

KINURENINEK ELEKTROFIZIOLÓGIAI HATÁSVIZSGÁLATA

Ph.D. értekezés

Rózsa Éva

Témavezető:

Dr. Toldi József

tanszékvezető egyetemi tanár

SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
BIOLÓGIA DOKTORI ISKOLA
TERMÉSZETTUDOMÁNYI ÉS INFORMATIKAI KAR
ÉLETTANI, SZERVEZETTANI ÉS IDEGTUDOMÁNYI TANSZÉK

Szeged

2008

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
3. CÉLKITŰZÉSEK	17
3. 1. <i>A kinurénsav hatása</i>	17
3. 2. <i>Pentiléntetrazol modell és a kinurénsav előkezelés hatása</i>	17
3. 3. <i>L-kinurenin</i>	17
3. 4. <i>SZR-72</i>	17
3. 5. <i>A kinurénsav pozitív neuromodulátoros hatása</i>	18
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	20
4. 1. <i>Kísérleti állatok</i>	20
4. 2. <i>Túlélő agyszelet preparátum</i>	20
4. 3. <i>In vitro elektrofiziológia</i>	21
4. 4. <i>Mezőpotenciálok</i>	22
4. 5. <i>Alkalmazott kémiai anyagok</i>	23
4. 6. <i>Statisztikai analízis</i>	23
5. EREDMÉNYEK	24
5. 1. <i>Kinurénsav</i>	24
5. 2. <i>Pentiléntetrazol</i>	26
5. 3. <i>Kinurénsav + pentiléntetrazol</i>	28
5. 4. <i>L-kinurenin + pentiléntetrazol</i>	29
5. 5. <i>Az N-omega-nitro-L-Arginin (L-NNA)</i>	32
5. 6. <i>A kinurénsav facilitáló hatása</i>	34

5. 8. <i>Az NBQX receptor gátló alkalmazása</i>	36
5. 9. <i>Az SZR-72</i>	38
6. DISZKUSSZIÓ	41
7. KÖVETKEZTETÉSEK	48
8. ÖSSZEFOGLALÓ	49
9. SUMMARY	51
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	53
11. FELHASZNÁLT SZAKIRODALOM JEGYZÉK	54
12. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	61
13. ABSZTRAKTOK	63
MELLÉKLETEK	65

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

aCSF: mesterséges cerebrospinális folyadék

AMPA: alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionsav

CSF: cerebrospinális folyadék

fEPSP: mezőpotenciál

GABA: gamma-amino-vajsav

HPLC: nagy nyomású folyadék kromatográfia

IDO: indolamin-2,3-dioxigenáz

i.p.: intra peritoneális

KAT I: kinurenin aminoszferáz I

KAT II: kinurenin aminoszferáz II

KYN: L-kinurenin

KYNA: kinurénsav

KYNA-NH-GLUC: glükóz-amin kinurénsav

L-NNA: N-omega-nitro-L-Arginin

LTP: long term potentiation

mNBA: (m-nitrobenzoil)-alanin

nAChR: nikotinos acetil-kolin receptor

NAD: nikotinamid-adenin-dinukleotid

NBQX: 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-szulfamoil-benzo[f]quinoxalin-2,3-dion

NMDA: N-metil-D-aszpartát

OGD: oxigén-glükóz depriváció

PTZ: pentiléntetrazol

PROB: probenecid

Ro 61-8048: 3,4-dimetoxi-[N-4-(nitrofenil) tiazol-2il]-benzén-szulfonamid

TDO: triptofán-2,3-dioxigenáz

1. BEVEZETÉS

Az L-triptofán egyike a tíz esszenciális aminosavnak, létfontosságú számos fehérje felépítéséhez. Az L-triptofán a proteinszintézis mellett számos biológiailag aktív anyagcseretermék képződésének kiindulópontja. A kinurenin útvonal képezi a triptofán anyagcsere fő ágát. Ez a metabolikus kaszkád felelős a nikotinamid-adenin-dinukleotid és a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát koenzimek előállításáért. 35 évvel ezelőtt kimutatták, hogy a kinurenin útvonalon keletkező metabolitok neuroaktív tulajdonságokkal rendelkeznek. A kinurenin útvonal központi szerepet betöltő molekulája az L-kinurenin, amely jelen van az emlős vérben, agyszövetben és perifériás szervekben. Az L-kinurenin az asztrocitákban irreverzibilisen transzaminálódik és kinurénsavvá alakul. A kinurénsav a glutamáterg szinapszisok közvetlen közelében felszabadulva hatékonyan befolyásolja ezek működését.

Hirtelen fellépő hipoxia vagy iszkémia következtében a neuronokból és glia sejtekből nagy mennyiségű glutamát szabadul fel. A szinapszisokat elárasztó glutamát ionotróp receptorokat, N-metil-D-aszpartát (NMDA) és alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propionsav (AMPA) receptorokat aktivál, melyek túlműködése az intracelluláris kalcium szintet megemelve, reaktív oxigén gyökök felszabadulásához és sejthalálhoz vezethet. A kinurénsav az első, és az eddigi ismeretek szerint az egyetlen endogén NMDA receptor antagonist. A kinurénsav nem kompetitív NMDA receptor antagonist, mely az NMDA receptorok aktivitásához szükséges koaktivátort, a glicint szorítja le kötőhelyéről. A kinurenin útvonalon fellépő zavarok hatására megváltozik a kinurénsav koncentrációja az idegszövetben. A fiziológiás értékektől eltérő kinurénsav koncentrációk figyelhetők meg különböző neurodegeneratív megbetegedésekben, mint pl. az Alzheimer kór, amyotrophias lateral sclerosis, skizofrénia, sclerosis multiplex vagy az epilepszia esetében.

A kinurenin útvonal abnormalitásának talaján kialakuló neuronális zavarok megelőzésére, kezelésére vagy a traumás agyi sérülések, hipoxia, iszkémia során létrejövő excitotoxicitás kiküszöbölésére az endogén kinurénsav szint szabályozása kínál lehetőséget. A kinurénsav terápiás alkalmazásának határt szab a vegyület poláris struktúrája, mely a vér-agy gáton való átjutását nehezíti. A probléma kiküszöbölésére több megoldás is kínálkozik. Az egyik alternatíva, a kinurénsav helyett az előanyagának, az L-kinureninnek az alkalmazása. Az L-kinurenin könnyedén átjut a vér-agy gáton, és a kinurenin aminotranszferázok

segítségével az asztrocitákban kinurénsavvá alakulva szabadul fel a glutamáterg szinapszisok közelében.

Egy másik alkalmas megközelítés, a kinurenin útvonalon szereplő különböző enzimek működésének befolyásolása enzim inhibitorok alkalmazásával. Az enzim inhibitorok a kinurenin útvonal egyes komponenseinek arányát megváltoztatva, lehetőséget biztosítanak a kinureninek relatív koncentrációjának helyreállítására. A kinurénsav szintjének emelésére a különböző szintetikus kinurénsav analógok nyújthatnak további lehetőséget. A szintetikus származékokkal szembeni alapvető elvárások egyike, hogy az egyes analógok a kinurénsav NMDA receptor blokkoló hatását megőrizték, és a vér-agy gáton sikeresen átjussanak. A kinurénsav alapvázának megtartása mellett, különböző kémiai csoportok csatolásával hatékony származékok állíthatók elő. Egyszerű szubsztitúcióval képzett halogén származékok az 5,7-diklorokinurénsav, és a 7-klorokinurenin. Különböző cukrokkal történő észterifikálás, és tioszubsztituensek alkalmazása szintén hatékony kinurénsav analógok képződéséhez vezet.

Jelen tanulmányban a kinurénsav elektrofiziológiai hatásait vizsgáltuk *in vitro* rendszerben. További kísérletekben a kinurénsav előanyagát, az L-kinurenint alkalmaztuk, és azt vizsgáltuk, hogy az *in vitro* túlélő agyszelet preparátumok milyen mértékben képesek hasznosítani az exogén módon bejuttatott prekuzort. A kinurénsav előanyaga mellett egy szintetikus kinurénsav származékot is megvizsgáltunk, és hatását a kinurénsavéval mértük össze. A kinureninek neuromodulátoros hatásait a pentiléntetrazol modell alkalmazásával vizsgáltuk meg.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A kinurénsavat (KYNA) elsőként a német kémikus, Justus von Liebig azonosította 1853-ban (Liebig, 1853). Fél évszázaddal később Ellinger és Homer felismerte, hogy a kinurénsav a triptofán anyagcsere során keletkező termék (Ellinger, 1904; Homer, 1914). A triptofánnak ezt a metabolikus ágát 1947-ben a kinurenin útvonalnak nevezték el, a keletkező anyagcsere termékeket pedig a kinureninek gyűjtőnévvel illették (Beadle et al., 1947; Heidelberger et al., 1949). A kinurenin útvonalon keletkező metabolitok neuroaktív tulajdonságokkal bírnak (Minatogawa et al., 1974; Moroni, 1999; Wolf, 1974). Az útvonal legtöbb komponense a gliasejtekben, azon belül is az asztrocitákban és a mikrogliaiban lelhető fel (Du et al., 1992).

