh-induced firing activity and was characterized by an inverted U-shaped dose-response curve similar to that previously observed in behavioural experiments. The specific dose-response curve can be explained by that low doses of the agonist induce no effect in the central nervous system, whereas high doses do not induce a stimulatory effect on neuronal function due to receptor desensitization and receptor binding site occupancy.
- The tested alpha7 nACh receptor PAM compound had a strong stimulatory effect on ACh-induced firing activity, with no or less effects in the other two firing conditions. This finding may be due to the agonist-dependent mechanism of action observed when using PAM compounds.
- When analysing the combined doses, in line with the behavioural results, the combination of sub-effective doses produced significant increases in firing activity in every firing condition, while no significant difference in activity was observed for the high dose combinations. The results with high doses may be due to the off-target effects of the two compounds. It strongly suggested that clear that alpha7 compounds could modulate the effect of memantine when administered both at sub-effective low doses and at high doses, thus these results may provide evidence for an interaction between the two different compounds.

Planned own publication:

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. Modulation of spontaneous and N-methyl-D-aspartate or acetylcholine-evoked firing activity of hippocampal CA1 pyramidal neurons by systemically applied cognitive enhancer compounds in the anesthetized rat (*Under consideration for submission*)

III. Thesis: D-serine-induces facilitatory effect on firing activity in a large number of the hippocampal pyramidal cells, both when local and systemic effects are tested

- When the local effects of D-serine and DAAOI were investigated, the two compounds increased the firing activity of pyramidal cells in a similar manner. They were found to stimulate spontaneous firing activity in the majority of the tested neurons, and also NMDA-induced firing activity in half of the cases. This phenomenon may be due to the regulatory role of local neuronal connections within the hippocampus.
- As with the local administration, the systemic effects were found to be similar for D-serine and the compound affecting D-serine levels (DAAOI), which may be linked to the positive cognitive and pro-cognitive behavioural effects observed in experiments previously described in the literature. Thus, DAAOI compounds are highly suitable to replace D-serine as a cognitive enhancer, as D-serine is nephrotoxic and has a lower level brain penetration, when administered chronically
- No significant difference was found between the effects of D-serine and DAAOI compound, suggesting that increasing extracellular D-serine levels directly and via DAAOI modulated neuronal firing activity to a similar level, which may give DAAOIs an advantage for drug development because of the potential peripheral effects of chronic administration of D-serine.

Relevant own publication:

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Kapus, G., Pelsőczi, P., Farkas, B., Lendvai, B., Lévy, G., & Hernádi, I. (2021). Converging evidence on D-Amino acid oxidase-dependent enhancement of hippocampal firing activity and passive avoidance learning in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(5), 434–445. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa095> IF: 5,678

10. Felhasznált irodalom

- Adage, T., Trillat, A. C., Quattropiani, A., Perrin, D., Cavarec, L., Shaw, J., Guerassimenko, O., Giachetti, C., Gréco, B., Chumakov, I., Halazy, S., Roach, A., & Zaratin, P. (2008). In vitro and in vivo pharmacological profile of AS057278, a selective d-amino acid oxidase inhibitor with potential anti-psychotic properties. *European Neuropsychopharmacology*, *18*(3), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2007.06.006>
- Albuquerque, E. X., Pereira, E. F. R., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). *Mammalian Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Structure to Function*, *89*(1), 73–120. 10.1152/physrev.00015.2008
- Alkondon, M., Pereira, E. F., & Albuquerque, E. X. (1996). Mapping the location of functional nicotinic and gamma-aminobutyric acidA receptors on hippocampal neurons. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, *279*(3), 1491–1506. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8968375>
- Amador-Ortiz, C., & Dickson, D. W. (2008). *Neuropathology of Hippocampal Sclerosis*, (89), (569–572). [https://doi.org/10.1016/S0072-9752\(07\)01253-5](https://doi.org/10.1016/S0072-9752(07)01253-5)
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. *Neuroscience*, *31*(3), 571–591. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7)
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Annese, J., Schenker-Ahmed, N. M., Bartsch, H., Maechler, P., Sheh, C., Thomas, N., Kayano, J., Ghatan, A., Bresler, N., Frosch, M. P., Klaming, R., & Corkin, S. (2014). Postmortem examination of patient H.M.'s brain based on histological sectioning and digital 3D reconstruction. *Nature Communications*, *3*(1225), 1–5. <https://doi.org/10.1038/ncomms4122>
- Antal, A., Luber, B., Brem, A. K., Bikson, M., Brunoni, A. R., Cohen Kadosh, R., Dubljević, V., Fecteau, S., Ferreri, F., Flöel, A., Hallett, M., Hamilton, R. H., Herrmann, C. S., Lavidor, M., Loo, C., Lustenberger, C., Machado, S., Miniussi, C., Moliadze, V., Paulus, W. (2022). Non-invasive brain stimulation and neuroenhancement. *Clinical Neurophysiology Practice*, *7*, 146–165. <https://doi.org/10.1016/j.cnp.2022.05.002>
- Aracava, Y., Pereira, E. F. R., Maelicke, A., & Albuquerque, E. X. (2005). Memantine blocks $\alpha 7^*$ nicotinic acetylcholine receptors more potently than N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *312*(3), 1195–1205. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.077172>
- Arena, J. E., & Rabinstein, A. A. (2015). Transient Global Amnesia. *Mayo Clinic Proceedings*, *90*(2), 264–272. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.12.001>
- Arendash, G. W., Sengstock, G. J., Sanberg, P. R., & Kem, W. R. (1995). Improved learning and memory in aged rats with chronic administration of the nicotinic receptor agonist GTS-21. *Brain Research*, *674*(2), 252–259. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01449-R](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01449-R)
- Arvanitakis, Z., Shah, R. C., & Bennett, D. A. (2019). Diagnosis and Management of Dementia: Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *322*(16), 1589–1599. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.4782>
- Bado, P., Madeira, C., Vargas-Lopes, C., Moulin, T. C., Wasilewska-Sampaio, A. P., Maretta, L., De Oliveira, R. V., Amaral, O. B., & Panizzutti, R. (2011). Effects of low-dose d-serine on recognition and working memory in mice. *Psychopharmacology*, *218*(3), 461–470. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2330-4>
- Bali, Z., Budai, D., & Hernádi, I. (2014). Separation of electrophysiologically distinct neuronal populations in the rat hippocampus for neuropharmacological testing under in vivo conditions. *Acta Biologica Hungarica*, *65*(3), 224–251. <https://doi.org/10.1556/ABiol.65.2014.3.1>
- Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadeipalli, S. A., Csurgó, R., Nagy, L. V., Tompa, M., & Hernádi, I. (2019). Cognitive enhancer effects of low memantine doses are facilitated by an $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist in scopolamine-induced amnesia in rats. *Frontiers in Pharmacology*, *10*(2), 73. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00073>

- Bali, Z. K., Inkeller, J., Csurgyók, R., Bruszt, N., Horváth, H., & Hernádi, I. (2015). Differential effects of $\alpha 7$ nicotinic receptor agonist PHA-543613 on spatial memory performance of rats in two distinct pharmacological dementia models. *Behavioural Brain Research*, 278, 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.030>
- Bali, Z. K., Nagy, L. V., & Hernádi, I. (2017). Alpha7 nicotinic acetylcholine receptors play a predominant role in the cholinergic potentiation of N-Methyl-D-aspartate evoked firing responses of hippocampal CA1 pyramidal cells. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 271. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00271>
- Banerjee, P., Samoriski, G., Gupta, S., Aracava, Y., Pereira, E. F. R., Maelicke, A., & Albuquerque, E. X. (2005). Comments on „memantine blocks $\alpha 7^*$ nicotinic acetylcholine receptors more potently than N-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons” (multiple letters). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(2), 928–933. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.081976>
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., & Lippa, A. S. (1982). The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction. *Science*, 217(4558), 408–414. <https://doi.org/10.1126/science.7046051>
- Beck, B., & Pourié, G. (2013). Ghrelin, neuropeptide Y, and other feeding-regulatory peptides active in the Hippocampus: Role in learning and memory. *Nutrition Reviews*, 71(8), 541–561. <https://doi.org/10.1111/nure.12045>
- Becker, B., Klein, E. M., Striepens, N., Mihov, Y., Schlaepfer, T. E., Reul, J., Goossens, L., Schruers, K., Kendrick, K. M., & Hurlmann, R. (2013). Nicotinic acetylcholine receptors contribute to learning-induced Metaplasticity in the hippocampus. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 25(7), 986–997. https://doi.org/10.1162/jocn_a_00383
- Beconi, M. G., Howland, D., Park, L., Lyons, K., Giuliano, J., Dominguez, C., Munoz-Sanjuan, I., & Pacifici, R. (2011). Pharmacokinetics of memantine in rats and mice. *PLoS currents*, 3, 1291. <https://doi.org/10.1371/currents.RRN1291>
- Belarbi, K., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F.-J., Desmercieres, J., Troquier, L., Brouillette, J., Tsambou, L., Grosjean, M.-E., Caillierez, R., Demeyer, D., Hamdane, M., Schindowski, K., Blum, D., & Buee, L. (2011). Loss of Medial Septum Cholinergic Neurons in THY-Tau22 Mouse Model: What Links with tau Pathology? *Current Alzheimer Research*, 8(6), 633–638. <https://doi.org/10.2174/156720511796717230>
- Bell, L. A., Bell, K. A., & McQuiston, A. R. (2013). Synaptic muscarinic response types in hippocampal CA1 interneurons depend on different levels of presynaptic activity and different muscarinic receptor subtypes. *Neuropharmacology*, 73, 160–173. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.026>
- Ben-Ari, Y., Krnjević, K., Reinhardt, W., & Ropert, N. (1981). Intracellular observations on the disinhibitory action of acetylcholine in the hippocampus. *Neuroscience*, 6(12), 2475–2484. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(81\)90093-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(81)90093-2)
- Berger, J. R., & Dean, D. (2014). Neurosyphilis. *Handbook of Clinical Neurology* 121, 1461–1472. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4088-7.00098-5>
- Berger-Sweeney, J., Stearns, N. A., Murg, S. L., Floerke-Nashner, L. R., Lappi, D. A., & Baxter, M. G. (2001). Selective Immunolesions of Cholinergic Neurons in Mice: Effects on Neuroanatomy, Neurochemistry, and Behavior. *The Journal of Neuroscience*, 21(20), 8164–8173. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08164.2001>
- Berry, R. L., Teyler, T. J., & Taizhen, H. (1989). Induction of LTP in rat primary visual cortex: tetanus parameters. *Brain Research*, 481(2), 221–227. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)90797-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)90797-X)
- Bertrand, D., & Gopalakrishnan, M. (2007). Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology*, 74(8), 1155–1163. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.07.011>
- Bertrand, D., & Wallace, T. L. (2020). A Review of the Cholinergic System and Therapeutic Approaches to Treat Brain Disorders. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 45, 1-28. https://doi.org/10.1007/7854_2020_141
- Birks, J. (2006). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006(1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005593>

- Birks, J., & Craig, D. (2006). Galantamine for vascular cognitive impairment. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006(1). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004746.pub2>
- Biscoe, T. J., & Straughan, D. W. (1966). Micro-electrophoretic studies of neurones in the cat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 183(2), 341–359. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1966.sp007869>
- Blanco-Silvente, L., Capellà, D., Garre-Olmo, J., Vilalta-Franch, J., & Castells, X. (2018). Predictors of discontinuation, efficacy, and safety of memantine treatment for Alzheimer's disease: Meta-analysis and meta-regression of 18 randomized clinical trials involving 5004 patients. *BMC Geriatrics*, 18(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s12877-018-0857-5>
- Bliss, T. V. P., & Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>
- Blokland, A., Honig, W., & Raaijmakers, W. G. M. (1992). Effects of intra-hippocampal scopolamine injections in a repeated spatial acquisition task in the rat. *Psychopharmacology*, 109(3), 373–376. <https://doi.org/10.1007/BF02245886>
- Bodnar, A. L., Cortes-Burgos, L. A., Cook, K. K., Dinh, D. M., Groppi, V. E., Hajos, M., Higdon, N. R., Hoffmann, W. E., Hurst, R. S., Myers, J. K., Rogers, B. N., Wall, T. M., Wolfe, M. L., & Wong, E. (2005). Discovery and structure-activity relationship of quinuclidine benzamides as agonists of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(4), 905–908. <https://doi.org/10.1021/jm049363q>
- Borges, L. G., & Bonakdarpour, B. (2017). Memantine-Induced chorea and dystonia. *Practical Neurology*, 17(2), 133–134. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2016-001470>
- Braida, D., Paladini, E., Griffini, P., Lamperti, M., Maggi, A., & Sala, M. (1996). An inverted U-shaped curve for heptylphosphostigmine on radial maze performance in rats: comparison with other cholinesterase inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, 302(1–3), 13–20. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(96\)00072-6](https://doi.org/10.1016/0014-2999(96)00072-6)
- Bruszt, N., Bali, Z. K., Tadeballi, S. A., Nagy, L. V., & Hernádi, I. (2021). Potentiation of cognitive enhancer effects of Alzheimer's disease medication memantine by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 in the Morris water maze task. *Psychopharmacology*, 238(11), 3273–3281. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05942-4>
- Buccafusco, J. J., Jackson, W. J., Terry, A. V., Marsh, K. C., Decker, M. W., & Arneric, S. P. (1995). Improvement in performance of a delayed matching-to-sample task by monkeys following ABT-418: a novel cholinergic channel activator for memory enhancement. *Psychopharmacology*, 120(3), 256–266. <https://doi.org/10.1007/BF02311172>
- Buchanan, K. A., Petrovic, M. M., Chamberlain, S. E. L., Marrion, N. V., & Mellor, J. R. (2010). Facilitation of Long-Term Potentiation by Muscarinic M1 Receptors Is Mediated by Inhibition of SK Channels. *Neuron*, 68(5), 948–963. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.018>
- Budai, D., & Molnár, Z. (2001). Novel carbon fiber microelectrodes for extracellular electrophysiology. *Acta Biol Szeged*, 45(4). <http://www.sci.u-szeged.hu/ABSARTICLE>
- Buzsáki, G. (1996). The Hippocampo-Neocortical Dialogue. *Cerebral Cortex*, 6(2), 81–92. <https://doi.org/10.1093/cercor/6.2.81>
- Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16(2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>
- Cacabelos, R., Takeda, M., & Winblad, B. (1999). The glutamatergic system and neurodegeneration in dementia: Preventive strategies in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 14(1), 3–47. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1166\(199901\)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1166(199901)14:1<3::AID-GPS897>3.0.CO;2-7)
- Castro, N. G., & Albuquerque, E. X. (1993). Brief-lifetime, fast-inactivating ion channels account for the cz-bungarotoxin-sensitive nicotinic response in hippocampal neurons. *Neuroscience Letters*, 164(1–2), 137–140. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90876-M](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90876-M)

- Cavallo, M., Signorino, A., & Perucchini, M. L. (2016). Benefits of Cognitive Treatments Administered to Patients Affected by Mild Cognitive Impairment/Mild Neurocognitive Disorder. *Drug Development Research*, 77(8), 444–452. <https://doi.org/10.1002/ddr.21339>
- Cheng, Q., & Yakel, J. L. (2014). Presynaptic $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors enhance hippocampal mossy fiber glutamatergic transmission via PKA activation. *Journal of Neuroscience*, 34(1), 124–133. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2973-13.2014>
- Cheng, Q., & Yakel, J. L. (2015). The effect of $\alpha 7$ nicotinic receptor activation on glutamatergic transmission in the hippocampus. *Biochemical Pharmacology*, 97(4), 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.015>
- Choi, D. W. (1988). Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1(8), 623–634. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(88\)90162-6](https://doi.org/10.1016/0896-6273(88)90162-6)
- Clifford, D. B., & Ances, B. M. (2013). HIV-associated neurocognitive disorder. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(11), 976–986. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70269-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70269-X)
- Cole, A. E., & Nicoll, R. A. (1984). The pharmacology of cholinergic excitatory responses in hippocampal pyramidal cells. *Brain Research*, 305(2), 283–290. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90434-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90434-7)
- Collingridge, G. L., & Abraham, W. C. (2022). Glutamate receptors and synaptic plasticity: The impact of Evans and Watkins. *Neuropharmacology*, 206, 108922. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108922>
- Collingridge, G. L., & Singer, W. (1990). Excitatory amino acid receptors and synaptic plasticity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 11(7), 290–296. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(90\)90011-V](https://doi.org/10.1016/0165-6147(90)90011-V)
- Collingridge, G. L., Volianskis, A., Bannister, N., France, G., Hanna, L., Mercier, M., Tidball, P., Fang, G., Irvine, M. W., Costa, B. M., Monaghan, D. T., Bortolotto, Z. A., Molnár, E., Lodge, D., & Jane, D. E. (2013). The NMDA receptor as a target for cognitive enhancement. *Neuropharmacology* 64, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.06.051>
- Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient H.M.? *Nature Reviews Neuroscience*, 3(2), 153–160. <https://doi.org/10.1038/nrn726>
- Corkin, S., Amaral, D. G., González, R. G., Johnson, K. A., & Hyman, B. T. (1997). H. M.'s Medial Temporal Lobe Lesion: Findings from Magnetic Resonance Imaging. *The Journal of Neuroscience*, 17(10), 3964–3979. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-10-03964.1997>
- Coyle, J. T., & Tsai, G. (2004). The NMDA receptor glycine modulatory site: A therapeutic target for improving cognition and reducing negative symptoms in schizophrenia. *Psychopharmacology*, 174(1), 32–38. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1709-2>
- Creeley, C., Wozniak, D. F., Labruyere, J., Taylor, G. T., & Olney, J. W. (2006). Low doses of memantine disrupt memory in adult rats. *Journal of Neuroscience*, 26(15), 3923–3932. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4883-05.2006>
- Czarnecka, K., Chuchmacz, J., Wójtowicz, P., & Szymański, P. (2021). Memantine in neurological disorders – schizophrenia and depression. *Journal of Molecular Medicine*, 99(3), 327–334. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01982-z>
- Csicsvari, J., Hirase, H., Czurko, A., & Buzsáki, G. (1998). Reliability and State Dependence of Pyramidal Cell–Interneuron Synapses in the Hippocampus. *Neuron*, 21(1), 179–189. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80525-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80525-5)
- Dani, J. A., & Bertrand, D. (2007). Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 47, 699–729. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105214>
- Dannenberg, H., Pabst, M., Braganza, O., Schoch, S., Niediek, J., Bayraktar, M., Mormann, F., & Beck, H. (2015). Synergy of direct and indirect cholinergic septo-hippocampal pathways coordinates firing in hippocampal networks. *Journal of Neuroscience*, 35(22), 8394–8410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4460-14.2015>

- Danysz, W., & Parsons, C. G. (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: Preclinical evidence. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, *167*(2), 324-352. <https://doi.org/10.1002/gps.938>
- Dasari, S., & Gullledge, A. T. (2011). M1 and M4 receptors modulate hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, *105*(2), 779-792. <https://doi.org/10.1152/jn.00686.2010>
- Davies, P., & Maloney, A. J. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, *2*(8000), 1403. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(76\)91936-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(76)91936-x)
- de Mendonça, A., & Ribeiro, J. A. (1996). Adenosine and neuronal plasticity. *Life Sciences*, *60*(4-5), 245-251. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(96\)00544-9](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(96)00544-9)
- Deardorff, W. J., & Grossberg, G. T. (2016). A fixed-dose combination of memantine extended-release and donepezil in the treatment of moderate-to-severe Alzheimer's disease. *Drug Design, Development and Therapy*, *10*, 3267-3279. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S86463>
- Dodd, J., Dingledine, R., & Kelly, J. S. (1981). The excitatory action of acetylcholine on hippocampal neurones of the guinea pig and rat maintained in vitro. *Brain Research*, *207*(1), 109-127. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90682-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90682-X)
- Dorhout Mees, S., Rinkel, G. J., Feigin, V. L., Algra, A., van den Bergh, W. M., Vermeulen, M., & van Gijn, J. (2007). Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *3*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000277.pub3>
- Dresler, M., Sandberg, A., Bublitz, C., Ohla, K., Trenado, C., Mroczko-Wasowicz, A., Kühn, S., & Repantis, D. (2019). Hacking the Brain: Dimensions of Cognitive Enhancement. *ACS Chemical Neuroscience*, *10*(3), 1137-1148. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.8b00571>
- Dunea, G. (2001). Dialysis Dementia: An Epidemic That Came and Went. *ASAIO Journal*, *47*(3), 192-194. <https://doi.org/10.1097/00002480-200105000-00002>
- Elias, M. F., Beiser, A., Wolf, P. A., Au, R., White, R. F., & D'Agostino, R. B. (2000). The Preclinical Phase of Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, *57*(6), 808-813. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.6.808>
- Emre, M., & Qizilbash, N. (2001). Experimental approaches and drugs in development for the treatment of dementia. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, *10*(4), 607-617. <https://doi.org/10.1517/13543784.10.4.607>
- Epstein, F. H., Lipton, S. A., & Rosenberg, P. A. (1994). Excitatory Amino Acids as a Final Common Pathway for Neurologic Disorders. *New England Journal of Medicine*, *330*(9), 613-622. <https://doi.org/10.1056/NEJM199403033300907>
- Fabrigoule, C., Rouch, I., Taberly, A., Letenneur, L., Commenges, D., Mazaux, J. M., Orgogozo, J. M., & Dartigues, J. F. (1998). Cognitive process in preclinical phase of dementia. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/121.1.135>
- Fanselow, M. S., & Dong, H.-W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron*, *65*(1), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Fisher, J. L., & Dani, J. A. (2000). Nicotinic receptors on hippocampal cultures can increase synaptic glutamate currents while decreasing the NMDA-receptor component. *Neuropharmacology*, *39*(13), 2756-2769. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(00\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(00)00102-7)
- Folch, J., Busquets, O., Ettcheto, M., Sánchez-López, E., Castro-Torres, R. D., Verdager, E., Garcia, M. L., Olloquequi, J., Casadesús, G., Beas-Zarate, C., Pelegri, C., Vilaplana, J., Auladell, C., & Camins, A. (2018). Memantine for the treatment of dementia: A review on its current and future applications. *Journal of Alzheimer's Disease*, *62*(3), 1223-1240. IOS Press. <https://doi.org/10.3233/JAD-170672>
- Förster, E., Zhao, S., & Frotscher, M. (2006). Laminating the hippocampus. *Nature Reviews Neuroscience*, *7*(4), 259-267. <https://doi.org/10.1038/nrn1882>

- Freund, T. F. (1992). GABAergic septal and serotonergic median raphe afferents preferentially innervate inhibitory interneurons in the hippocampus and dentate gyrus. *Epilepsy research. Supplement*, 7, 79–91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1361333>
- Freund, T. F., & Buzsáki, G. (1998). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 6(4), 347–470. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I)
- Fujii, S., Ji, Z., Morita, N., & Sumikawa, K. (1999). Acute and chronic nicotine exposure differentially facilitate the induction of LTP. *Brain Research*, 846(1), 137–143. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01982-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01982-4)
- Fujii, S., Ji, Z., & Sumikawa, K. (2000). Inactivation of $\alpha 7$ ACh receptors and activation of non- $\alpha 7$ ACh receptors both contribute to long term potentiation induction in the hippocampal CA1 region. *Neuroscience Letters*, 286(2), 134–138. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01076-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01076-4)
- Fujii, S., Tanaka, H., & Hirano, T. (1523). Suppression of AMPA receptor exocytosis contributes to hippocampal LTD. *Journal of Neuroscience*, 10, 3210–3217. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3210-17.2018>
- George Paxinos, C. W. (2014). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (G. Paxinos & C. Watson eds.; 7th ed). Elsevier Academic Press.
- Giessel, A. J., & Sabatini, B. L. (2010). M1 Muscarinic Receptors Boost Synaptic Potentials and Calcium Influx in Dendritic Spines by Inhibiting Postsynaptic SK Channels. *Neuron*, 68(5), 936–947. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.004>
- Gomperts, S. N. (2016). Lewy Body Dementias: Dementia With Lewy Bodies and Parkinson Disease Dementia. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*, 22(2), 435–463. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000309>
- Gorus, E., Lambert, M., De Raedt, R., & Mets, T. (2007). The influence of galantamine on reaction time, attention processes, and performance variability in elderly Alzheimer patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 27(2), 182–187. <https://doi.org/10.1097/JCP.0b013e318032eadb>
- Graf, P., & Schacter, D. L. (1985). Implicit and explicit memory for new associations in normal and amnesic subjects. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 11(3), 501–518. <https://doi.org/10.1037/0278-7393.11.3.501>
- Gray, R., Rajan, A. S., Radcliffe, K. A., Yakehiro, M., & Dani, J. A. (1996). Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature*, 383(6602), 713–716. <https://doi.org/10.1038/383713a0>
- Greydanus, D. E., Pratt, H. D., & Patel, D. R. (2007). Attention Deficit Hyperactivity Disorder Across the Lifespan: The Child, Adolescent, and Adult. *Disease-a-Month*, 53(2), 70–131. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2007.01.001>
- Griguoli, M., Scuri, R., Ragozzino, D., & Cherubini, E. (2009). Activation of nicotinic acetylcholine receptors enhances a slow calcium-dependent potassium conductance and reduces the firing of stratum oriens interneurons. *European Journal of Neuroscience*, 30(6), 1011–1022. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06914.x>
- Grønlien, J. H., Håkerud, M., Ween, H., Thorin-Hagene, K., Briggs, C. A., Gopalakrishnan, M., & Malysz, J. (2007). Distinct profiles of $\alpha 7$ nAChR positive allosteric modulation revealed by structurally diverse chemotypes. *Molecular Pharmacology*, 72(3), 715–724. <https://doi.org/10.1124/mol.107.035410>
- Grothe, M., Heinsen, H., & Teipel, S. J. (2012). Atrophy of the cholinergic basal forebrain over the adult age range and in early stages of Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 71(9), 805–813. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.06.019>
- Grothe, M., Zaborszky, L., Atienza, M., Gil-Neciga, E., Rodriguez-Romero, R., Teipel, S. J., Amunts, K., Suarez-Gonzalez, A., & Cantero, J. L. (2010). Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cerebral Cortex*, 20(7), 1685–1695. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp232>

- Grüter, T., Wiescholleck, V., Dubovyk, V., Aliane, V., & Manahan-Vaughan, D. (2015). Altered neuronal excitability underlies impaired hippocampal function in an animal model of psychosis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *9*(5), 117. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00117>
- Gu, Z., & Yakel, J. L. (2011). Timing-Dependent Septal Cholinergic Induction of Dynamic Hippocampal Synaptic Plasticity. *Neuron*, *71*(1), 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.04.026>
- Gusev, A. G., & Uteshev, V. V. (2010). Physiological Concentrations of Choline Activate Native $\alpha 7$ -Containing Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Presence of PNU-120596 [1-(5-Chloro-2,4-dimethoxyphenyl)-3-(5-methylisoxazol-3-yl)-urea]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *332*(2), 588–598. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.162099>
- Haam, J., & Yakel, J. L. (2017). Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function. *Journal of Neurochemistry*, *142*, 111–121. <https://doi.org/10.1111/jnc.14052>
- Hajos, M. (2004). The Selective $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist PNU-282987 [N-[(3R)-1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]-4-chlorobenzamide Hydrochloride] Enhances GABAergic Synaptic Activity in Brain Slices and Restores Auditory Gating Deficits in Anesthetized Rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *312*(3), 1213–1222. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.076968>
- Halff, A. W., Gómez-Varela, D., John, D., & Berg, D. K. (2014). A novel mechanism for nicotinic potentiation of glutamatergic synapses. *Journal of Neuroscience*, *34*(6), 2051–2064. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2795-13.2014>
- Hangya, B., Ranade, S. P., Lorenc, M., & Kepecs, A. (2015). Central Cholinergic Neurons Are Rapidly Recruited by Reinforcement Feedback. *Cell*, *162*(5), 1155–1168. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.057>
- Harris, E. W., & Cotman, C. W. (1986). Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by N-methyl d-aspartate antagonists. *Neuroscience Letters*. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90451-9](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90451-9)
- Hasegawa, H., Masuda, N., Natori, H., Shinohara, Y., & Ichida, K. (2019). Pharmacokinetics and toxicokinetics of D-serine in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *162*, 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.026>
- Hashimoto, A., Nishikawa, T., Oka, T., & Takahashi, K. (1993). Endogenous d-Serine in Rat Brain: N-Methyl-d-Aspartate Receptor-Related Distribution and Aging. *Journal of Neurochemistry*, *60*(2), 783–786. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb03219.x>
- Hashimoto, K. (2015). Targeting of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Treatment of Schizophrenia and the Use of Auditory Sensory Gating as a Translational Biomarker. *Current Pharmaceutical Design*, *21*(26), 3797–3806. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150605111345>
- Hassanpoor, H., Fallah, A., & Raza, M. (2014). Mechanisms of hippocampal astrocytes mediation of spatial memory and theta rhythm by gliotransmitters and growth factors. *Cell Biology International*, *38*(12), 1355–1366. <https://doi.org/10.1002/cbin.10326>
- Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, *16*, 710–715. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.09.002>
- Hasselmo, M. E., & Sarter, M. (2011). Modes and Models of Forebrain Cholinergic Neuromodulation of Cognition. *Neuropsychopharmacology Reviews*, *36*(10), 52–73. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.104>
- Hasselmo, M. E., & Stern, C. E. (2014). Theta rhythm and the encoding and retrieval of space and time. *NeuroImage*, *85*, 656–666. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.06.022>
- Hasselmo, M., & Schnell, E. (1994). Laminar selectivity of the cholinergic suppression of synaptic transmission in rat hippocampal region CA1: computational modeling and brain slice physiology. *The Journal of Neuroscience*, *14*(6), 3898–3914. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-06-03898.1994>
- Herreras, O., Solís, J. M., Herranz, A. S., del Río, R. M., & Lerma, J. (1988). Sensory modulation of hippocampal transmission. II. Evidence for a cholinergic locus of inhibition in the Schaffer-CA1 synapse. *Brain Research*, *461*(2), 303–313. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90260-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90260-0)