A kinurenin útvonalon első lépésként felnyílik a triptofán indol gyűrűje és N-formil-kinurenin keletkezik. A reakciót az indolamin-2,3-dioxigenáz (IDO), illetve a perifériás szövetekben, különösen a májban egy specifikusabb enzim, a triptofán 2,3-dioxigenáz (TDO) katalizálja (1. táblázat). Az IDO enzimet elsőként az 1950-es években írták le, mint hemtartalmú fehérje (Hayaishi et al., 1957). Az indolamin dioxigenáz elnevezés arra utal, hogy az IDO enzim fontos szerepet játszik az indolaminok, mint pl. a 5-hidroxi-triptamin, triptamin és a melatonin anyagcseréjében (Hirata and Hayaishi, 1975; Yoshida and Hayaishi, 1987). Amíg a TDO specifikusan lép reakcióba az L-triptofánnal, az IDO enzim az aminok, D-triptofán, L- és D-hidroxi-triptofán indol gyűrűjét is képes felnyitni. Az IDO a legtöbb emlős szervben megtalálható, beleértve a vékonybelet, tüdőt, mellékherét, az endokrin mirigyeket és a központi idegrendszert is (Watanabe et al., 1981). Az IDO enzim jelen van a méhlepényben is, vélhetőleg fontos szerepet játszik az anya és magzat közti immunológiai tolerancia kialakításában (Bonney and Matzinger, 1998; Munn et al., 1998). Immunhisztokémiai módszerekkel kimutatták, hogy a TDO nem csupán a perifériás szervekben, hanem a központi idegrendszerben is jelen van (Guillemin et al., 2007). Megnövekedett IDO enzim aktivitás esetén a TDO expressziója csökken, IDO hiányában pedig megnövekszik a TDO expresszió. A két enzim expressziójának kapcsolata a kinurenin útvonal egyik szabályozó mechanizmusát mutatja.

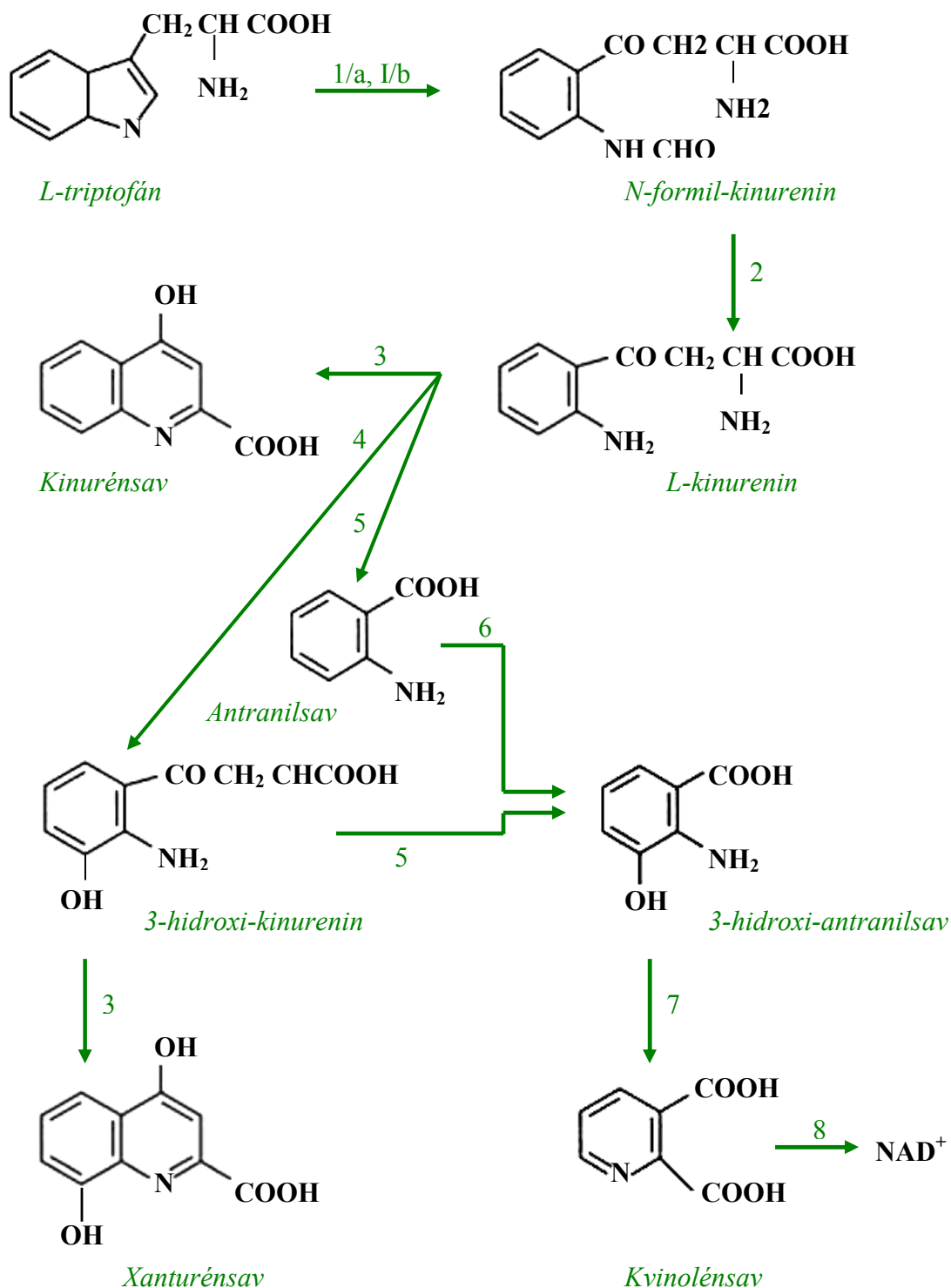
A triptofán indol gyűrűjének felnyílásával keletkező N-formil-kinurenin a továbbiakban a formamidáz enzim segítségével L-kynureninné alakul (Gal and Sherman, 1978; Gal and Sherman, 1980). A formil-kinurenin biológiai aktivitásáról kevés tanulmány

született, mivel az L-kinureninné történő átalakulása gyors folyamat. Az átalakulásért felelős formamidáz enzim valamennyi emlős szervben jelen van (Mehler and Knox, 1950). Az L-kinurenin a kinurenin útvonal kulcsfontosságú terméke, szubsztrátját képezi három különböző enzimnek is (1. ábra). A kinurenináz enzim működése antranilsavon keresztül a kvinolénsav képződéséhez vezet, melyből az anyagcsere folyamat végén a nikotinamid-dinukleotid (NAD⁺) jön létre. L-kinureninből a kinurenin aminotranszferázok (KAT) xanturénsavat, ill. kinurénsavat állítanak elő (Guidetti et al., 1997; Okuno et al., 1991; Schmidt et al., 1993). Az L-kinurenin alacsony koncentrációban jelen van a vérben, az agyszövetben, és perifériás szervekben egyaránt. A vér-agy gáton könnyedén átjut, átlépését a nagy neutrális aminosav transzporterek segítik (Christensen, 1984; Speciale et al., 1989). A cerebrovaszkuláris nagy aminosav transzporterek működése Na-független, és több mint tíz neutrális aminosav cseréjét végzik az agyszövet és plazma között. A transzport affinitása a nagy, neutrális oldalláncokkal rendelkező aminosavakkal szemben a legnagyobb, mint pl. a leucin, triptofán és az L-fenilalanin (Smith et al., 1987). Az L-kinurenin egy α -aminosav, melynek egy szabad karboxil csoportja és egy nem szubsztituált α -amino csoportja van, mely szükséges a hatékony L-rendszer aktivitáshoz (Smith, 1989). Az L-kinurenin az agyszövetbe kerülve, az asztrociták belsejébe lép koncentráció gradiensének megfelelően. A gliális sejtekben irreverzibilisen transzaminálódik és kinurénsavvá alakul (Bender and McCreanor, 1982; Moroni, 1999).

1. táblázat: A kinurenin útvonal komponensei

ENZIM	SZUBSZTRÁT	TERMÉK
Indolamin-2,3-dioxigenáz	Triptofán	Formil-kinurenin
Triptofán-2,3-dioxigenáz	Triptofán	Formil-kinurenin
Kinurenin formamidáz	Formil-kinurenin	L-kinurenin
Kinurenin aminotranszferáz I, II	L-kinurenin 3-hidroxi-kinurenin	Kinurénsav Xanturénsav
Kinurenin-3-hidroxiláz	L-kinurenin	3-hidroxi-kinurenin
Kinurenináz	L-kinurenin 3-hidroxi-kinurenin	Antranilsav 3-hidroxi-antranilsav
3-hidroxi-antranilsav hidroxiláz	Antranilsav	3-hidroxi-antranilsav
3-hidroxi-antranilsav dioxigenáz	3-hidroxi-antranilsav	Kvinolénsav
Kvinolénsav foszforibozil-transzferáz	Kvinolénsav	NAD ⁺

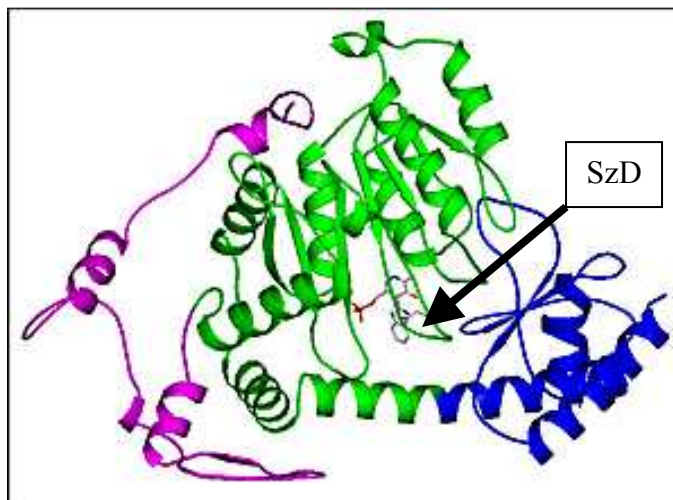
1. ábra
A kinurenin útvonal



1/a: indolamin-2,3-dioxigenáz, 1/b: triptofán-2,3-dioxigenáz, 2: Kinurenin formamidáz, 3: Kinurenin aminotranszferáz I, II, 4: Kinurenin-3-hidroxiláz, 5: Kinurenináz, 6: 3-hidroxi-antranilsav hidroxiláz, 7: 3-hidroxi-antranilsav dioxigenáz, 8: Kvinolénsav foszforibozil-transzferáz.

Patkány és humán agyszövetben egyaránt két különböző enzim felelős a kinurenin-kinurénsav átalakulásért: a KAT I és KAT II (Guidetti et al., 1997; Okuno et al., 1991; Schmidt et al., 1993). Mindkét enzim preferenciálisan glia sejtekben lokalizálható (Ceresoli-Borroni and Schwarcz, 2000), és mindkét típus legnagyobb mennyiségben az asztrociták mitokondriumában található (Du et al., 1992; Okuno et al., 1991). A KAT I - más nevén glutamin transzamináz K - egy szolubilis enzim, mely kosubsztrátként piruvátot hasznosít, és maximális aktivitást 9.5-10-es pH-n mutat (Schmidt et al., 1993). Expressziója születést követően megnövekszik, és maximumát felnőtt korban éri el a patkány agyban (Ceresoli-Borroni and Schwarcz, 2000; Plant et al., 1997). A KAT II az asztrociták citoplazmájában található (Ceresoli-Borroni and Schwarcz, 2000; Okuno et al., 1991), kosubsztrátként oxoglutarátot hasznosít (Guidetti et al., 1997). A KAT II pH optimuma a fiziológiás tartományban van (Schmidt et al., 1993). Farmakológiai ill. léziós modelleken végzett kísérletek egyaránt azt támasztják alá, hogy fiziológiás körülmények között a kinurénsav termelés több, mint 70%-áért a KAT II enzim felelős patkányban (Guidetti et al., 1997). A humán KAT II kristályos szerkezetét 2007-ben írták le (Han et al., 2007), (2. ábra).

2. ábra
A KAT II enzim kristályos szerkezete



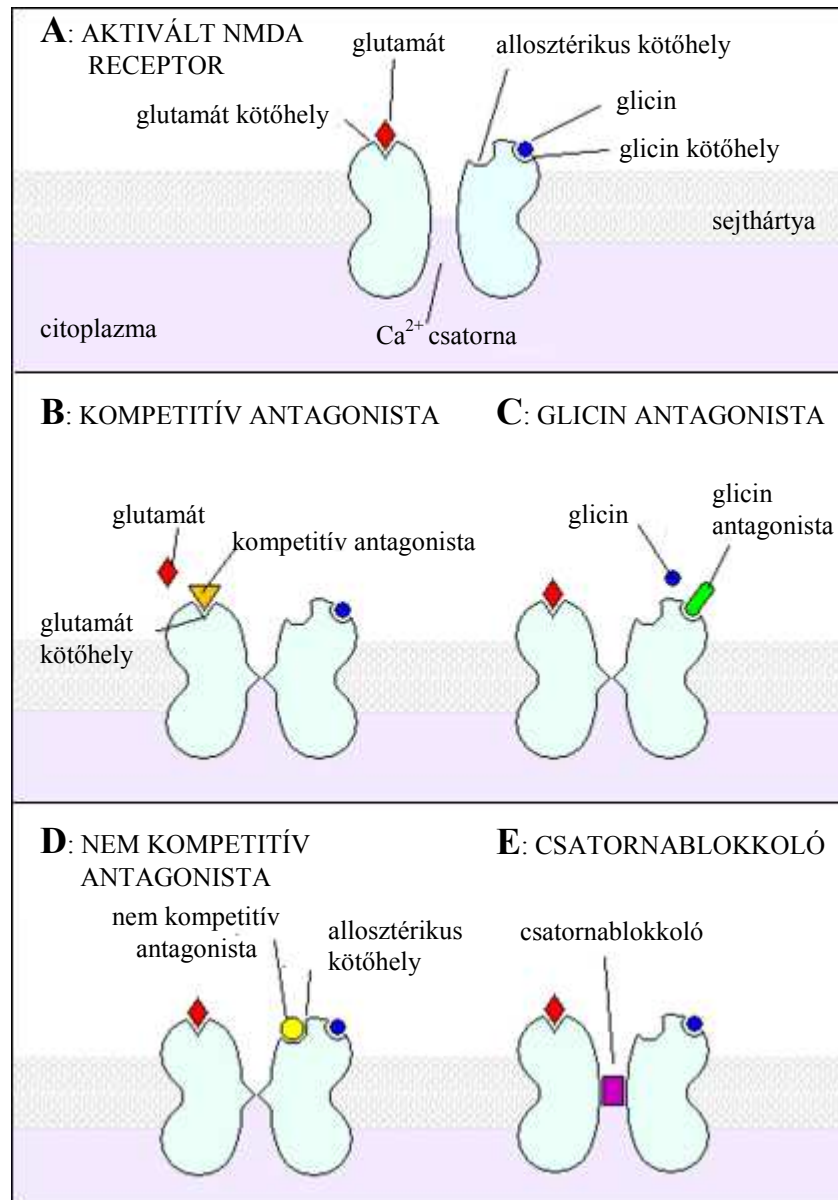
A KAT II enzim végzi a kinurénsav termelés döntő hányadát. A KAT II négy alegységből felépülő homodimer molekula. A szubsztrátkötő helyen sóhid jön létre az L-kinurenin karboxil csoportjával (Han és mtsi, 2007). SzD: szubsztrátkötő domén.