- Holm, S. (1979). Board of the Foundation of the Scandinavian Journal of Statistics A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* 6(2),65-70. <https://www.ime.usp.br/~abe/lista/pdf4R8xPVzCnX.pdf>
- Hopkins, S. C., Campbell, U. C., Heffernan, M. L. R., Spear, K. L., Jeggo, R. D., Spanswick, D. C., Varney, M. A., & Large, T. H. (2013). Effects of D-amino acid oxidase inhibition on memory performance and long-term potentiation in vivo. *Pharmacology Research and Perspectives*, 1(1). <https://doi.org/10.1002/prp2.7>
- Hoskin, J. L., Al-Hasan, Y., & Sabbagh, M. N. (2019). Nicotinic acetylcholine receptor agonists for the treatment of Alzheimer's dementia: An update. *Nicotine and Tobacco Research*, 21(3), 370–376. <https://doi.org/10.1093/ntr/nty116>
- Hu, M., Waring, J. F., Gopalakrishnan, M., & Li, J. (2008). Role of GSK-3 β activation and α 7 nAChRs in A β 1-42-induced tau phosphorylation in PC12 cells. *Journal of Neurochemistry*, 106(3), 1371–1377. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05483.x>
- Huang, L.-T., Sherwood, J. L., Sun, Y.-J., Lodge, D., & Wang, Y. (2010). Activation of presynaptic α 7 nicotinic receptors evokes an excitatory response in hippocampal CA3 neurones in anaesthetized rats: an in vivo iontophoretic study. *British Journal of Pharmacology*, 159(3), 554–565. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00529.x>
- Hudson, S. A., & Tabet, N. (2003). Acetyl-L-carnitine for dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2003(2), CD003158. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd003158>
- Hugo, J., & Ganguli, M. (2014). Dementia and Cognitive Impairment. Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Clinics in Geriatric Medicine*, 30(3), 421–442. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2014.04.001>
- Hynd, M. R., Scott, H. L., & Dodd, P. R. (2004). Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, 45(5), 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2004.03.007>
- Inoue, K. (1998). The functions of ATP receptors in the hippocampus. *Pharmacological research*, 38(5), 323–331. <https://doi.org/10.1006/phrs.1998.0382>
- Iovino, L., Tremblay, M. E., & Civiero, L. (2020). Glutamate-induced excitotoxicity in Parkinson's disease: The role of glial cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 144(3), 151–164. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.07.011>
- Jay, T. M., Burette, F., & Laroche, S. (1995). NMDA Receptor-dependent Long-term Potentiation in the Hippocampal Afferent Fibre System to the Prefrontal Cortex in the Rat. *European Journal of Neuroscience*, 7(2), 247–250. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1995.tb01060.x>
- Ji, D., Lape, R., & Dani, J. A. (2001). Timing and Location of Nicotinic Activity Enhances or Depresses Hippocampal Synaptic Plasticity. *Neuron*, 31(1), 131-141. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00332-4](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00332-4)
- Jung, M. W., Baeg, E. H., Kim, M. J., Kim, Y. B., & Kim, J. J. (2008). Plasticity and Memory in the Prefrontal Cortex. *Reviews in the Neurosciences*, 19(1), 29–46. <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.2008.19.1.29>
- Junjaud, G., Rouaud, E., Turpin, F., Mothet, J. P., & Billard, J. M. (2006). Age-related effects of the neuromodulator D-serine on neurotransmission and synaptic potentiation in the CA1 hippocampal area of the rat. *Journal of Neurochemistry*, 98(4), 1159–1166. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03944.x>
- Jutkowitz, E., Kane, R. L., Gaugler, J. E., MacLehose, R. F., Dowd, B., & Kuntz, K. M. (2017). Societal and Family Lifetime Cost of Dementia: Implications for Policy. *Journal of the American Geriatrics Society*, 65(10), 2169–2175. <https://doi.org/10.1111/jgs.15043>
- Kalappa, B. I., Gusev, A. G., & Uteshev, V. V. (2010). Activation of Functional α 7-Containing nAChRs in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons by Physiological Levels of Choline in the Presence of PNU-120596. *PLoS ONE*, 5(11), e13964. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013964>
- Kalappa, B. I., & Uteshev, V. V. (2013). The dual effect of PNU-120596 on α 7 nicotinic acetylcholine receptor channels. *European Journal of Pharmacology*, 718(1-3), 226-234. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.08.027>

- Kane, J. P. M., Surendranathan, A., Bentley, A., Barker, S. A. H., Taylor, J. P., Thomas, A. J., Allan, L. M., McNally, R. J., James, P. W., McKeith, I. G., Burn, D. J., & O'Brien, J. T. (2018). Clinical prevalence of Lewy body dementia. *Alzheimer's Research and Therapy*, *10*(1). <https://doi.org/10.1186/s13195-018-0350-6>
- Kang, N., Peng, H., Yu, Y., Stanton, P. K., Guilarte, T. R., & Kang, J. (2013). Astrocytes release d-serine by a large vesicle. *Neuroscience*, *240*, 243–257. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.029>
- Kantar, D., Acun, A. D., & Danişman, B. (2022). Effects of thymoquinone on scopolamine-induced spatial and echoic memory changes through regulation of lipid peroxidation and cholinergic impairment. *Behavioural Brain Research*, *431*, 113972. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113972>
- Keating, G. M., & Raffin, M. J. (2005). Modafinil. *CNS Drugs*, *19*(9), 785–803. <https://doi.org/10.2165/00023210-200519090-00005>
- Khoronenkova, S. V., & Tishkov, V. I. (2008). D-Amino acid oxidase: Physiological role and applications. *Biochemistry (Moscow)*, *73*(13), 1511–1518. <https://doi.org/10.1134/S0006297908130105>
- Koukoulis, F., & Maskos, U. (2015). The multiple roles of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in modulating glutamatergic systems in the normal and diseased nervous system. *Biochemical Pharmacology*, *97*(4), 378–387. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.018>
- Kuang, H., Zhou, Z. F., Zhu, Y. G., Wan, Z. K., Yang, M. W., Hong, F. F., & Yang, S. L. (2021). Pharmacological treatment of vascular dementia: A molecular mechanism perspective. *Aging and Disease* *12*(1), 308–326. <https://doi.org/10.14336/AD.2020.0427>
- Kullmann, D. M. (2011). Interneuron networks in the hippocampus. *Current Opinion in Neurobiology*, *21*(5), 709–716. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.05.006>
- Lagostena, L., Trocme-Thibierge, C., Morain, P., & Cherubini, E. (2008). The partial $\alpha 7$ nicotine acetylcholine receptor agonist S 24795 enhances long-term potentiation at CA3-CA1 synapses in the adult mouse hippocampus. *Neuropharmacology*, *54*(4), 676–685. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.11.016>
- Lanni, C., Lenzen, S. C., Pascale, A., Del Vecchio, I., Racchi, M., Pistoia, F., & Govoni, S. (2008). Cognition enhancers between treating and doping the mind. *Pharmacological Research*, *57*(3), 196–213. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.02.004>
- Lathe, R. (2001). Hormones and the hippocampus. *Journal of Endocrinology*, *169*(2), 205–231. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1690205>
- Lau, A., & Tymianski, M. (2010). Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, *460*(2), 525–542. <https://doi.org/10.1007/s00424-010-0809-1>
- Le Bail, M., Martineau, M., Sacchi, S., Yatsenko, N., Radzishevsky, I., Conrod, S., Ait Ouares, K., Wolosker, H., Pollegioni, L., Billard, J.-M., & Mothet, J.-P. (2015). Identity of the NMDA receptor coagonist is synapse specific and developmentally regulated in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(2), 204–213. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416668112>
- Leão, R. N., Mikulovic, S., Leão, K. E., Munguba, H., Gezelius, H., Enjin, A., Patra, K., Eriksson, A., Loew, L. M., Tort, A. B. L., & Kullander, K. (2012). OLM interneurons differentially modulate CA3 and entorhinal inputs to hippocampal CA1 neurons. *Nature Neuroscience*, *15*(11), 1524–1530. <https://doi.org/10.1038/nn.3235>
- Ledneczki, I., Horváth, A., Tapolcsányi, P., Éles, J., Molnár, K. D., Vágó, I., Visegrády, A., Kiss, L., Szigetvári, Á., Kóti, J., Krámos, B., Mahó, S., Holm, P., Kolok, S., Fodor, L., Thán, M., Kostyalik, D., Balázs, O., Vastag, M., Greiner, I., Lévy G., Lendvai B., Némethy, Z. (2021). HTS-based discovery and optimization of novel positive allosteric modulators of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *222*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113560>
- Ledneczki, I., Tapolcsányi, P., Gábor, E., Visegrády, A., Vass, M., Éles, J., Holm, P., Horváth, A., Pocsai, A., Mahó, S., Greiner, I., Krámos, B., Béni, Z., Kóti, J., Káncz, A. E., Thán, M., Kolok, S., Laszy, J., Balázs, O., Vastag, M., Szájli Á., Bozó É., Lévy G., Lendvai B., Némethy, Z. (2021). Discovery of novel positive allosteric modulators of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor: Scaffold hopping approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *214*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113189>

- Lees, G. J. (1993). Contributory mechanisms in the causation of neurodegenerative disorders. *Neuroscience*, 54(2), 287-322. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90254-D](https://doi.org/10.1016/0306-4522(93)90254-D)
- Lendvai, B., Kassai, F., Szájli, Ágota, & Némethy, Z. (2013). $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptors and their role in cognition. *Brain Research Bulletin*, 93, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.11.003>
- Letsinger, A. C., Gu, Z., & Yakel, J. L. (2022). $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the hippocampal circuit: taming complexity. *Trends in Neurosciences*, 45(2), 145–157. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.11.006>
- Levin, E. D. (2002). Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *Journal of Neurobiology*, 53(4), 633–640. <https://doi.org/10.1002/neu.10151>
- Levin, E. D., & Rezvani, A. H. (2000). Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *European Journal of Pharmacology*, 393(1–3), 141–146. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(99\)00885-7](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(99)00885-7)
- Lewis, A. S., Van Schalkwyk, G. I., & Bloch, M. H. (2017). Alpha-7 nicotinic agonists for cognitive deficits in neuropsychiatric disorders: A translational meta-analysis of rodent and human studies HHS Public Access. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 75, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp>
- Li, S., Nai, Q., Lipina, T. V., Roder, J. C., & Liu, F. (2013). $\alpha 7$ nAChR/NMDAR coupling affects NMDAR function and object recognition. *Molecular Brain*, 6(1), 58. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-58>
- Li, Y., Sacchi, S., Pollegioni, L., Basu, A. C., Coyle, J. T., & Bolshakov, V. Y. (2013). Identity of endogenous NMDAR glycine site agonist in amygdala is determined by synaptic activity level. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/ncomms2779>
- Lin, C. H., Chen, P. K., Chang, Y. C., Chuo, L. J., Chen, Y. S., Tsai, G. E., & Lane, H. Y. (2014). Benzoate, a D-amino acid oxidase inhibitor, for the treatment of early-phase Alzheimer disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Biological Psychiatry*, 75(9), 678–685. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.08.010>
- Lin, C. H., Chen, P. K., Wang, S. H., & Lane, H. Y. (2019). Sodium benzoate for the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD): A randomized, double-blind, placebo-controlled, 6-week trial. *Journal of Psychopharmacology*, 33(8), 1030–1033. <https://doi.org/10.1177/0269881119849815>
- Lin, C. H., Lin, C. H., Chang, Y. C., Huang, Y. J., Chen, P. W., Yang, H. T., & Lane, H. Y. (2018). Sodium Benzoate, a D-Amino Acid Oxidase Inhibitor, Added to Clozapine for the Treatment of Schizophrenia: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Biological Psychiatry*, 84(6), 422–432. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.12.006>
- Lin, C. H., Yang, H. T., Chen, P. K., Wang, S. H., & Lane, H. Y. (2020). Precision medicine of sodium benzoate for the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD). *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 16, 509–518. <https://doi.org/10.2147/NDT.S234371>
- Lisman, J., Buzsáki, G., Eichenbaum, H., Nadel, L., Rangananth, C., & Redish, A. D. (2017). Viewpoints: How the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nature Neuroscience*, 20(11), 1434–1447. <https://doi.org/10.1038/nn.4661>
- Lisman, J., Schulman, H., & Cline, H. (2002). The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(3), 175-190, <https://doi.org/10.1038/nrn753>
- Lombardo, S., & Maskos, U. (2015). Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology*, 96(PtB), 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.11.018>
- Losonczy, A., Makara, J. K., & Magee, J. C. (2008). Compartmentalized dendritic plasticity and input feature storage in neurons. *Nature*, 452(7186), 436–441. <https://doi.org/10.1038/nature06725>
- Ludkiewicz, B., Wójcik, S., Spodnik, E., Domaradzka-Pytel, B., Klejbor, I., & Morys, J. (2002). Cholinergic innervation of parvalbumin- and calbindin-containing neurones in the hippocampus during postnatal development of the rat brain. *Folia morphologica*, 61(2), 89–96. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12164055>

- Ma, K. G., & Qian, Y. H. (2019). Alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor and its effects on Alzheimer's disease. *Neuropeptides*, 73, 96–106. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2018.12.003>
- MacLeod, J. E., Potter, A. S., Simoni, M. K., & Bucci, D. J. (2006). Nicotine administration enhances conditioned inhibition in rats. *European Journal of Pharmacology*, 551(1–3), 76–79. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.082>
- Madrid, L. I., Jimenez-Martin, J., Coulson, E. J., & Jhaveri, D. J. (2021). Cholinergic regulation of adult hippocampal neurogenesis and hippocampus-dependent functions. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 134, 105969. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2021.105969>
- Maekawa, M., Watanabe, M., Yamaguchi, S., Konno, R., & Hori, Y. (2005). Spatial learning and long-term potentiation of mutant mice lacking D-amino-acid oxidase. *Neuroscience Research*, 53(1), 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.05.008>
- Magee, J. C., & Grienberger, C. (2020). Synaptic Plasticity Forms and Functions. *Annual Review of Neuroscience*, 43(1), 95–117. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-090919-022842>
- Malek, N., & Greene, J. (2015). Cognition enhancers for the treatment of dementia. *Scottish Medical Journal*, 60(1), 44–49. <https://doi.org/10.1177/0036933014561948>
- Malík, M., & Tlustoš, P. (2022). Nootropics as Cognitive Enhancers: Types, Dosage and Side Effects of Smart Drugs. *Nutrients*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/nu14163367>
- Malykh, A. G., & Sadaie, M. R. (2010). Piracetam and Piracetam-Like Drugs. *Drugs*, 70(3), 287–312. <https://doi.org/10.2165/11319230-000000000-00000>
- Malysz, J., Grønlien, J. H., Anderson, D. J., Håkerud, M., Thorin-Hagene, K., Ween, H., Wetterstrand, C., Briggs, C. A., Faghiih, R., Bunnelle, W. H., & Gopalakrishnan, M. (2009). In vitro pharmacological characterization of a novel allosteric modulator of $\alpha 7$ neuronal acetylcholine receptor, 4-(5-(4-chlorophenyl)-2-methyl-3-propionyl-1H-pyrrol-1-yl)benzenesulfonamide (A-867744), exhibiting unique pharmacological profile. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 330(1), 257–267. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.151886>
- Mancuso, C., Bates, T. E., Butterfield, D. A., Calafato, S., Cornelius, C., De Lorenzo, A., Dinkova Kostova, A. T., & Calabrese, V. (2007). Natural antioxidants in Alzheimer's disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 16(12), 1921–1931. <https://doi.org/10.1517/13543784.16.12.1921>
- Mann, E. O., & Greenfield, S. A. (2003). Novel modulatory mechanisms revealed by the sustained application of nicotine in the guinea-pig hippocampus in vitro. *Journal of Physiology*, 551(2), 539–550. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.045492>
- Mans, R. A., Warmus, B. A., Smith, C. C., & McMahon, L. L. (2014). An acetylcholinesterase inhibitor, eserine, induces long-term depression at CA3-CA1 synapses in the hippocampus of adult rats. *Journal of Neurophysiology*, 112(10), 2388–2397. <https://doi.org/10.1152/jn.00048.2014>
- Martin, S. J., Grimwood, P. D., & Morris, R. G. M. (2000). Synaptic Plasticity and Memory: An Evaluation of the Hypothesis. *Annual Review of Neuroscience*, 23(1), 649–711. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.649>
- Martina, M., Krasteniakov, N. V., & Bergeron, R. (2003). D-Serine differently modulates NMDA receptor function in rat CA1 hippocampal pyramidal cells and interneurons. *Journal of Physiology*, 548(2), 411–423. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.037127>
- Maskell, P. D., Speder, P., Newberry, N. R., & Bermudez, I. (2003). Inhibition of human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors by open channel blockers of N-methyl-D-aspartate receptors. *British Journal of Pharmacology*, 140(7), 1313–1319. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705559>
- Matsunaga, S., Kishi, T., & Iwata, N. (2015). Memantine monotherapy for Alzheimer's Disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 10(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123289>
- McColgan, P., & Tabrizi, S. J. (2018). Huntington's disease: a clinical review. *European Journal of Neurology*, 25(1), 24–34. <https://doi.org/10.1111/ene.13413>

- McShane, R., Westby, M. J., Roberts, E., Minakaran, N., Schneider, L., Farrimond, L. E., Maayan, N., Ware, J., & Debarros, J. (2019). Memantine for dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3(3), CD003154. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003154.pub6>
- Mecklinger, A. (2010). The control of long-term memory: Brain systems and cognitive processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 34(7), 1055–1065. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.11.020>
- Meftah, A., Hasegawa, H., & Kantrowitz, J. T. (2021). D-Serine: A Cross Species Review of Safety. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 726365. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.726365>
- Mercer, A., & Thomson, A. M. (2017). Cornu ammonis regions-antecedents of cortical layers? *Frontiers in Neuroanatomy*, 11, 83. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00083>
- Meyer, E. M., de Fiebre, C. M., Hunter, B. E., Simpkins, C. E., Frauworth, N., & de Fiebre, N. E. C. (1994). Effects of anabaseine-related analogs on rat brain nicotinic receptor binding and on avoidance behaviors. *Drug Development Research*, 31(2), 127–134. <https://doi.org/10.1002/ddr.430310207>
- Meyer, E. M., Tay, E. T., Papke, R. L., Meyers, C., Huang, G., & de Fiebre, C. M. (1997). 3-[2,4-Dimethoxybenzylidene]anabaseine (DMXB) selectively activates rat $\alpha 7$ receptors and improves memory-related behaviors in a mecamylamine-sensitive manner. *Brain Research*, 768(1–2), 49–56. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00536-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00536-2)
- Milner, B., Corkin, S., & Teuber, H.-L. (1968). Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of H.M. *Neuropsychologia*, 6(3), 215–234. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(68\)90021-3](https://doi.org/10.1016/0028-3932(68)90021-3)
- Mizuseki, K., Diba, K., Pastalkova, E., & Buzsáki, G. (2011). Hippocampal CA1 pyramidal cells form functionally distinct sublayers. *Nature neuroscience*, 14(9), 1174–1181. <https://doi.org/10.1038/nn.2894>
- Mizuseki, K., Royer, S., Diba, K., & Buzsáki, G. (2012). Activity dynamics and behavioral correlates of CA3 and CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus*, 22(8), 1659–1680. <https://doi.org/10.1002/hipo.22002>
- Modarresi, A., Sayyah, M., Razooghi, S., Eslami, K., Javadi, M., & Kouti, L. (2018). Memantine Augmentation Improves Symptoms in Serotonin Reuptake Inhibitor-Refractory Obsessive-Compulsive Disorder: A Randomized Controlled Trial. *Pharmacopsychiatry*, 51(6), 263–269. <https://doi.org/10.1055/s-0043-120268>
- Molino, I., Colucci, L., Fasanaro, A. M., Traini, E., & Amenta, F. (2013). Efficacy of memantine, donepezil, or their association in moderate-severe Alzheimer’s disease: A review of clinical trials. *The Scientific World Journal*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/925702>
- Molnár, E. (2008). Molecular Organization and Regulation of Glutamate Receptors in Developing and Adult Mammalian Central Nervous Systems. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*, 415–441. https://doi.org/10.1007/978-0-387-30382-6_17
- Moore, E., Mander, A., Ames, D., Carne, R., Sanders, K., & Watters, D. (2012). Cognitive impairment and vitamin B12: A review. *International Psychogeriatrics*, 24(4), 541–556. <https://doi.org/10.1017/S1041610211002511>
- Moran, C., Callisaya, M. L., Srikanth, V., & Arvanitakis, Z. (2019). Diabetes Therapies for Dementia. *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 19(8). <https://doi.org/10.1007/s11910-019-0973-4>
- Morè, L., Lauterborn, J. C., Papaleo, F., & Brambilla, R. (2020). Enhancing cognition through pharmacological and environmental interventions: Examples from preclinical models of neurodevelopmental disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 110(April 2018), 28–45. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.02.003>
- Moreno, S., Nardacci, R., Cimini, A., & Cerù, M. P. (1999). Immunocytochemical localization of D-amino acid oxidase in rat brain. *Journal of Neurocytology*, 28(3), 169–185. <https://doi.org/10.1023/A:1007064504007>
- Morris, R. G. M., Anderson, E., Lynch, G. S., & Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319(6056), 774–776. <https://doi.org/10.1038/319774a0>

- Moser, M.-B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8(6), 608–619. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7)
- Nakauchi, S., Brennan, R. J., Boulter, J., & Sumikawa, K. (2007). Nicotine gates long-term potentiation in the hippocampal CA1 region via the activation of $\alpha 2^*$ nicotinic ACh receptors. *European Journal of Neuroscience*, 25(9), 2666–2681. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05513.x>
- Nakauchi, S., & Sumikawa, K. (2012). Endogenously released ACh and exogenous nicotine differentially facilitate long-term potentiation induction in the hippocampal CA1 region of mice. *European Journal of Neuroscience*, 35(9), 1381–1395. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08056.x>
- Newcomer, J. W., & Krystal, J. H. (2001). NMDA receptor regulation of memory and behavior in humans. *Hippocampus*, 11(5), 529–542. <https://doi.org/10.1002/hipo.1069>
- Newman, L. A., & Gold, P. E. (2016). Attenuation in rats of impairments of memory by scopolamine, a muscarinic receptor antagonist, by mecamylamine, a nicotinic receptor antagonist. *Psychopharmacology*, 233(5), 925–932. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4174-9>
- Nicolás, B., Sala-Padró, J., Cucurell, D., Santurino, M., Falip, M., & Fuentemilla, L. (2021). Theta rhythm supports hippocampus-dependent integrative encoding in schematic/semantic memory networks. *NeuroImage*, 226. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117558>
- Nicoll, R. A. (2017). A Brief History of Long-Term Potentiation. *Neuron*, 93(2), 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.015>
- Nikiforuk, A., Potasiewicz, A., Kos, T., & Popik, P. (2016). The combination of memantine and galantamine improves cognition in rats: The synergistic role of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine and NMDA receptors. *Behavioural Brain Research*, 313, 214–218. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.07.023>
- Nikseresht, Z., Ahangar, N., Badrikoohi, M., & Babaei, P. (2021). Synergistic enhancing-memory effect of D-serine and RU360, a mitochondrial calcium uniporter blocker in rat model of Alzheimer’s disease. *Behavioural Brain Research*, 409. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113307>
- Ning, H., Cao, D., Wang, H., Kang, B., Xie, S., & Meng, Y. (2017). Effects of haloperidol, olanzapine, ziprasidone, and PHA-543613 on spatial learning and memory in the Morris water maze test in naïve and MK-801-treated mice. *Brain and Behavior*, 7(8), 1–6. <https://doi.org/10.1002/brb3.764>
- Nordberg, A. (2001). Nicotinic receptor abnormalities of Alzheimer’s disease: therapeutic implications. *Biological Psychiatry*, 49(3), 200–210. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)01125-2](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)01125-2)
- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., & Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462–465. <https://doi.org/10.1038/307462a0>
- O’Brien, J. T., & Thomas, A. (2015). Vascular dementia. *The Lancet*, 386(10004), 1698–1706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00463-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00463-8)
- Ochoa, E. L. M., Chattopadhyay, A., & McNamee, M. G. (1989). Desensitization of the nicotinic acetylcholine receptor: Molecular mechanisms and effect of modulators. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 9(2), 141–178. <https://doi.org/10.1007/BF00713026>
- O’Donnell, P., Dong, C., Murthy, V., Asgharnejad, M., Du, X., Summerfelt, A., Lu, H., Xu, L., Wendland, J. R., Dunayevich, E., Buhl, D. L., Litman, R., Hetrick, W. P., Hong, L. E., & Rosen, L. B. (2023). The D-amino acid oxidase inhibitor luvadaxistat improves mismatch negativity in patients with schizophrenia in a randomized trial. *Neuropsychopharmacology*. <https://doi.org/10.1038/s41386-023-01560-0>
- Ohno, M., Yamamoto, T., & Watanabe, S. (1993). Blockade of hippocampal nicotinic receptors impairs working memory but not reference memory in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 45(1), 89–93. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90091-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90091-7)
- Opello, K. D., Stackman, R. W., Ackerman, S., & Walsh, T. J. (1993). AF64A (ethylcholine mustard aziridinium) impairs acquisition and performance of a spatial, but not a cued water maze task: Relation to cholinergic hypofunction. *Physiology & Behavior*, 54(6), 1227–1233. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90353-H](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90353-H)

- Otani, S., Bai, J., & Blot, K. (2015). Dopaminergic modulation of synaptic plasticity in rat prefrontal neurons. *Neuroscience Bulletin*, *31*(2), 183–190. <https://doi.org/10.1007/s12264-014-1507-3>
- Palacios-Filardo, J., & Mellor, J. R. (2019). Neuromodulation of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology*, *54*, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.08.009>
- Paoletti, P., & Neyton, J. (2007). NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Current Opinion in Pharmacology*, *7*(1), 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2006.08.011>
- Papouin, T., Dunphy, J. M., Tolman, M., Dineley, K. T., & Haydon, P. G. (2017). Septal Cholinergic Neuromodulation Tunes the Astrocyte-Dependent Gating of Hippocampal NMDA Receptors to Wakefulness. *Neuron*, *94*(4), 840–854.e7. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.021>
- Papouin, T., Dunphy, J., Tolman, M., Foley, J. C., & Haydon, P. G. (2017). Astrocytic control of synaptic function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1715). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0154>
- Parent, M. J., Bedard, M.-A., Aliaga, A., Minuzzi, L., Mechawar, N., Soucy, J.-P., Schirmacher, E., Kostikov, A., Gauthier, S. G., & Rosa-Neto, P. (2013). Cholinergic Depletion in Alzheimer's Disease Shown by [18F] FEOBV Autoradiography. *International Journal of Molecular Imaging*, *2013*(205045), 1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/205045>
- Parsons, C. G., Danysz, W., & Quack, G. (2000). Memantine and the amino-alkyl-cyclohexane MRZ 2/579 are moderate affinity uncompetitive NMDA receptor antagonists - in vitro characterisation. *Amino Acids*, *19*(1), 157–166. <https://doi.org/10.1007/s007260070044>
- Pataki, C. S., Feinberg, D. T., & McGough, J. J. (2004). New drugs for the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, *9*(2), 293–302. <https://doi.org/10.1517/14728214.9.2.293>
- Pei, J. C., Luo, D. Z., Gau, S. S., Chang, C. Y., & Lai, W. S. (2021). Directly and Indirectly Targeting the Glycine Modulatory Site to Modulate NMDA Receptor Function to Address Unmet Medical Needs of Patients With Schizophrenia. *Frontiers in Psychiatry*, *12*(742058). <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2021.742058>
- Pelkey, K. A., Chittajallu, R., Craig, M. T., Tricoire, L., Wester, J. C., & McBain, C. J. (2017). Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons. *Physiological Reviews*, *97*(4), 1619–1747. <https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2017>
- Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Kokmen, E., & Tangelos, E. G. (1997). Aging, Memory, and Mild Cognitive Impairment. *International Psychogeriatrics*. <https://doi.org/10.1017/S1041610297004717>
- Petrovic, M. M., Nowacki, J., Olivo, V., Tsaneva-Atanasova, K., Randall, A. D., & Mellor, J. R. (2012). Inhibition of post-synaptic Kv7/KCNQ/M channels facilitates long-term potentiation in the hippocampus. *PLoS ONE*, *7*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030402>
- Phillips, C. (2017). Lifestyle Modulators of Neuroplasticity: How Physical Activity, Mental Engagement, and Diet Promote Cognitive Health during Aging. *Neural Plasticity*, *2017*(3589271). <https://doi.org/10.1155/2017/3589271>
- Pismataro, M. C., Horenstein, N. A., Stokes, C., Dallanocce, C., Thakur, G. A., & Papke, R. L. (2021). Stable desensitization of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors by NS6740 requires interaction with S36 in the orthosteric agonist binding site. *European Journal of Pharmacology*, *905*(174179). <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174179>
- Pohanka, M. (2012). Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor is a target in pharmacology and toxicology. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(2), 2219–2238. <https://doi.org/10.3390/ijms13022219>
- Potasiewicz, A., Krawczyk, M., Gzielo, K., Popik, P., & Nikiforuk, A. (2020). Positive allosteric modulators of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors enhance procognitive effects of conventional anti-Alzheimer drugs in scopolamine-treated rats. *Behavioural Brain Research*, *385*(112547). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112547>