A kinurénsav jelenlétét az emberi agyszövetben az 1980-as években két kutatócsoport egymástól függetlenül mutatta ki. Turski és munkatársai nagy nyomású folyadék kromatográfiás (HPLC) elválasztási technikát alkalmazva mérték a kinurénsav mennyiségét posztmortem humán agyszövet mintákban. A legnagyobb koncentrációt a nucleus caudatusban (1.58 ± 0.43 pmol/mg) találták, ennél alacsonyabb koncentrációt mutattak ki a talamuszban, globus pallidusban, hippocampusban, a parietális és frontális kéregben. A vizsgált agyterületek közül a kisagyban mérték a legalacsonyabb kinurénsav koncentrációt (0.14 ± 0.02 pmol/mg szövet) (Turski et al., 1988). Moroni és munkatársai szintén HPLC technikát alkalmazva, különböző fajok agyszövetének kinurénsav tartalmát hasonlították össze. Egér agyszövetben 5.8 ± 0.9 pmol/g, patkányban 17.8 ± 2.0 pmol/g, tengeri malacban 16.2 ± 1.5 pmol/g, nyúlban 26.8 ± 2.9 pmol/g, míg emberi agyszövetben 150 ± 30 pmol/g mennyiségeket mértek fehérjére vonatkoztatva (Moroni et al., 1988b).

A kinurénsav több különböző receptor típus működését is képes befolyásolni. Széles spektrumú serkentő aminosav receptor antagonist, mely alacsony koncentrációban nem kompetitív NMDA receptor antagonistaként működik. Az NMDA receptorok sztrichninin-szenzitív glicinkötő oldalához képes kötődni (Birch et al., 1988; Kessler et al., 1989; Parsons et al., 1997). A glicin az NMDA receptorokon glutamát koagonistaként funkcionál, és a receptor affinitását növeli az endogén glutamáttal szemben (Laube et al., 1997). A glicinkötő helyek antagonistái az NMDA receptorok működését gátolják (3. ábra). A kinurénsav magasabb koncentrációban kompetitív antagonistaként hat az AMPA és kainát receptorokon is (Bertolino et al., 1989; Kessler et al., 1989; Stone and Connick, 1985). Az AMPA receptorok extracelluláris glutamát kötő oldalához kötődve a kinurénsav gátolja a receptor működését. 2006-ban végzett kutatások kimutatták, hogy a kinurénsav az AMPA receptorokon nemcsak antagonisztikus hatást képes kifejteni, hanem alacsony koncentrációban a deszenzitizáció allosztérikus modulációjával képes facilitálni az AMPA áramokat (Prescott et al., 2006). Mindemellett a kinurénsav az agyi nikotinerger rendszerrel is kapcsolatban áll, és az α -7 nikotinos acetilkolin receptorokat (nAChR) képes blokkolni, hasonló IC_{50} értékkel (millimólos tartományban), mint az NMDA receptorok esetén. Hippocampális sejt kultúrában a kinurénsav gátolja a szomato-dendritikus nAChR-kat. Emellett a preszinaptikus nAChR-kat is képes blokkolni sejt kultúrában és hippocampális agyszövet preparátumban egyaránt (Hilmas et al., 2001). A nikotinos kolinerg rendszer és a kinureninek kapcsolatát mutatja továbbá az is, hogy ismételt szisztémás nikotin kezelés hatására egy átmeneti csökkenés után megnövekszik a kinurénsav koncentráció a patkány agyszövetben. A kinurénsav a glutamát és nACh receptorokon kívül egy G-protein kapcsolt

receptorhoz, a GPR35-höz is kapcsolódhat, mely a továbbiakban a sejtekben található kalcium mobilizálódáshoz, és inozitol-foszfát képződéshez vezet (Wang and Storm, 2005).

3. ábra
NMDA receptor antagonisták



A: Az aktivált NMDA receptor nem szelektív kation csatornaként funkcionál, Na⁺ és Ca²⁺ ionok számára válik átjárhatóvá. **B:** Az NMDA receptorok kompetitív antagonistái a receptor glutamát kötőhelyéhez képesek kapcsolódni, ezáltal a glutamátot leszorítják. **C:** A glicin antagonisták, köztük a kinurénsav, a nem kompetitív NMDA receptor antagonisták egy speciális csoportját alkotják. **D:** A nem kompetitív antagonisták egy másik csoportja az allosztérikus kötőhelyhez kapcsolódva fejt ki hatását. **E:** A csatornablokkolók a nem szelektív kation csatornába illeszkedve megakadályozzák az ionáramlást (Laube és mtsi, 1997).

Neuroanatómiai tanulmányok bizonyították, hogy a kinurénsav termelés helyszíne az asztrocitákban a glutamáterg szinapszisok közvetlen közelében található (Roberts et al., 1995), ezáltal az asztrocitákból felszabaduló kinurénsav magasabb koncentrációt is elérhet a szinaptikus részben, vagy annak közelében. A *de novo* szintetizálódott kinurénsav ezáltal az NMDA receptorok működését hatékonyan képes befolyásolni.

Poláris struktúrájánál fogva a kinurénsav nem képes áthaladni a vér-agy gáton (Fukui et al., 1991). Az agyszövetből történő eliminációjának egyetlen útja a probenecid-érzékeny transzportereken keresztül vezet (Moroni et al., 1988b), egyéb enzimatis degradációs folyamat vagy az extracelluláris térből való újra felvétel nem ismeretes. Az agyszövet kinurénsav koncentrációja a különböző fajoknál eltérő, egérben 6 nM (Moroni et al., 1988b), patkány agyban megközelítőleg 20 nM (Connick et al., 1992), míg ember esetében 1 mM-os értéket mértek (Turski et al., 1988).

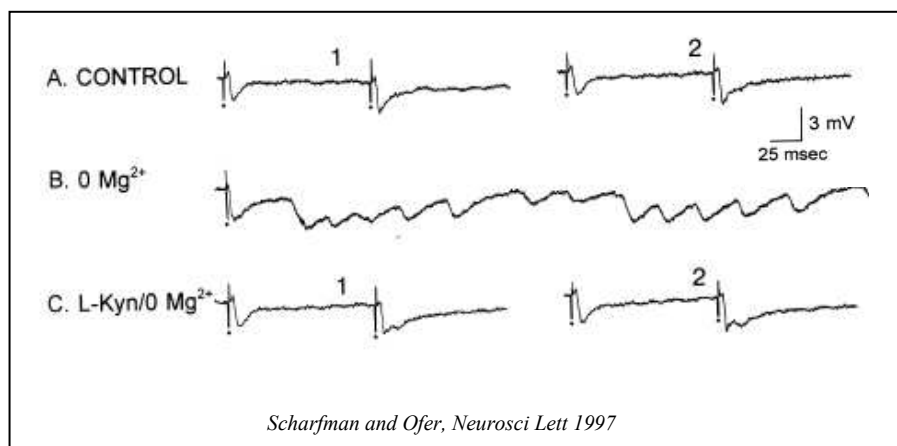
Különböző neurodegeneratív megbetegedésekben a kinurénsav abszolút vagy relatív koncentrációja eltér a fiziológiás értékektől. Csökkent kinurénsav szinteket mértek Huntington kóros betegek striatumában (Beal et al., 1992; Jauch et al., 1995). Ez az elváltozás a cerebrospinális folyadék (CSF) szintjén nem mutatkozik meg Huntington kór esetén (Heyes et al., 1991). Parkinson kórban szenvedő betegeknél a kinurénsav koncentrációja alacsonyabb a fiziológiás szintnél a frontális kéregben és a putamenben (Ogawa et al., 1992), míg a nucleus caudatusban nem tapasztaltak eltéréseket (Beal et al., 1992). A parkinsonos betegek plazmájában mért KAT I, KAT II aktivitás szintén szignifikánsan alacsony (Hartai et al., 2005). Csökkent kinurénsav szintet mértek CSF-ban Alzheimeres betegeknél (Heyes et al., 1991), míg megemelkedett értékeket skizofréniában (Erhardt et al., 2001). Sclerosis multiplexben szintén sérül a kinurenin út, Baran és munkatársai (2000) valamint Rejdak munkatársai (2002) egyaránt csökkent kinurénsav szinteket mértek CSF-ban sclerosis multiplexes betegeknél. A triptofán anyagcsere metabolitjait az epilepsziás megbetegedésekkel is összefüggésbe hozták. Natsume és munkatársai (2003) temporális lebeny epilepsziában szenvedő betegek hippocampusát vizsgálták pozitron emissziós tomográfiával, és az alfa-metil-triptofán hipermetabolizmusát mutatták ki az epilepsziás fókus oldalán. WAG/Rij patkányokon - az absence epilepszia genetikai modelljén - végzett mérések szignifikánsan alacsonyabb kinurénsav szinteket mutattak az állatok frontális kérgében a nem epilepsziás kontrollokéhoz képest (Kaminski et al., 2003). *In vitro* hippocampális agyszeleteken végzett vizsgálatok pedig azt mutatják, hogy a kinurénsav már alacsony koncentrációban is képes csökkenteni a spontán epileptiform kisüléseket null-magnézium modellben (Scharfman and Ofer, 1997). Mindemellett a kinurénsav szintje az

agyszövetben nem csupán az egyes betegségekhez köthetően változik, hanem életkorfüggően, a kor előrehaladtával is megnövekszik koncentrációja (Gramsbergen et al., 1992; Moroni et al., 1988a), ami feltehetőleg az asztrocitákban található KAT enzimek feldúsulásával áll összefüggésben (Gramsbergen et al., 1997).