- Potier, B., Turpin, F. R., Sinet, P. M., Rouaud, E., Mothet, J. P., Videau, C., Epelbaum, J., Dutar, P., & Billard, J. M. (2010). Contribution of the D-Serine-dependent pathway to the cellular mechanisms underlying cognitive aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *2*(2), 1–11. <https://doi.org/10.3389/neuro.24.001.2010>
- Prickaerts, J., Van Goethem, N. P., Chesworth, R., Shapiro, G., Boess, F. G., Methfessel, C., Reneerkens, O. A. H., Flood, D. G., Hilt, D., Gawryl, M., Bertrand, S., Bertrand, D., & König, G. (2012). EVP-6124, a novel and selective $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, improves memory performance by potentiating the acetylcholine response of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors. *Neuropharmacology*, *62*(2), 1099–1110. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.10.024>
- Quick, M. W., & Lester, R. A. J. (2002). Desensitization of neuronal nicotinic receptors. *Journal of Neurobiology*, *53*(4), 457–478. <https://doi.org/10.1002/neu.10109>
- R. Lorente de Nó. (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex. II. continuation of the study of the ammonic system. *Journal of Psychology and Neurology*, *46*, 113–117.
- Radcliffe, K. A., & Dani, J. A. (1998). Nicotinic Stimulation Produces Multiple Forms of Increased Glutamatergic Synaptic Transmission. *The Journal of Neuroscience*, *18*(18), 7075–7083. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-18-07075.1998>
- Rammes, G., Rupprecht, R., Ferrari, U., Zieglgänsberger, W., & Parsons, C. G. (2001). The N-methyl-d-aspartate receptor channel blockers memantine, MRZ 2/579 and other amino-alkyl-cyclohexanes antagonise 5-HT₃ receptor currents in cultured HEK-293 and N1E-115 cell systems in a non-competitive manner. *Neuroscience Letters*, *306*(1–2), 81–84. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)01872-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)01872-9)
- Rausch, R. (2002). Epilepsy surgery within the temporal lobe and its short-term and long-term effects on memory. *Current Opinion in Neurology*, *15*(2), 185–189. <https://doi.org/10.1097/00019052-200204000-00010>
- Reiser, G., Binnmöller, F.-J., & Koch, R. (1988). Memantine (1-amino-3,5-dimethyladamantane) blocks the serotonin-induced depolarization response in a neuronal cell line. *Brain Research*, *443*(1–2), 338–344. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91630-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91630-7)
- Robbins, T. W., McAlonan, G., Muir, J. L., & Everitt, B. J. (1997). Cognitive enhancers in theory and practice: Studies of the cholinergic hypothesis of cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, *83*(1–2), 15–23. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)86040-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)86040-8)
- Rogawski, M. A., & Wenk, G. L. (2006). The Neuropharmacological Basis for the Use of Memantine in the Treatment of Alzheimer's Disease. *CNS Drug Reviews*, *9*(3), 275–308. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2003.tb00254.x>
- Roncarati, R., Scali, C., Comery, T. A., Grauer, S. M., Aschmi, S., Bothmann, H., Jow, B., Kowal, D., Gianfriddo, M., Kelley, C., Zanelli, U., Ghiron, C., Haydar, S., Dunlop, J., & Terstappen, G. C. (2009). Procognitive and Neuroprotective Activity of a Novel $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist for Treatment of Neurodegenerative and Cognitive Disorders. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *329*(2), 459–468. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.150094>
- Rosenzweig, M. R., Bennett, E. L., Colombo, P. J., Lee, D. W., & Serrano, P. A. (1993). Short-term, intermediate-term, and long-term memories. *Behavioural Brain Research*, *57*(2), 193–198. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90135-D](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90135-D)
- Rothschild, G. (2019). The transformation of multi-sensory experiences into memories during sleep. *Neurobiology of Learning and Memory*, *160*, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.03.019>
- Sachdev, P. S., Mohan, A., Taylor, L., & Jeste, D. V. (2015). DSM-5 and mental disorders in older individuals: An overview. *Harvard Review of Psychiatry*, *23*(5), 320–328. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000090>
- Sachs-Ericsson, N., & Blazer, D. G. (2015). The new DSM-5 diagnosis of mild neurocognitive disorder and its relation to research in mild cognitive impairment. *Aging and Mental Health*, *19*(1), 2–12. <https://doi.org/10.1080/13607863.2014.920303>

- Sadigh-Eteghad, S., Talebi, M., Mahmoudi, J., Babri, S., & Shanehbandi, D. (2015). Selective activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor by PHA-543613 improves A β 25-35-mediated cognitive deficits in mice. *Neuroscience*, *298*, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.04.017>
- Salardini, A. (2019). An Overview of Primary Dementias as Clinicopathological Entities. *Seminars in Neurology*, *39*(2), 153–166. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1683445>
- Salt, T. E. (1989). Modulation of NMDA receptor-mediated responses by glycine and d-serine in the rat thalamus in vivo. *Brain Research*, *481*(2), 403–406. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)90823-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)90823-8)
- Sanches, C., Stengel, C., Godard, J., Mertz, J., Teichmann, M., Migliaccio, R., & Valero-Cabr , A. (2021). Past, Present, and Future of Non-invasive Brain Stimulation Approaches to Treat Cognitive Impairment in Neurodegenerative Diseases: Time for a Comprehensive Critical Review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *12*, 578339. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.578339>
- Sarter, M. (1991). Taking stock of cognition enhancers. *Trends in Pharmacological Sciences*, *12*(12), 456–461. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(91\)90636-7](https://doi.org/10.1016/0165-6147(91)90636-7)
- Sarter, M. (2006). Preclinical research into cognition enhancers. *Trends in Pharmacological Sciences*, *27*(11), 602–608. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.09.004>
- Sarter, M., Hagan, J., & Dudchenko, P. (1992). Behavioral screening for cognition enhancers: from indiscriminate to valid testing: Part I. *Psychopharmacology*, *107*(2–3), 144–159. <https://doi.org/10.1007/BF02245132>
- Schell, M. J., Brady Jr., R. O., Molliver, M. E., & Snyder, S. H. (1997). d-Serine as a Neuromodulator: Regional and Developmental Localizations in Rat Brain Glia Resemble NMDA Receptors. *The Journal of Neuroscience*, *17*(5), 1604–1615. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-05-01604.1997>
- Schell, M. J., Molliver, M. E., & Snyder, S. H. (1995). D-serine, an endogenous synaptic modulator: localization to astrocytes and glutamate-stimulated release. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *92*(9), 3948–3952. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.9.3948>
- Schmidt, R., Hofer, E., Bouwman, F. H., Buerger, K., Cordonnier, C., Fladby, T., Galimberti, D., Georges, J., Heneka, M. T., Hort, J., Lacz , J., Molinuevo, J. L., O'Brien, J. T., Religa, D., Scheltens, P., Schott, J. M., & Sorbi, S. (2015). EFNS-ENS/EAN Guideline on concomitant use of cholinesterase inhibitors and memantine in moderate to severe Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, *22*(6), 889–898. <https://doi.org/10.1111/ene.12707>
- Schmitt, B., Bernhardt, T., Moeller, H. J., Heuser, I., & Fr lich, L. (2004). Combination therapy in Alzheimer's disease: A review of current evidence. *CNS Drugs*, *18*(13), 827–844. <https://doi.org/10.2165/00023210-200418130-00001>
- Schultz, C., & Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the hippocampal formation. *The Hippocampus in Clinical Neuroscience*, *34*, 6–17. <https://doi.org/10.1159/000360925>
- Schwindel, C. D., & McNaughton, B. L. (2011). Hippocampal-cortical interactions and the dynamics of memory trace reactivation. *Progress in Brain Research*, *193*, 163–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53839-0.00011-9>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, *20*(1), 11–21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>
- Seeman, P., Caruso, C., & Lasaga, M. (2008). Memantine agonist action at dopamine D2High receptors. *Synapse*, *62*(2), 149–153. <https://doi.org/10.1002/syn.20472>
- Sekeres, M. J., Winocur, G., & Moscovitch, M. (2018). The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. *Neuroscience Letters*, *680*, 39–53. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.05.006>
- Senter, R. K., Ghoshal, A., Walker, A. G., Xiang, Z., Niswender, C. M., & Conn, P. J. (2016). The Role of mGlu Receptors in Hippocampal Plasticity Deficits in Neurological and Psychiatric Disorders: Implications for Allosteric Modulators as Novel Therapeutic Strategies. *Current neuropharmacology*, *14*(5), 455–473. <https://doi.org/10.2174/1570159x13666150421003225>

- Shafiei-Irannejad, V., Abbaszadeh, S., Janssen, P. M. L., & Soraya, H. (2021). Memantine and its benefits for cancer, cardiovascular and neurological disorders. *European Journal of Pharmacology*, *910*, 174455. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174455>
- Sharma, G., & Vijayaraghavan, S. (2003). Modulation of Presynaptic Store Calcium Induces Release of Glutamate and Postsynaptic Firing. *Neuron*, *38*(6), 929–939. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00322-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00322-2)
- Sharma, K. (2019). Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Molecular Medicine Reports*, *20*(2), 1479–1487. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10374>
- Shiozaki, K., Iseki, E., Hino, H., & Kosaka, K. (2001). Distribution of m1 muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies—an immunohistochemical study. *Journal of the Neurological Sciences*, *193*(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(01\)00638-4](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(01)00638-4)
- Shorvon, S. (2001). Pyrrolidone derivatives. *The Lancet*, *358*(9296), 1885–1892. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06890-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06890-8)
- Shughrue, P. J., & Merchenthaler, I. (2000). Estrogen is more than just a „sex hormone”: Novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *21*(1), 95–101. <https://doi.org/10.1006/frne.1999.0190>
- Sitzia, F., Brown, J. T., Randall, A. D., & Dunlop, J. (2011). Voltage- and temperature-dependent allosteric modulation of $\alpha 7$ nicotinic receptors by PNU120596. *Frontiers in Pharmacology*, *2*, 81. <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00081>
- Smith, S. M., Uslaner, J. M., & Hutson, P. H. (2010). The Therapeutic Potential of D-Amino Acid Oxidase (DAAO) Inhibitors. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, *4*, 3–9. <https://doi.org/10.2174/1874104501004020003>
- Song, X., Jensen, M. O., Jogini, V., Stein, R. A., Lee, C. H., McHaourab, H. S., Shaw, D. E., & Gouaux, E. (2018). Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. *Nature*, *556*(7702), 515–519. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0039-9>
- Söderman, A., Mikkelsen, J. D., West, M. J., Christensen, D. Z., & Jensen, M. S. (2011). Activation of nicotinic $\alpha 7$ acetylcholine receptor enhances long term potentiation in wild type mice but not in APP^{swE}/PS1 Δ E9 mice. *Neuroscience Letters*, *487*(3), 325–329. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.10.049>
- Storch, A., Schratzenholz, A., Cooper, J. C., Ghani, E. M. A., Gutbrod, O., Weber, K.-H., Reinhardt, S., Lobron, C., Hermsen, B., Šoškić, V., Pereira, E. F. R., Albuquerque, E. X., Methfessel, C., & Maelicke, A. (1995). Physostigmine, galanthamine and codeine act as 'noncompetitive nicotinic receptor agonists' on clonal rat pheochromocytoma cells. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*, *290*(3), 207–219. [https://doi.org/10.1016/0922-4106\(95\)00080-1](https://doi.org/10.1016/0922-4106(95)00080-1)
- Strick, C. A., Li, C., Scott, L., Harvey, B., Hajós, M., Steyn, S. J., Piotrowski, M. A., James, L. C., Downs, J. T., Rago, B., Becker, S. L., El-Kattan, A., Xu, Y., Ganong, A. H., Tingley, F. D., Ramirez, A. D., Seymour, P. A., Guanowsky, V., Majchrzak, M. J., Fox, C., Schmidt, C., Duplantier, A. J. (2011). Modulation of NMDA receptor function by inhibition of d-amino acid oxidase in rodent brain. *Neuropharmacology*, *61*(5–6), 1001–1015. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.06.029>
- Sullivan, S. J., & Miller, R. F. (2012). AMPA receptor-dependent, light-evoked D-serine release acts on retinal ganglion cell NMDA receptors. *Journal of Neurophysiology*, *108*(4), 1044–1051. <https://doi.org/10.1152/jn.00264.2012>
- Szegedi, V., Juhász, G., Parsons, C. G., & Budai, D. (2010). In vivo evidence for functional NMDA receptor blockade by memantine in rat hippocampal neurons. *Journal of neural transmission*, *117*(10), 1189–1194. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0471-y>
- Szilágyi, B., Ferenczy, G. G., & Keserű, G. M. (2018). Drug discovery strategies and the preclinical development of D-amino-acid oxidase inhibitors as antipsychotic therapies. *Expert Opinion on Drug Discovery*, *13*(10), 973–982. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1524459>

- Takahashi, K., Hayashi, F., & Nishikawa, T. (2002). In Vivo Evidence for the Link Between l- and d-Serine Metabolism in Rat Cerebral Cortex. *Journal of Neurochemistry*, *69*(3), 1286–1290. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69031286.x>
- Takehara-Nishiuchi, K. (2014). Entorhinal cortex and consolidated memory. *Neuroscience Research*, *84*, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2014.02.012>
- Teipel, S., Heinsen, H., Amaro, E., Grinberg, L. T., Krause, B., & Grothe, M. (2014). Cholinergic basal forebrain atrophy predicts amyloid burden in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, *35*(3), 482–491. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.09.029>
- Teles-Grilo Ruivo, L. M., Baker, K. L., Conway, M. W., Kinsley, P. J., Gilmour, G., Phillips, K. G., Isaac, J. T. R., Lowry, J. P., & Mellor, J. R. (2017). Coordinated Acetylcholine Release in Prefrontal Cortex and Hippocampus Is Associated with Arousal and Reward on Distinct Timescales. *Cell Reports*, *18*(4), 905–917. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.085>
- Terry, A. V., Buccafusco, J. J., & Decker, M. W. (1997). Cholinergic channel activator, ABT-418, enhances delayed-response accuracy in rats. *Drug Development Research*, *40*(4), 304–312. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2299\(199704\)40:4<304::AID-DDR4>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2299(199704)40:4<304::AID-DDR4>3.0.CO;2-N)
- Teyler, T. J. (1989). Comparative aspects of hippocampal and neocortical long-term potentiation. *Journal of Neuroscience Methods*, *28*(1–2), 101–108. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(89\)90015-0](https://doi.org/10.1016/0165-0270(89)90015-0)
- Thomas, S. J., & Grossberg, G. T. (2009). Memantine: a review of studies into its safety and efficacy in treating Alzheimer's disease and other dementias. *Clinical Interventions in Aging*, *4*, 367–377. <https://doi.org/10.2147/cia.s6666>
- Thomsen, M., Hansen, H., Timmerman, M., & Mikkelsen, J. (2010). Cognitive Improvement by Activation of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Animal Models to Human Pathophysiology. *Current Pharmaceutical Design*, *16*(3), 323–343. <https://doi.org/10.2174/138161210790170094>
- Thorpy, M. J. (2020). Recently Approved and Upcoming Treatments for Narcolepsy. *CNS Drugs*, *34*(1), 9–27. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00689-1>
- Timmermann, D. B., Grønlien, J. H., Kohlhaas, K. L., Nielsen, E., Dam, E., Jørgensen, T. D., Ahring, P. K., Peters, D., Holst, D., Chrsitensen, J. K., Malysz, J., Briggs, C. A., Gopalakrishnan, M., & Olsen, G. M. (2007). An allosteric modulator of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor possessing cognition-enhancing properties in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *323*(1), 294–307. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.120436>
- Topolnik, L., & Tamboli, S. (2022). The role of inhibitory circuits in hippocampal memory processing. *Nature Reviews Neuroscience*, *23*(8), 476–492. <https://doi.org/10.1038/s41583-022-00599-0>
- Trujillo, K. A., & Akil, H. (1995). Excitatory amino acids and drugs of abuse: a role for N-methyl-d-aspartate receptors in drug tolerance, sensitization and physical dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, *38*(2), 139–154. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(95\)01119-J](https://doi.org/10.1016/0376-8716(95)01119-J)
- Uteshev, V. V. (2012). $\alpha 7$ nicotinic ACh receptors as a ligand-gated source of Ca²⁺ ions: The search for a Ca²⁺ optimum. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *740*, 603–638. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2888-2_27
- Uttley, L., Carroll, C., Wong, R., Hilton, D. A., & Stevenson, M. (2020). Creutzfeldt-Jakob disease: a systematic review of global incidence, prevalence, infectivity, and incubation. *The Lancet Infectious Diseases*, *20*(1), 2–10. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30615-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30615-2)
- van Goethem, N. P., Paes, D., Puzzo, D., Fedele, E., Rebosio, C., Gulisano, W., Palmeri, A., Wennogle, L. P., Peng, Y., Bertrand, D., & Prickaerts, J. (2019). Antagonizing $\alpha 7$ nicotinic receptors with methyllycaconitine (MLA) potentiates receptor activity and memory acquisition. *Cellular Signalling*, *62*, 109338. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.06.003>
- Verrall, L., Burnet, P. W. J., Betts, J. F., & Harrison, P. J. (2010). The neurobiology of D-amino acid oxidase and its involvement in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *15*(2), 122–137. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.99>