A kinurénsav antikonvulzáns és neuroprotektív tulajdonságokkal rendelkezik (Foster et al., 1984; Moroni, 1999), mely jellemzők a serkentő aminosav receptorokon kifejtett hatáson keresztül érvényesülnek. A kinurenin útvonalon fellépő zavarok megelőzésére ill. korrigálására számos ponton nyílik lehetőség. Az egyik beavatkozási mód a kinurenin útvonalon szereplő enzimek különböző inhibitorainak alkalmazása, mely a kinurenin metabolitok egyensúlyának visszaállítását célozza. Kinurenin-hidroxiláz inhibitor szisztémás alkalmazása csökkenti a spontán lokomotoros aktivitást, és megnöveli az elektroshock vagy audiogenikusan indukált rohamok küszöbszintjét patkányban (Carpenedo et al., 1994; Chiarugi et al., 1995). A kinurenin-hidroxiláz inhibitorok - (m-nitrobenzoil)-alanin (mNBA) és 3,4-dimethoxy-[N-4-(nitrofenil) tiazol-2il]-benzén-szulfonamid (Ro 61-8048) – neuroprotektív hatást mutatnak oxigén-glükóz-deprivációs (OGD) modellen. OGD-nak kitett organotipikus hippocampális szelet kultúrában ezek az inhibitorok csökkentették a neuronális károsodás mértékét. *In vivo* körülmények között, bilaterális carotis elzárást követően a mNBA és a Ro61-8048 szignifikánsan csökkentette a károsodott piramis sejtek számát a hippocampus CA1-es régiójában (Moroni, 1999).

Egy másik beavatkozási lehetőség a kinurenin útvonal egyensúlyának helyreállítására, a kinurénsav előanyagának, az L-kinureninnek és egyéb szintetikus kinurenin analógoknak az alkalmazása. Az L-kinurenin - ellentétben a kinurénsavval – képes átjutni a vér-agy gáton, szisztémás alkalmazásával könnyedén bejut az agyszövetbe, ahol a glia sejtek felveszik, és kinurénsavvá alakítják. Globális ischemia modellben az L -kinurenin intra peritoneális (i.p.) használata neuroprotektívnek bizonyult patkány agykéregben és hippocampusban (Robotka et al., 2008; Sas et al., 2008). Alkalmazása hatékonyan csökkentette a sérült neuronok számát az agykéregben, elő- ill utókezelés formájában egyaránt. *In vitro* entorhinális-hippocampális agyszelet preparátumokon 1 mM koncentrációjú L-kinurenin perfúzió csökkentette a spontán epileptiform kisüléseket null-magnézium modellben (Scharfman and Ofer, 1997) (4. ábra).

4. ábra
Az L-kinurenin hatása az epileptiform tevékenységre



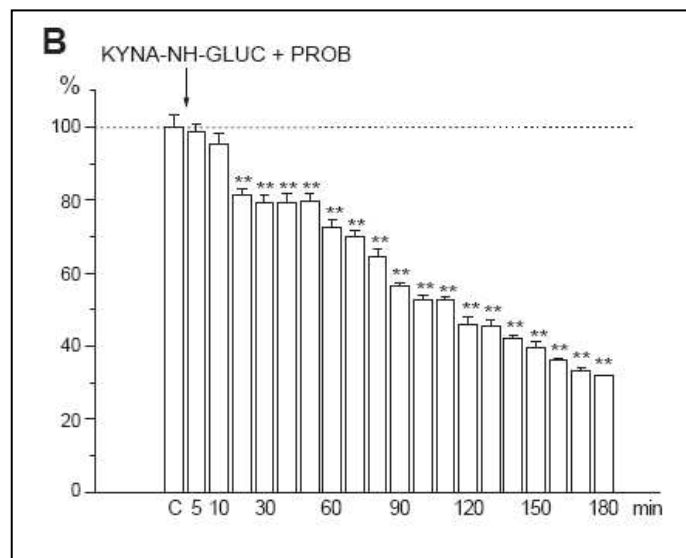
A: A kontroll felvételeken a páros stímulusok alkalmazása nem váltott ki repetitív mezőpotenciálokat. **B:** A null-magnézium modellben már egyetlen stimulus is elegendő a repetitív mezőpotenciálok indukálásához. **C:** Az 1 mM-os L-kinurenin előkezelés megakadályozta a tartós repetitív hullámforma kialakulását, de nem ellensúlyozta teljes mértékben a fokozott excitabilitást (Scharfman et al. 1997).

Az L-kinurenin mesterségesen előállított analógjai a 4-klorokinurenin, az L-4,6-diklorokinurenin és 7-klorokinurenin (Wu et al., 2000). A 4-klorokinurenin a nagy neutrális aminosav transzportereken keresztül lép át a vér-agy gáton, majd az agyszövetben a KAT enzimek által irreverzibilisen transzaminálódik és 7-klorokinurénsavvá alakul. A 7-klorokinurénsav affinitása az NMDA receptor glicinkötő oldalához hetvenszerese az endogén kinurénsavénak (Hokari et al., 1996).

A szintetikus kinurénsav analógok alkalmazása egy további alternatívát jelenthet a kinurenin útvonalon fellépő zavarok normalizálására és az iszkémiás neuron károsodások mérséklésére. Mivel a kinurénsav csak nehezen jut át a vér-agy gáton, a szintetikus származékok előállításakor az elsődleges cél olyan vegyületek szintetizálása, melyek a kinurénsavval összemérhető neuroprotektív hatással rendelkeznek, de a vér-agy gáton hatékony mértékben képesek átjutni. Halogén szubsztitúcióval előállított kinurénsav származékok, melyek NMDA receptor antagonistaként funkcionálnak, a 7-klorokinurénsav, (3H)5,7-diklorokinurénsav, (Guidetti et al., 2000; Mugnaini et al., 1998; Wu et al., 2000). Patkány kortikális agyszelet preparátumokon végzett kísérletekben a 7-klorokinurénsav nem kompetitív NMDA receptor antagonistának bizonyult, 10-100 μM -os koncentrációban szelektíven kötődik az NMDA receptor sztrichnin inszenzitív, glicinkötő oldalához (Kemp et

al., 1988). A szintetikus származékok vér-agy gáton történő átlépését teszi lehetővé az alapvegyületek észterifikálása különböző cukrok csatolása által. A cukor-konjugátumok a glükóz transzportereken keresztül képesek a vér-agy gátat átlépve az agyszövetbe jutni. A 7-klorokinurénsav D-galaktóz és D-glükóz észterei hatékonyan átjutnak vér-agy gáton és neuroprotektív hatást mutatnak az NMDA toxicitással szemben egérben (Battaglia et al., 2000). Hasonló mesterséges származék a glükózamin-kinurénsav (KYNA-NH-GLUC), melyet a Szegedi Tudományegyetem Orvosvegytani Intézetében szintetizáltak. A glükózamin-kinurénsav 17 $\mu\text{M}/\text{kg}$ dózisban i.p. alkalmazva patkányokban, szignifikánsan csökkentette *in vivo* kísérletekben a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett population spike-ok amplitúdóját (5. ábra). Az *in vivo* kísérletek azt mutatják, hogy a glükóz-amin kinurénsav sikeresen átjut a vér-agy gáton, és hatékony NMDA receptor antagonistá.

5. ábra
Glükóz-amin kinurénsav elektrofiziológiai hatása *in vivo* kísérletekben



Az *in vivo* alkalmazott glükóz-amin kinurénsav (KYNA-NH-GLUC), probeneciddel (PROB) együttesen adva, a kezelést követő 15. percben már szignifikáns csökkenést eredményezett a kontrollhoz képest a hippocampus CA1-es régiójából elvezett jelek amplitúdójában (\pm S.D.). ** $p < 0,01$, Oneway ANOVA (Robotka és munkatársai, 2005).