- Verrall, L., Walker, M., Rawlings, N., Benzel, I., Kew, J. N. C., Harrison, P. J., & Burnet, P. W. J. (2007). D-Amino acid oxidase and serine racemase in human brain: Normal distribution and altered expression in schizophrenia. *European Journal of Neuroscience*, *26*(6), 1657–1669. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05769.x>
- Vizi, E. S., & Kiss, J. P. (1998). Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: Synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus*, *8*(6), 566–607. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:6<566::AID-HIPO2>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:6<566::AID-HIPO2>3.0.CO;2-W)
- von Linstow Roloff, E., Harbaran, D., Micheau, J., Platt, B., & Riedel, G. (2007). Dissociation of cholinergic function in spatial and procedural learning in rats. *Neuroscience*, *146*(3), 875–889. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.02.038>
- Walczak-Nowicka, Ł. J., & Herbet, M. (2022). Sodium Benzoate Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review. *Nutrients*, *14*(7), 1497. <https://doi.org/10.3390/nu14071497>
- Wallace, T. L., Callahan, P. M., Tehim, A., Bertrand, D., Tombaugh, G., Wang, S., Xie, W., Rowe, W. B., Ong, V., Graham, E., Terry, A. V., Rodefer, J. S., Herbert, B., Murray, M., Porter, R., Santarelli, L., & Lowe, D. A. (2011). RG3487, a Novel Nicotinic 7 Receptor Partial Agonist, Improves Cognition and Sensorimotor Gating in Rodents. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *336*(1), 242–253. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.171892>
- Wallace, T. L., & Porter, R. H. P. (2011). Targeting the nicotinic alpha7 acetylcholine receptor to enhance cognition in disease. *Biochemical Pharmacology*, *82*(8), 891–903. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.06.034>
- Weed, M. R., Polino, J., Signor, L., Bookbinder, M., Keavy, D., Benitex, Y., Morgan, D. G., King, D., Macor, J. E., Zaczek, R., Olson, R., & Bristow, L. J. (2017). Nicotinic alpha 7 receptor agonists EVP-6124 and BMS-933043, attenuate scopolamine-induced deficits in visuo-spatial paired associates learning. *PLoS ONE*, *12*(12), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187609>
- Wenk, G. L., Quack, G., Moebius, H. J., & Danysz, W. (2000). No interaction of memantine with acetylcholinesterase inhibitors approved for clinical use. *Life Sciences*, *66*(12), 1079–1083. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00411-2](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00411-2)
- Wijnia, J. W. (2022). A Clinician's View of Wernicke-Korsakoff Syndrome. *Journal of Clinical Medicine*, *11*(22), 6755. <https://doi.org/10.3390/jcm11226755>
- Winter, W. (2018). Behavioral evidence suggestive of frontal lobe pathology in the amnesic H.M. *Brain and Cognition*, *123*, 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2018.03.005>
- Wise, L. E., & Lichtman, A. H. (2007). The uncompetitive N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor antagonist memantine prolongs spatial memory in a rat delayed radial-arm maze memory task. *European Journal of Pharmacology*, *575*(1–3), 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.07.059>
- Wishka, D. G., Walker, D. P., Yates, K. M., Reitz, S. C., Jia, S., Myers, J. K., Olson, K. L., Jacobsen, E. J., Wolfe, M. L., Groppi, V. E., Hanchar, A. J., Thornburgh, B. A., Cortes-Burgos, L. A., Wong, E. H. F., Staton, B. A., Raub, T. J., Higdon, N. R., Wall, T. M., Hurst, R. S., Walters R., Hoffmann W., Hajos M., Franklin S., Carey G., Gold L., Cook K., Sands S., Zhaoi S., Soglia J., Kalgutkar A., Arneric S., Rogers, B. N. (2006). Discovery of *N*-[(3*R*)-1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-yl]furo[2,3-*c*]pyridine-5-carboxamide, an Agonist of the $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor, for the Potential Treatment of Cognitive Deficits in Schizophrenia: Synthesis and Structure–Activity Relationship. *Journal of Medicinal Chemistry*, *49*(14), 4425–4436. <https://doi.org/10.1021/jm0602413>
- Witter, M. P., Canto, C. B., Couey, J. J., Koganezawa, N., & O'Reilly, K. C. (2014). Architecture of spatial circuits in the hippocampal region. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *369*(1635), 20120515. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0515>
- Woodruff-Pak, D. S., Tobia, M. J., Jiao, X., Beck, K. D., & Servatius, R. J. (2007). Preclinical investigation of the functional effects of memantine and memantine combined with galantamine or donepezil. *Neuropsychopharmacology*, *32*(6), 1284–1294. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301259>

- Xia, P., Chen, H. S., Zhang, D., & Lipton, S. A. (2010). Memantine preferentially blocks extrasynaptic over synaptic NMDA receptor currents in hippocampal autapses. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(33), 11246–11250. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2488-10.2010>
- Yang, Y., Ge, W., Chen, Y., Zhang, Z., Shen, W., Wu, C., Poo, M., & Duan, S. (2003). Contribution of astrocytes to hippocampal long-term potentiation through release of D-serine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(25), 15194–15199. <https://doi.org/10.1073/pnas.2431073100>
- Yang, Y., Paspalas, C. D., Jin, L. E., Picciotto, M. R., Arnsten, A. F. T., & Wang, M. (2013). Nicotinic $\alpha 7$ receptors enhance NMDA cognitive circuits in dorsolateral prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), 12078–12083. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307849110>
- Yesavage, J., Hoblyn, J., Friedman, L., Mumenthaler, M., Schneider, B., & O'Hara, R. (2007). Should one use medications in combination with cognitive training? If so, which ones. *Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences*, 62(1), 11–18. https://doi.org/10.1093/geronb/62.special_issue_1.11
- Yue, A., Han, X., Mao, E., Wu, G., Gao, J., Huang, L., & Zhou, B. (2020). The effect of scalp electroacupuncture combined with Memantine in patients with vascular dementia: A retrospective study. *Medicine*, 99(33), e21242. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021242>
- Zalutsky, R. A., & Nicoll, R. A. (1990). Comparison of Two Forms of Long-Term Potentiation in Single Hippocampal Neurons. *Science*, 248(4963), 1619–1624. <https://doi.org/10.1126/science.2114039>
- Zanelli, S. A., Solenski, N. J., Rosenthal, R. E., & Fiskum, G. (2005). Mechanisms of ischemic neuroprotection by acetyl-L-carnitine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1053, 153–161. <https://doi.org/10.1196/annals.1344.013>
- Zhang, Z., Gong, N., Wang, W., Xu, L., & Xu, T. Le. (2008). Bell-shaped d-serine actions on hippocampal long-term depression and spatial memory retrieval. *Cerebral Cortex*, 18(10), 2391–2401. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn008>
- Zhao, X., Marszalec, W., Toth, P. T., Huang, J., Yeh, J. Z., & Narahashi, T. (2006). In vitro galantamine-memantine co-application: Mechanism of beneficial action. *Neuropharmacology*, 51(7–8), 1181–1191. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.08.007>
- Zheng, H., Fridkin, M., & Youdim, M. (2014). From single target to multitarget/network therapeutics in Alzheimer's therapy. *Pharmaceuticals*, 7(2), 113–135. <https://doi.org/10.3390/ph7020113>
- Zhou, X., Liu, D., Zhang, R., Peng, Y., Qin, X., & Mao, S. (2016). Modulation of glycine sites enhances social memory in rats using PQQ combined with d-serine. *Behavioural Brain Research*, 308, 217–221. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.04.034>
- Zhou, Y., & Danbolt, N. C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *Journal of Neural Transmission*, 121(8), 799–817. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8>
- Zola-Morgan, S., Squire, L., & Amaral, D. (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 6(10), 2950–2967. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.06-10-02950.1986>

11. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik a disszertációhoz szükséges kísérletek és a dolgozat elkészülésében szakmailag vagy személyesen támogattak.

Köszönetemet szeretném kifejezni a Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskolának és vezetőjének, Dr. Gábrriel Róbert egyetemi tanárnak a doktori tanulmányaimhoz nyújtott támogatásukat.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Hernádi Istvánnak, aki témavezetőmként és a PTE Transzlációs Idegtudományi Kutatócsoport vezetőjeként megteremtette a lehetőséget, hogy ez a dolgozat elkészülhessen, valamint köszönöm segítséget, mellyel a doktori tanulmányaim mellett szakmai előrehaladásomat is segítette.

Köszönöm továbbá a PTE Transzlációs Idegtudományi Kutatócsoport volt és jelenlegi munkatársainak mind szakmai, mind baráti segítségüket, mellyel az elmúlt évtizedben támogattak a kutatói pályán.

Kutatócsoportunk tagjai közül rendkívül hálás vagyok Dr. Bali Zsolt Kristófnak, aki diákkörös pályafutásom legeleje óta segítette tudományos fejlődésem, a laboratóriumi munka minden apró lépésébe való bevezetéstől, a statisztikai próbákon át, a tudományos cikkek írásáig. Külön köszönöm Bruszt Nórának, akinek baráti támogatására bármikor számíthattam.

Rajtuk kívül köszönetet mondanék állatgondozónknak, Antal Jánosnének, akinek alapos és precíz munkája nélkülözhetetlen volt a kísérletek eredményes lebonyolításához.

Továbbá köszönetet mondanék Dr. Budai Dénesnek, a Kation Europa Bt. vezetőjének, aki az általa fejlesztett elektródok kutatócsoportunknak ajándékozásával sok segítséget nyújtott a kísérletek elvégzéséhez. Valamint a Richter Gedeon Nyrt.-nek, hogy az általuk szabadalmaztatott alfa7 nACh-receptor PAM vegyületet kutatócsoportunk rendelkezésére bocsájtotta.

Végül, de nem utolsó sorban mérhetetlen köszönettel tartozom szüleimnek, férjemnek és barátaimnak, hogy támogatásukkal és biztatásukkal végig kísérték és mellettem voltak a PhD fokozat eléréséhez vezető hosszú úton. Valamint végtelen szeretettel köszönöm újszülött fiamnak, Ferenc Károlynak, hogy még szebbé és igazán felejthetlenné tette a PhD beadás és védések körüli időszakot.

12. Saját publikációk

MTMT közlemény és idéző összefoglaló táblázat

MTMT közlemény és idéző összefoglaló táblázat				
Nagy Lili Veronika adatai (2023.08.28.)				
Közlemény típusok	Száma		Hivatkozások 1	
	Összes	Részletezve	Független	Összes
Tudományos közlemények				
I. Tudományos folyóiratcikk	<u>8</u>	---	---	---
külföldi kiadású szakfolyóiratban idegen nyelven	---	<u>8</u>	<u>80</u>	<u>90</u>
külföldi kiadású szakfolyóiratban magyar nyelven	---	0	0	0
hazai kiadású szakfolyóiratban idegen nyelven	---	0	0	0
hazai kiadású szakfolyóiratban magyar nyelven	---	0	0	0
II. Könyvek	0	---	---	---
a) Könyv, szerzőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
b) Könyv, szerkesztőként²	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
IV. Konferenciaközlemény folyóiratban vagy konferenciakötetben	<u>10</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>5</u>	0	0
magyar nyelvű	---	<u>5</u>	0	0
Közlemények összesen (I.-IV.)	<u>18</u>	---	<u>80</u>	<u>90</u>
Absztrakt³	<u>25</u>	---	0	0
Kutatási adat	0	---	0	0
További tudományos művek⁴	<u>1</u>	---	0	0
Összes tudományos közlemény	<u>42</u>	---	<u>80</u>	<u>90</u>
Hirsch index⁵	<u>6</u>	---	---	---
Oktatási művek	0	---	---	---
Felsőoktatási művek	0	---	---	---
Felsőoktatási tankönyv idegen nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv része idegen nyelven	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv része magyar nyelven	---	0	0	0
Oktatási anyag	0	---	0	0
Oltalmi formák	0	---	0	0
Alkotás	0	---	0	0
Ismeretterjesztő művek	0	---	---	---
Folyóiratcikk	---	0	0	0
Könyvek	---	0	0	0
További ismeretterjesztő művek	---	0	0	0

Közérdekű vagy nem besorolt művek6	0	---	0	0
További közlemények7	0		0	0
Egyéb szerzőség8	0	---	0	0
Idézők szerkesztett művekre	---	---	0	0
Idézők disszertációban, egyéb típusban	---	---	<u>9</u>	<u>9</u>
Összes közlemény és összes idézőik	<u>44</u>	---	<u>89</u>	<u>99</u>

Megjegyzések

A táblázat számai hivatkozások is. A számra kattintva a program listázza azokat a műveket, amelyeket a cellában összeszámlált.

--- : Nem kitölthető cella

¹ A hivatkozások a disszertáció és egyéb típusú idézők nélkül számolva. A disszertáció és egyéb típusú idézők összesítve a táblázat végén található.

² Szerkesztőként nem részesedik a könyv idézéséből

³ Csak a tudományos jellegű absztraktok.

⁴ Minden további még el nem számolt tudományos mű (kivéve alkotás vagy oltalmi forma), ahol a szerző: szerző, szerkesztő, kritikai vagy forráskiadás készítője szerzőségű.