3. CÉLKITŰZÉSEK

3. 1. A kinurénsav hatása

Kísérleteinkben az *in vitro* alkalmazott kinurénsav hatásait a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok változásain követtük nyomon. Vizsgálatainkkal a kinurénsav koncentráció-hatás görbéjét, valamint a különböző koncentrációknál fellépő eltérő hatásokat kívántuk meghatározni.

3. 2. Pentiléntetrazol modell és a kinurénsav előkezelés hatása

Elektrofiziológiai vizsgálatainkkal a pentiléntetrazol hatásait tanulmányoztuk *in vitro* körülmények között patkány agyszeleten. A pentiléntetrazol, mely erős kémiai konvulzáns, a GABA_A receptorok gátlása révén hiperexcitabilitás kialakulását indukálja. A modell kidolgozásával célunk az volt, hogy a kinurénsav neuromodulátoros tulajdonságát vizsgáljuk, konvulzív hatásnak kitett, túlélő hippocampus preparátumokon.

3. 3. L-kinurenin

A pentiléntetrazol modellen vizsgálni kívántuk a kinurénsav előanyagának, az L-kinureninnek viselkedését. Ismeretes, hogy túlélő agyszelet preparátumok is képesek az exogén úton hozzáadott L-kinureninből kinurénsavat szintetizálni (Turski et al., 1989). Kísérleteinkkel azt vizsgáltuk, hogy a pentiléntetrazol modellben a kinurenin-kinurénsav transzformáció hatékony-e a pentiléntetrazol kiváltotta konvulzív hatások ellensúlyozásában.

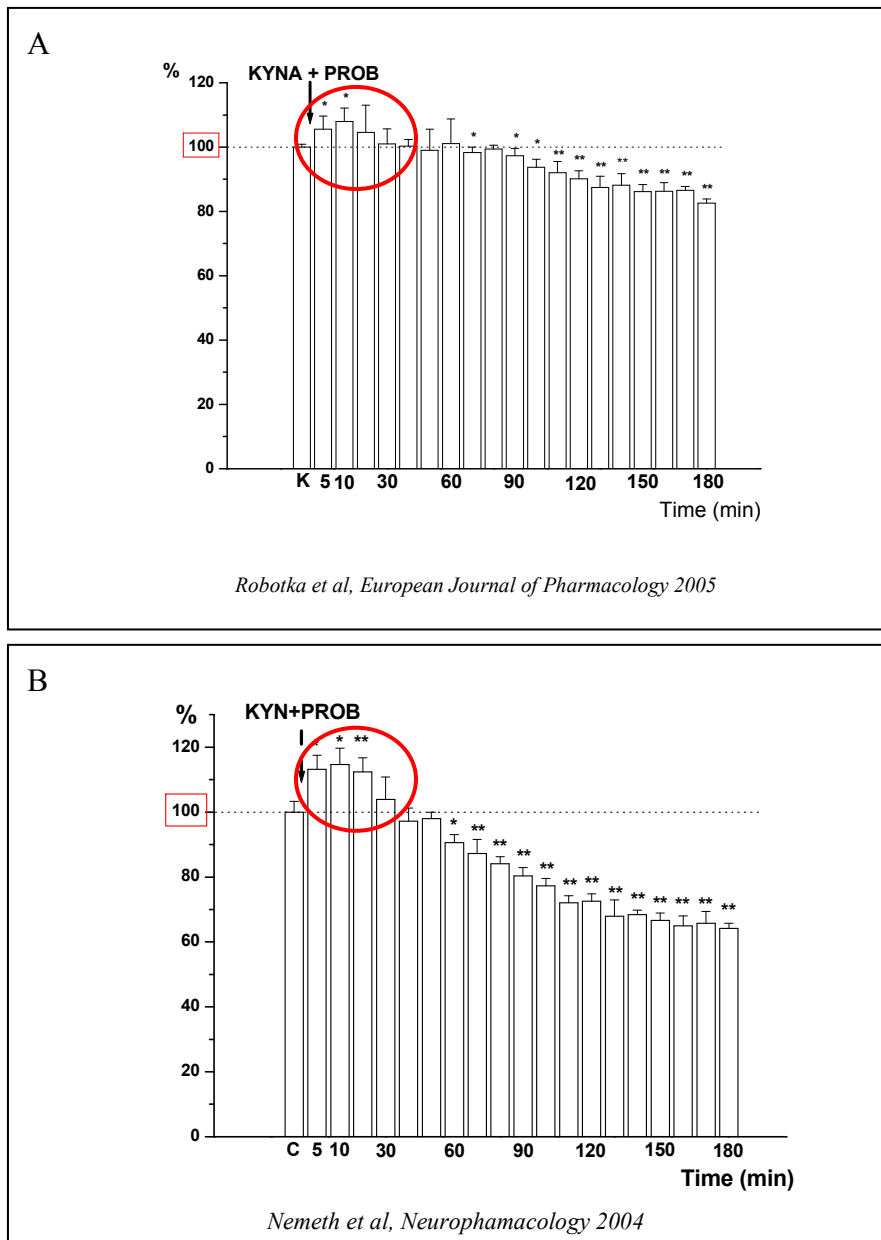
3. 4. SZR-72

Az SZR-72 egy szintetikus kinurénsav származék, melyet a Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézetében állítottak elő. A pentiléntetrazol modellen azt vizsgáltuk, hogy a szintetikus származék képes-e a kinurénsavval összemérhető antikonvulzáns hatást mutatni.

3. 5. A kinurénsav pozitív neuromodulátoros hatása

Tanszékünkön Németh Hajnalka és Robotka Hermina által végzett korábbi *in vivo* elektrofiziológiai kísérletek során észlelt szokatlan eredmények a kinurénsav behatóbb vizsgálatára készítették bennünket (Nemeth et al., 2004; Robotka et al., 2005) (6. ábra).

6. ábra
Az *i.p.* alkalmazott kinurénsav és L-kinurenin hatása



A kinurénsav ill. előanyaga, az L-kinurenin *in vivo* kísérletekben szignifikánsan megemelte a hippocampális population spike-ok amplitúdóját a kontrollhoz képest (átlag \pm S.D.), a beadást követő 15 percen (pirossal kiemelve). A tranziens facilitációt követően az amplitúdó értékek visszatértek a kontroll szintre, majd ~30%-al csökkentek. Oneway ANOVA, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (Nemeth et al., 2004, Robotka et al., 2005).

Az *in vivo* kísérletekben felnőtt Wistar patkányok i.p. kinurénsav + probenecid kezelést kaptak. A probenecid egy anion-transzportgátló szer, mely a szerves savak, köztük a kinurénsav kiürülését akadályozza az agyszövetből. A 300 mg/kg dózisban, i.p. alkalmazott kinurénsav NDMA receptor antagonistá hatását 1,5 órán belül kezdte el kifejteni, a maximális gátló hatás pedig a kezelést követő 2,5 óra múlva érvényesült. A kinurénsav + probenecid i.p. alkalmazását követő első 5-15 percben azonban ellenkező hatás volt megfigyelhető: a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett population spike-ok amplitúdója szignifikánsan megnövekedett (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$). A serkentő hatás 30 perc alatt lecsengett, az amplitúdó értékek a kontroll szintjére tértek vissza, majd 90 perc után megjelent a jól ismert gátló hatás. Az amplitúdó növekedés alapján feltételeztük, hogy a kinurénsavnak egy eddig nem ismert, facilitáló hatása is van. *In vitro* vizsgálataink arra irányultak, hogy hippocampális agyszelet preparátumon a kinurénsav esetleges serkentő hatását kimutassuk, igazoljuk.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4. 1. Kísérleti állatok

Kísérleteinkhez fiatal (3-4 hetes) Wistar patkányokat használtunk (n=93). Az állatokat standard körülmények (hőmérséklet, világítás) között tartottuk. A patkányok csapvizet *ad libitum* kaptak és standard granulált patkánytápot (LATI, Gödöllő) fogyasztottak. A kísérletek során az állatok gondozását és laboratóriumi felhasználását az EU szabványaival összhangban, és a SZTE Etikai Bizottságának jóváhagyásával végeztük.