⁵ A disszertációk és egyéb típusú idézők nélkül számolva. A sor értéke az "Összes tudományos közlemény" sor idézettségi adatait veszi alapul.

⁶ Minden Közérdekű, Nem besorolt jellegű közlemény, ahol a szerző nem egyéb szerzőségű szerző.

⁷ Ide értve minden olyan művet, mely a táblázat más, nevesített soraiban nem került összeszámlálásra.

⁸ Minden olyan egyéb szerzőségű mű, ahol a szerző nem: szerző, szerkesztő, kritikai vagy forráskiadás készítője szerzőségű.

Tudományometriai adatok:

MTMT azonosító: 10061002

Lektorált folyóiratban megjelent publikációk száma: 8

Összesített impakt faktor: 33,247

Idézetek száma: 99 (független: 89)

Disszertáció alapjául szolgáló publikációk

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Kapus, G., Pelsőczy, P., Farkas, B., Lendvai, B., Lévy, G., & Hernádi, I. (2021). Converging evidence on D-Amino acid oxidase-dependent enhancement of hippocampal firing activity and passive avoidance learning in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(5), 434–445. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa095> **IF: 5,678**

Bali, Z. K., **Nagy, L. V.,** Budai, D., Hernádi, I. (2019). Facilitation and inhibition of firing activity and N-methyl-D-aspartate-evoked responses of CA1 hippocampal pyramidal cells by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor selective compounds *in vivo*. *Scientific reports*, 9(1), 9324. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45796-7> **IF: 3,998**

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. Modulation of spontaneous and N-methyl-D-aspartate or acetylcholine-evoked firing activity of hippocampal CA1 pyramidal neurons by systemically applied cognitive enhancer compounds in the anesthetized rat (**beküldés alatt**)

Az értekezéshez kapcsolódó konferencia közlemények:

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. (2022). Modulation of firing activity of CA1 hippocampal pyramidal neurons by systemically applied alpha7 nicotinic acetylcholine receptor selective compounds and memantine in the anesthetized rat, *in vivo*. International Neuroscience Meeting, Budapest, Magyarország

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. (2019). In Vivo Glutamatergic and cholinergic interplay in the rat hippocampal CA1 area: interactions of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor excitation with spontaneous and NMDA-evoked firing activity. FENS Regional Meeting, Belgrád, Szerbia

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Kapus, G., Hernádi, I. (2018). Local and systemic effects of D-serine modulation on the firing activity of hippocampal CA1 neurons *in vivo*. 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin, Németország

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. (2018). The effects of alpha7 nAChR agonists and positive allosteric modulators on spontaneous and NMDA-evoked firing activity of rat hippocampal CA1 neurons in rats *in vivo*: implications for the treatment of neurocognitive disorders. Alzheimer's Research UK Conference, London, Egyesült Királyság

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. (2017). Az $\alpha 7$ nAChR agonista PHA-543613 és a pozitív alloszterikus modulátor NS-1738 együttes hatásai a CA1-es hippocampalis piramissejtek tüzelési aktivitására és NMDA-érzékenységre. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Gyógyszerinnovációs Kongresszusa, Velence, Magyarország

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Hernádi, I. (2017). Alpha7 nAChR agonist and positive allosteric modulators differentially modulate the spontaneous and NMDA-evoked firing activity of rat hippocampal CA1 neurons *in vivo*. 5th FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország

Egyéb tudományos közlemények:

Bali, Z. K., Nagy, L. V., Bruszt, N., Bodó K., Engelmann P., Hernádi Z., Göntér K., Tadepalli S.A., Hernádi I. Increased brain cytokine level associated impairment of vigilance and memory in aged rats can be improved by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist treatment **(beküldés alatt)**

Bruszt, N., Bali, Z. K., Nagy, L. V., Bodó K., Engelmann P., Némethy Z., Lendvai B., Hernádi I. Combination of memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor ligands exerts superior efficacy over monotreatments to improve cognitive performance of aged rats **(beküldés alatt)**

Bali, Z. K., Bruszt, N., Kőszegi, Z., Nagy, L. V., Atlasz, T., Kovács, P., Csupor, D., Csupor-Löffler, B., Hernádi, I. (2022). *Aconitum* Alkaloid Songorine Exerts Potent Gamma-Aminobutyric Acid-A Receptor Agonist Action *In Vivo* and Effectively Decreases Anxiety without Adverse Sedative or Psychomotor Effects in the Rat. *Pharmaceutics*, 14(10), 2067. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102067> **IF: 6,525**

Bruszt, N., Bali, Z. K., Tadepalli, S. A., Nagy, L. V., Hernádi, I. (2021). Potentiation of cognitive enhancer effects of Alzheimer's disease medication memantine by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 in the Morris water maze task. *Psychopharmacology*, 238(11), 3273–3281. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05942-4> **IF: 4,415**

Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., Bruszt, N., Nagy, L. V., Amrein, K., Fazekas, B., Büki, A., Czeiter, E., Hernádi, I. (2020). Long-term cognitive impairment without diffuse axonal injury following repetitive mild traumatic brain injury in rats. *Behavioural brain research*, 378, 112268. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112268> **IF: 3,332**

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., Csurgó, R., **Nagy, L. V.**, Tompa, M., Hernádi, I. (2019). Cognitive Enhancer Effects of Low Memantine Doses Are Facilitated by an Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist in Scopolamine-Induced Amnesia in Rats. *Frontiers in pharmacology*, 10, 73. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00073> **IF: 4,225**

Budai, D., Vizvári, A. D., Bali, Z. K., Márki, B., **Nagy, L. V.**, Kónya, Z., Madarász, D., Henn-Mike, N., Varga, C., Hernádi, I. (2018). A novel carbon tipped single micro-optrode for combined optogenetics and electrophysiology. *PloS one*, 13(3), e0193836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193836> **IF: 2,776**

Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2017). Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptors Play a Predominant Role in the Cholinergic Potentiation of N-Methyl-D-Aspartate Evoked Firing Responses of Hippocampal CA1 Pyramidal Cells. *Frontiers in cellular neuroscience*, 11, 271. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00271> **IF: 2,298**

Egyéb konferencia közlemények:

Kolozsvári, Á., Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Fazekas, B., Amrein, K., Czeiter, E., Büki, A., Hernádi, I. (2023): Alleviation of longterm cognitive impairment with memantine combined with alfa7 nicotinic receptor ligand after repetitive mild traumatic brain injury in rats. Joint Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (MITT) - Austrian Neuroscience Association (ANA), Budapest, Magyarország

Bruszt, N., Bali, Z. K., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Kolozsvári, Á., Engelmann, P., Bodó, K., Hernádi, I. (2023). Combinations of memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor ligands exert superior efficacy over monotreatments in the improvement of cognitive performance of aged rats. Joint Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (MITT) - Austrian Neuroscience Association (ANA), Budapest, Magyarország

Kolozsvári, Á., Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Fazekas, B., Amrein, K., Czeiter, E., Büki, A., Hernádi, I. (2022). Kognitív teljesítményfokozó farmakonok hosszútávú hatásai ismétlődő enyhe koponyatraumával kiváltott kognitív zavarban. Gyógyszerkutatás, Innováció és Farmakokinetika Konferencia - Annual Congress of Pharmacology Research and Innovation, Mátrafüred, Magyarország

Bruszt, N., Bali, Z. K., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2022). Combined application of memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 improves novel object recognition memory in aged rats. International Neuroscience Meeting, Budapest, Magyarország

Bali, Z. K., Bruszt, N., Kolozsvári, Á., Fazekas, B., **Nagy, L. V.**, Tadepalli, S. A., Amrein, K., Czeiter, E., Büki, A., Hernádi, I. (2022). Cognitive enhancer effects of memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 in a rat model of repetitive mild traumatic brain injury during acute and subchronic treatment regimes. International Neuroscience Meeting, Budapest, Magyarország

Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Tadepalli, S. A., Amrein, K., Fazekas, B., Czeiter, E., Büki, A., Tölgyesi, V., Bodó, K., Hernádi, I. (2020). Translational Potential of Two Etiologically Relevant Rat Models of Neurocognitive Disorders: Behavioral, Histopathological and Molecular Aspects. *Advances in Alzheimer's and Parkinson's Therapies - an AAT-AD/PD Focus Meeting*, Bécs, Ausztria

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., Göntér, K., **Nagy, L. V.**, Hernádi, Z., Hernádi I. (2019). Pszichomotoros vigilancia teszt patkányokban: egy nagy transzlációs potenciállal rendelkező magatartási paradigma öregedéssel járó kognitív hanyatlás és farmakológiai kezelések vizsgálatára. Magyar Kísérleti és Klinikai Farmakológiai Társaság III. Gyógyszer Innovációs Kongresszusa, Gárdony, Magyarország

Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Bodó, K., Engelmann, P., Göntér, K., Hernádi, Z., Hernádi I. (2019). The Psychomotor Vigilance Task (PVT) Provides a Highly Translational Behavioral Paradigm for Testing Cognitive Impairment and Cholinergic Pharmacological Interventions In Young and Aged Rats. FENS Regional Meeting, Belgrád, Szerbia

Bruszt, N., Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2019). Combination of memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 improves spatial long term memory in scopolamine induced amnesia in rats. 48th Meeting of the European Brain and Behaviour Society, Prága, Csehország

Bruszt, N., Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2019). Kognitív teljesítményfokozó farmakológiai kezelések kombinált alkalmazásának lehetőségei preklinikai kísérleti környezetben patkányokban. Magyar Kísérleti és Klinikai Farmakológiai Társaság III. Gyógyszer Innovációs Kongresszusa, Gárdony, Magyarország

Bruszt, N., Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., Göntér, K., Strijk, M., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2019). Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 improves long-term memory and attention in aged rats. 16th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, Magyarország

Tadepalli, S. A., Bruszt, N., Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Czeiter, E., Amrein, K., Fazekas, B., Büki, A., Hernádi, I. (2019). Repetitive mild traumatic brain injury causes long-term cognitive impairment in rats. 48th Meeting of the European Brain and Behaviour Society, Prága, Csehország

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Tompa, M., Csurgyók, R., Klepe, A., Hernádi, I. (2018). Cognitive enhancer effects of NMDA antagonist memantine and alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 in a scopolamine-induced dementia model in rats. Alzheimer's Research UK Conference, London, Egyesült Királyság

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2018). Idős patkányok tárgyfelismerési és térbeli memóriazavarának enyhítése alfa7 nikotinos receptor agonista alkalmazásával. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság (MFT) Gyógyszer Innovációs Konferenciája, Velence, Magyarország

Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Czeiter, E., Amrein, K., Fazekas, B., Büki, A., Hernádi, I. (2018). Repetitive mild traumatic brain injury causes long-term cognitive impairment in rats. 23rd Annual EMN Congress (Euroacademia Multidisciplinaria Neurotraumatologica), Pécs, Magyarország

Tadepalli, S. A., Bali, Z. K., Bruszt, N., **Nagy, L. V.**, Czeiter, E., Amrein, K., Berente, Z., Büki, A., Hernádi, I. (2017). Evaluation of cognitive and memory dysfunction following mild traumatic brain injury in rats. 5th FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Tompa, M., Csurgyók, R., Klepe, A., Hernádi, I. (2017). Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 improves novel object recognition memory and reverses age-related impairments in rats. 5th FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország

Bali, Z. K., Bruszt, N., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Tompa, M., Csurgyók, R., Klepe, A., Hernádi, I. (2017). Az alfa7 nikotinos acetilkolin-receptor agonista PHA-543613 kognitív teljesítményfokozó hatása patkányok új tárgy felismerési tesztjében. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Gyógyszerinnovációs Kongresszusa, Velence, Magyarország

Bruszt, N., Bali, Z. K., Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Tompa, M., Csurgyók, R., Klepe, A., Hernádi, I. (2017). Pro-cognitive effects of memantine are potentiated with alpha7-nAChR agonist PHA-543613 in a scopolamine-induced transient amnesia model in rats. 5th FENS Regional Meeting 2017 Pécs, Magyarország

Bruszt, N., Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Tadepalli, S. A., Tompa, M., Csurgyók, R., Balikó, V., Szántó, B., Hernádi, I. (2017). A memantin prokognitív hatása potencírozható alfa7 nikotinos acetilkolin-receptor agonista PHA-543613-mal szkopolaminnal létrehozott tranzienis demencia modellben patkányban. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Gyógyszerinnovációs Kongresszusa, Velence, Magyarország

Budai, D., Vízvári, A. D., Bali, Z. K., Márki, B., **Nagy, L. V.**, Henn-Mike, N., Varga, C., Hernádi, I. (2017). Novel carbon tipped single optrode for combined electrophysiological and electrochemical recordings *in vivo*. 5th FENS Regional Meeting 2017 Pécs, Magyarország

Bali, Z. K., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2016). Differential effects of cholinolytic amnesic agents on the firing activity of hippocampal CA1 neurons *in vivo*. IBRO Workshop, Budapest, Magyarország

Bruszt, N., Bali, Z. K., Szántó, B., Munz, C., **Nagy, L. V.**, Csurgyók, R., Balikó, V., Tompa, M., Hernádi, I. (2016). Memantin és PHA-543613 kombinált hatásának vizsgálata szkopolaminnal indukált patkány demencia modellben. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ), Pécs, Magyarország

Nagy, L. V., Bali, Z. K., Budai, D., Hernádi, I. (2016). A dopaminerg neurotranszmisszió *in vivo* voltametriás vizsgálata patkány agyban. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ), Pécs, Magyarország

Tadepalli, S. A., **Nagy, L. V.**, Bali, Z. K., Czeiter, E., Amrein, Büki, A., Hernádi, I. (2016). Development of behavioural test battery for quantifying functional effects of mild traumatic brain injury in rats. Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája (FAMÉ), Pécs, Magyarország

Bali, Z. K., Budai, D., **Nagy, L. V.**, Hernádi, I. (2016). In vivo elektrofiziológiai és neurokémiai vizsgálatokra alkalmas kísérleti összeállítások optimalizálása gyógyszerjelölt vegyületek központi idegrendszeri hatásának vizsgálatára. A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Experimentális Farmakológiai szekciójának VIII. szimpóziuma és az MBKE Gyógyszerbiokémiai Szakosztály XXVIII. Munkaértekezlete, Velence, Magyarország

13. Mellékletek

1. sz. melléklet

A PHA-543613 és az MLA (**A**, **B**), valamint a PNU-120596 és az NS-1738 (**C**) lokális hatásának reprezentatív felvételeiből származó hippocampális piramissejtek tüzelési aktivitás hisztogramját mutatja. A jobb oldali betétek nyers elektrofiziológiai felvételt mutatják (extracelluláris egy-sejt elvezetés hullámalakja), amelyet az adott kísérleti ülésben rögzítettünk. A **C panel** alsó betétje a nyers elektrofiziológiai felvételt mutatja a hozzá tartozó felvétel részlet vízszintes tengelyén jelölt időablakban.

2. sz. melléklet

Az alfa7 nACh-receptor agonista PHA-543613 és a PAM NS-1738 hatásainak összehasonlítása önálló és kombinált lokális iontoforetikus adásuk során. A bemutatott tüzelési aktivitás hisztogramok tipikus eseteket mutatnak azon neuronokra, melyek tüzelési aktivitás növekedéssel (**A**) vagy tüzelési aktivitás csökkenéssel (**B**) reagáltak a PHA-543613 iontoforetikus adására. A bal oldali betétek nyers elektrofiziológiai felvételt mutatják (extracelluláris egy-sejt elvezetés hullámalakja), amelyet az adott kísérleti ülésben rögzítettünk.

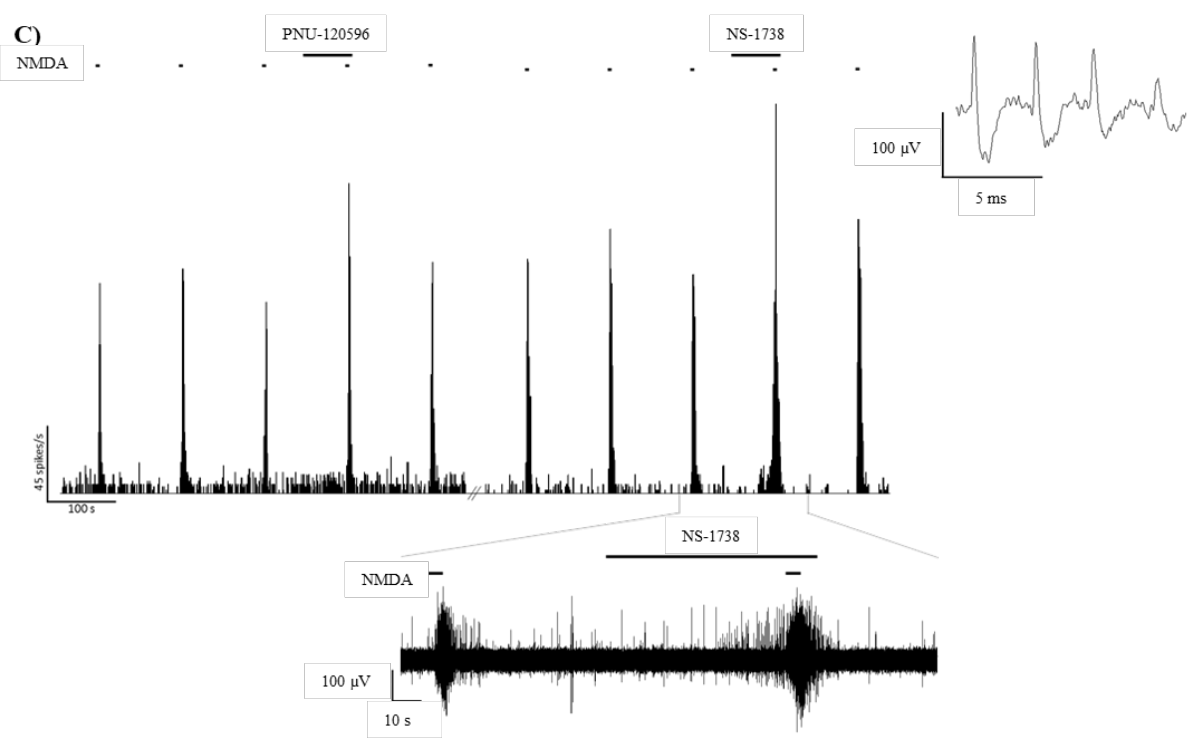
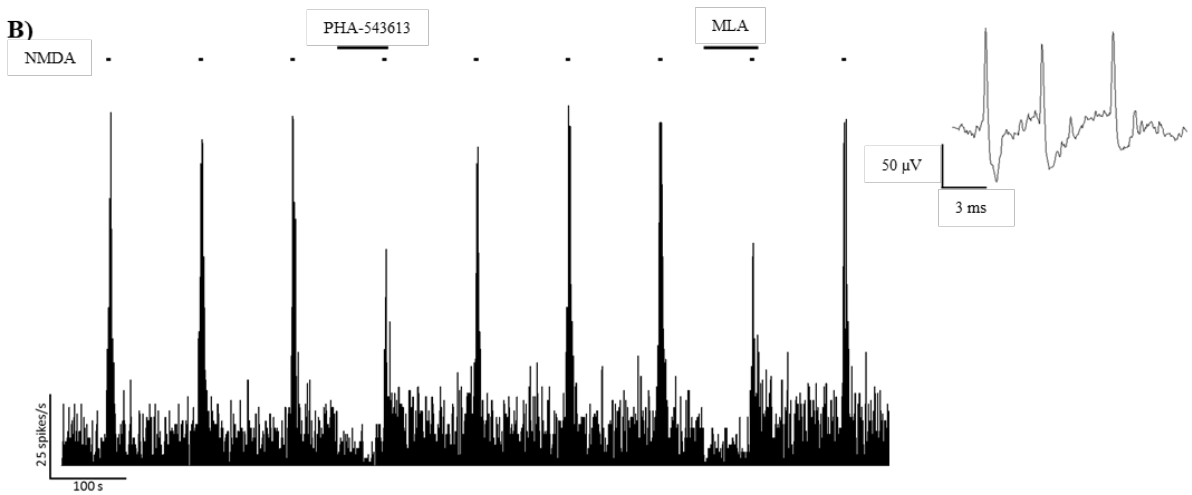
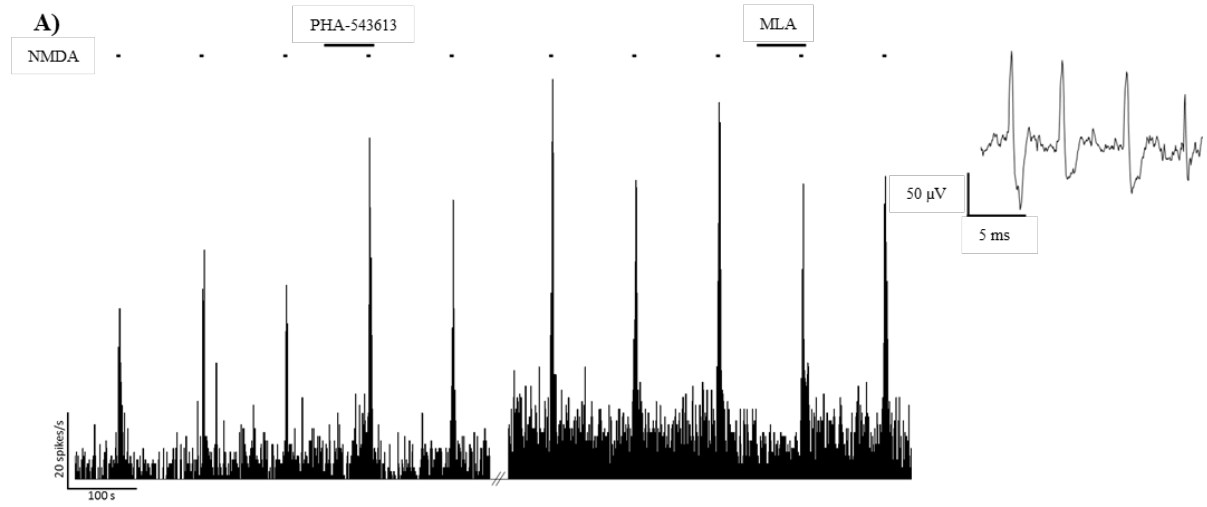
3. sz. melléklet

A lokálisan iontorofézis technikájával beadott D-szerin és CPD30 (CPD) hatása a hippocampális CA1 idegsejtek spontán és NMDA-val kiváltott tüzelési aktivitására. A bemutatott reprezentatív felvételek tüzelési aktivitás hisztogramokat ábrázolnak a D-szerin (**A**) és a CPD30 (**B**) beadása után.

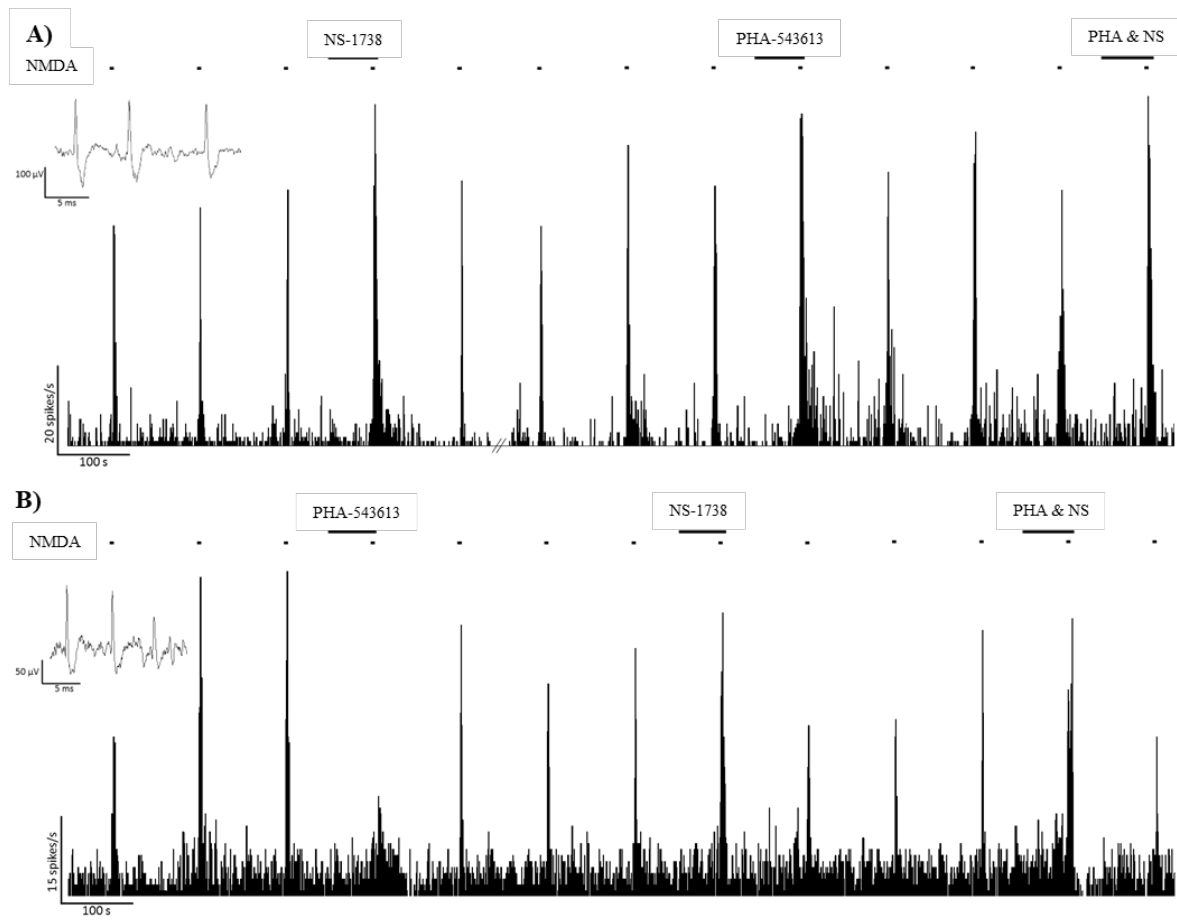
4. sz. melléklet

Reprezentatív elektrofiziológiai felvételek a D-szerin és a CPD30 vegyület tipikus hatásáról a hippocampális CA1 piramissejtek tüzelési aktivitására a szisztémás beadást követően. A tüzelési aktivitás hisztogram feletti jelölések az NMDA ismétlődő, lokális iontoforetikus adását jelzik. A nyíl azt az időpontot jelzi, amikor a D-szerin (**A**) és a CPD30 nevű vegyület különböző dózisa (**B**, **C**) SC injekció formájában beadásra kerültek a patkánynak.

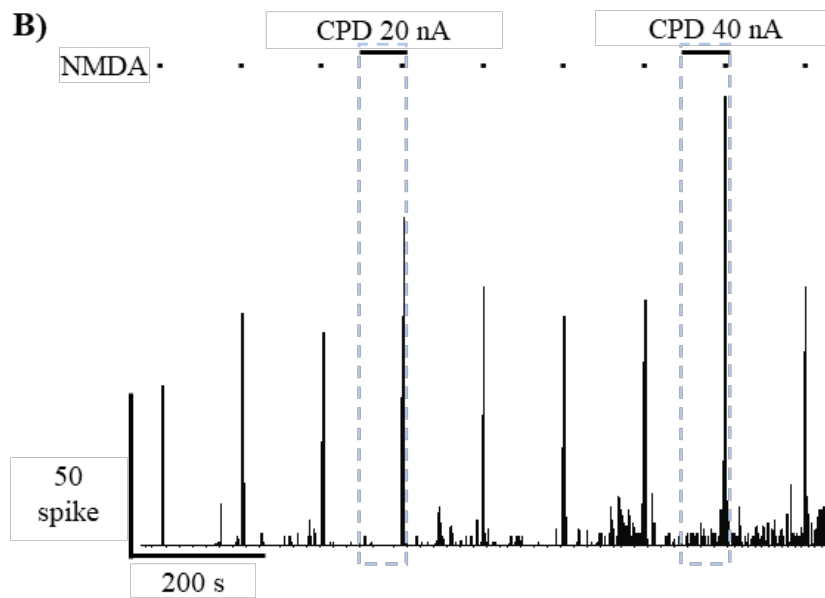
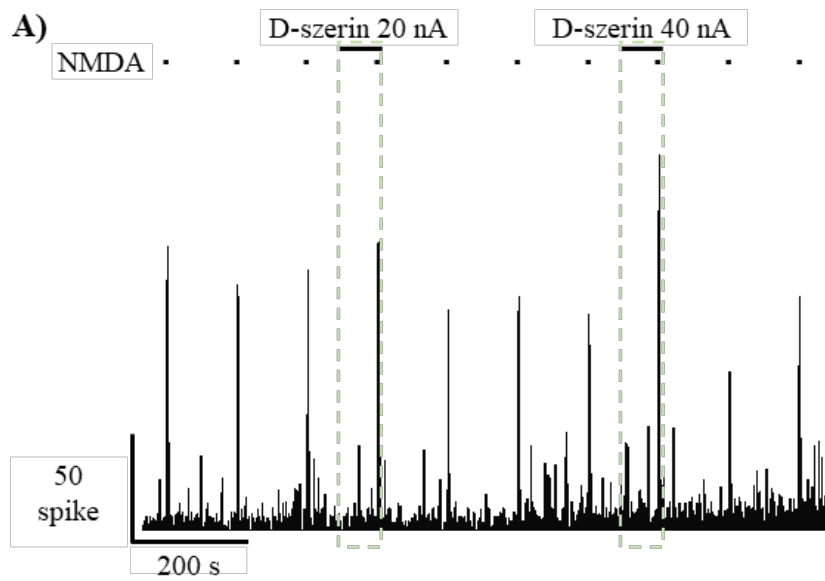
1. sz. melléklet



2. sz. melléklet



3. sz. melléklet



4. sz. melléklet