4. 2. Túlélő agyszelet preparátum

A hippocampus preparálását 2°C-os, csökkentett kalcium tartalmú, emelt magnézium tartalmú mesterséges cerebrospinális folyadékban (továbbiakban aCSF) végeztük (2. táblázat). Az állat dekapitációját követően sagittális metszést ejtettünk a fejbőrön. Ezután átmetsztük a craniális nyakcsigolyák ívét, majd a koponyán egy sagittális és egy, a két orbitát összekötő coronális irányú metszést végeztünk. A koponyatetőt ezen metszések mentén szétnyitottuk, majd a bulbusok mögött és a kisagy előtt ejtett coronális metszésekkel eltávolítottuk az agy hippocampust tartalmazó régióját (7. ábra).

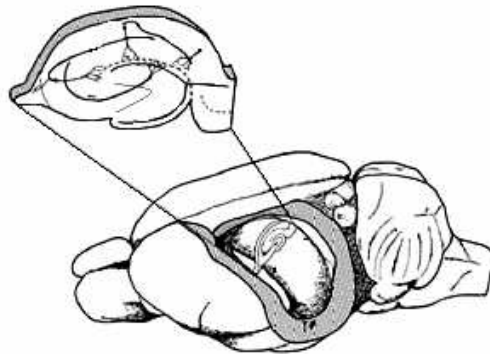
2. táblázat
A mesterséges cerebrospinális folyadékok összetétele

	aCSF metszéshez	aCSF regisztráláshoz
Kémiai alkotó	Koncentráció mmol/l-ben	
NaCl	130	130
KCL	3,5	3,5
NaH ₂ PO ₄	1	1
NaHCO ₃	24	24
(+) D-glükóz	10	10
CaCl ₂	1	3
MgSO ₄	3	1,5

A metszéshez ill. regisztráláshoz használt aCSF összetétele a kalcium és magnézium tartalomban térnek el.

Vibratómmal (Campden Instruments) 400 μm -es hippocampális metszeteket készítettünk, a szeleteket egy órán át inkubáltuk szobahőmérsékletű, karbogénnel oxigenált aCSF-ben. A várakozási idő letelte után az egyes agyszeleteket interface típusú kamrába helyeztük. A kamra hőmérsékelete (34°C), páratartalma állandó volt.

7. ábra
Patkányagy a hippocampust tartalmazó régióval

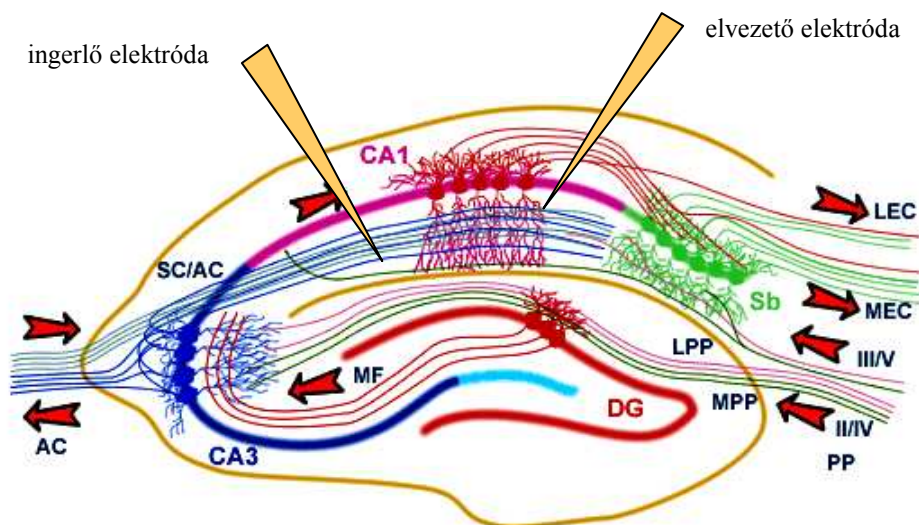


Az elektrofiziológiai kísérletekhez 400 μm vastagágú sagittális hippocampális metszeteket használtunk (Fuster és mtsai, 1995).

4. 3. In vitro elektrofiziológia

Elektrofiziológiai kísérleteink során a hippocampus Schaffer collaterálisait ingereltük (0.2 ms pulzus szélesség, 0.333 Hz), a mezőpotenciálok elvezetése a CA1-es régió stratum radiatumából történt (8. ábra). Az ingerléshez bipoláris ezüst elektródot használtunk, az üveg mikropipettákat ($\sim 1,5 \text{ M}\Omega$) aCSF-el töltöttük fel. A mikroelektródákat high-input-impedancia előerősítőhöz (SEC-LX05, npi, Germany) csatlakoztattuk (erősítés: 100x, szűrés: 1 Hz - 3 kHz). A stimulus intenzitását a félmaximális válasz kiváltásának megfelelően választottuk meg (15-40 μA). A regisztrálás pClamp8 rendszerrel történt 10 kHz mintavételezési frekvencián (Axon Instruments, USA, Digidata 1320 A/D board). Az adatok kiértékeléséhez az OriginPro7.0 (Microcal Software, USA) és az Axoscope 10.1 (Axon Laboratory, Molecular Devices Corporation, USA) programokat használtuk.

8. ábra
Ingerlés, extracelluláris elvezetés sémája

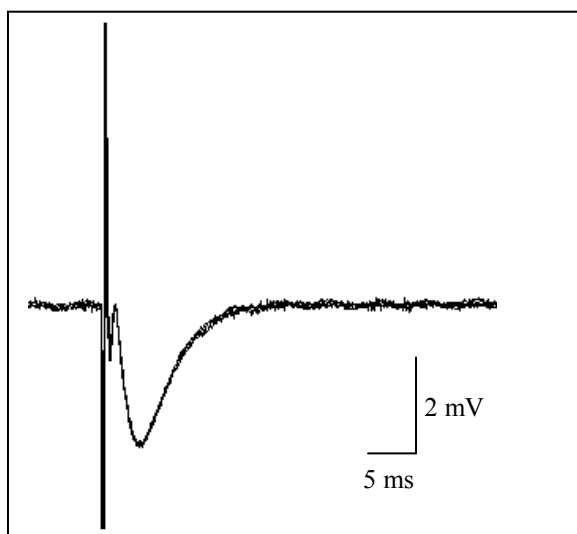


Az *in vitro* extracelluláris elvezetések a CA1-es régió stratum radiátumából történtek. A hippocampus Schaffer kollaterálisainak ingerléséhez bipoláris ingerlő elektródát használtunk (Wang és Storm, 2005).

4. 4. Mezőpotenciálok

Elektrofiziológiai kísérleteink során extracelluláris mezőpotenciálokat vezettünk el a hippocampus CA1-es régiójából (9. ábra). A mezőpotenciálok (fEPSP-k) amplitúdójának változását követtük nyomon az egyes anyaghatások vizsgálata során.

9. ábra
Mezőpotenciál



Az egyes anyagok elektrofiziológiai hatását a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok amplitúdójával mértük.

4. 5. Alkalmazott kémiai anyagok

A kinurénsavat, L-kinurenint, N-omega-nitro-L-arginint, pentiléntetrazolt és az aCSF kémiai alkotóanyagait a Sigma, a 2,3-dihidroxi-6-nitro-7-szulfamoil-benzo[f]quinoxalin-2,3-diont (NBQX) az Ascent Scientific állította elő. Az SZR-72-t a Szegedi Gyógyszerkémiai Intézetben szintetizálták, Fülöp Ferenc professzor úr vezetésével. Az egyes anyagokat aCSF-ben oldottuk fel, és a perfúziós folyadékkal juttattuk az agyszelet preparátumokhoz (standard perfúziós sebesség 1,5 ml/perc).

4. 6. Statisztikai analízis

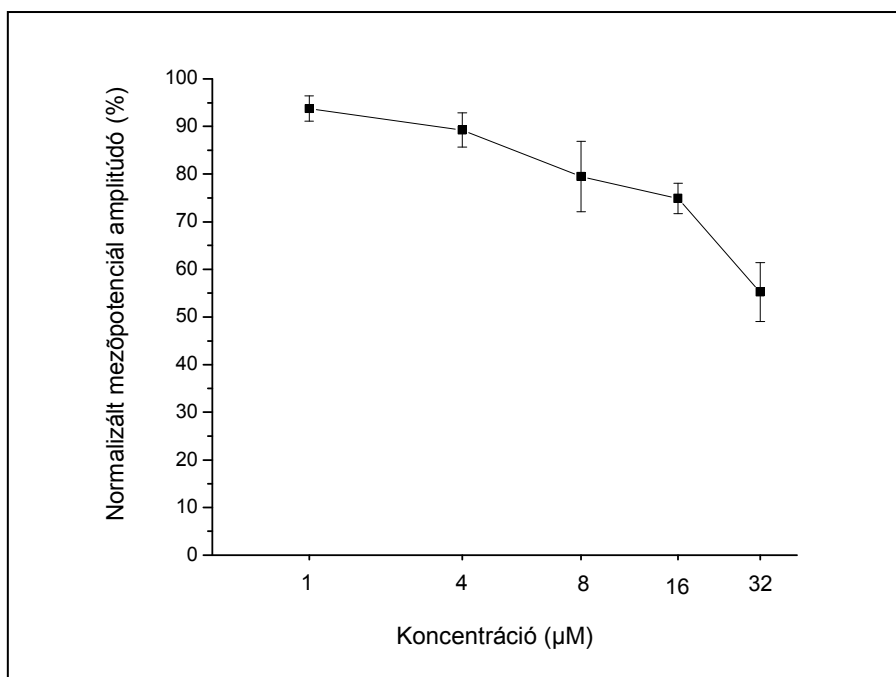
A statisztikai analíziseket SPSS for Windows version 9.0 szoftverrel végeztük. Az egyes eredmények %-ban értendők, a paramétereket átlag \pm S.D.-vel adtuk meg. Az analízisekhez Student-féle t-tesztet és Oneway ANOVA-t használtunk post hoc Bonferroni teszttel. A különbségeket ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ esetén, ill. Student-féle t-teszteknél a * $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

5. EREDMÉNYEK

5. 1. Kinurénsav

Az *in vitro* alkalmazott kinurénsav elektrofiziológiai hatását különböző koncentrációkban vizsgáltuk meg mikromólos tartományban (10. ábra). A későbbiekben használt kinurénsav koncentrációt (16 μM) a koncentráció-hatás görbe alapján választottuk meg. A kinurénsav 32 μM -os koncentrációban a mezőpotenciálok amplitúdóját csaknem a felére csökkentette (55,25 % \pm S.D.) (11. ábra). A kinurénsav alacsonyabb koncentrációkban is mutat NMDA receptor gátló hatást, 4 μM -os kinurénsav koncentráció 10,75 %-os (\pm S.D.) csökkenést váltott ki az amplitúdó értékekben.

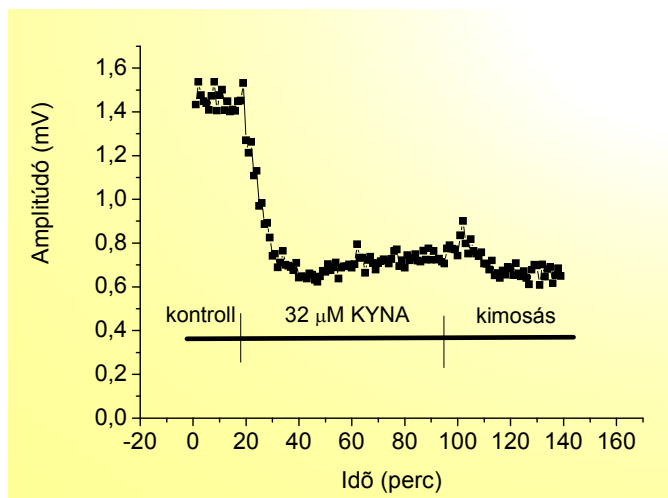
10. ábra
A kinurénsav koncentráció-hatás görbéje



A kinurénsav *in vitro* alkalmazva, mikromólos tartományokban a mezőpotenciálok amplitúdójában csökkenést váltott ki. Az amplitúdó csökkenés 4 μM -os kinurénsav koncentrációtól kezdve vált szignifikánsná a kontrollhoz képest, ** $p < 0,01$ szignifikancia szinten. 8, 16 és 32 μM kinurénsav koncentrációknál a csökkenés *** $p < 0,001$ szignifikancia szintű volt (Oneway ANOVA).

11. ábra

32 μ M-os koncentrációban alkalmazott kinurénsav hatása a mezőpotenciálokra

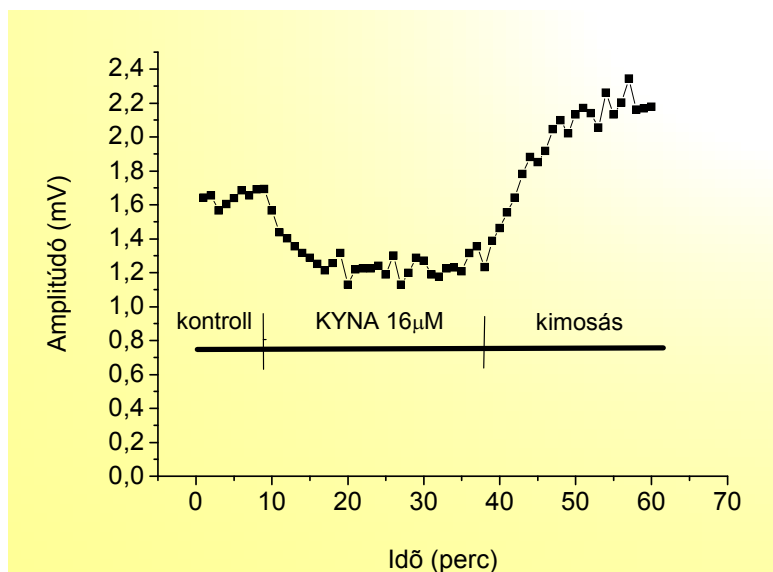


A kinurénsav tartalmú perfúzó az agyszeletekhez érkeve, percekben belül lecsökkentette a mezőpotenciálok amplitúdóját. 32 μ M-os koncentrációjú kinurénsav hatása nem volt visszafordítható 50 perces kimosással sem.

A kinurénsav amplitúdó-csökkentő hatása percekben belül megmutatkozott, a maximális hatás kifejtéséhez 20-30 perc volt szükséges. A kinurénsav kezelést követően a normál aCSF-hez való visszatérés különböző hatással volt a mezőpotenciálok amplitúdó értékeire az eltérő kinurénsav koncentrációkkal történő kísérletek esetén.

12. ábra

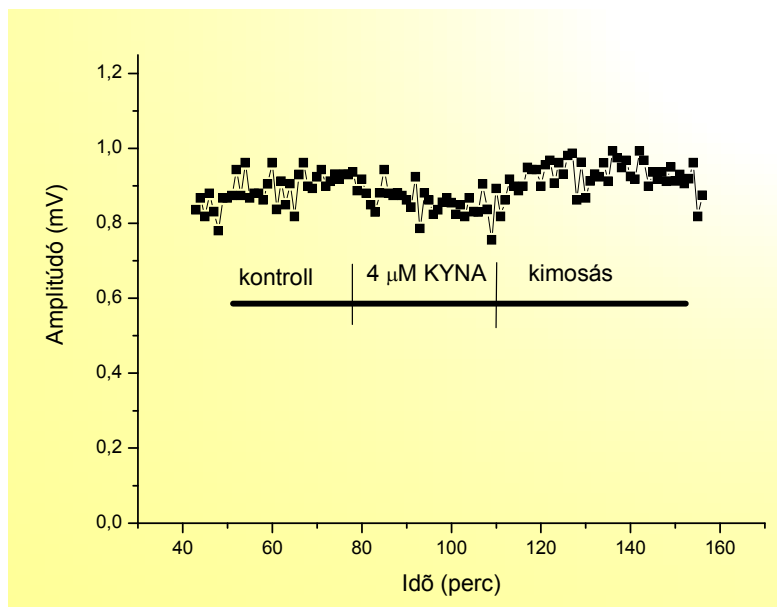
16 μ M-os kinurénsav kezelés elektrofiziológiai hatása



A 16 μ M-os koncentrációban alkalmazott kinurénsav kezelést követő normál perfúzió hatására a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok amplitúdója megnövekedett.

A 32 μM -os koncentrációban alkalmazott kinurénsav kezelést követően a normál perfúzióhoz való visszatérés után sem tért vissza mezőpotenciálok amplitúdója a kontroll értékehez (11. ábra). Ezzel ellentétben az amplitúdók növekedése volt megfigyelhető, ha 16 μM koncentrációjú kezelések után újra normál aCSF-ot áramoltattunk a rendszeren keresztül (12. ábra). Alacsonyabb kinurénsav koncentrációjú (4 μM) kezelések után a normál perfúzióhoz való visszatérés nem okozott ilyen jellegű facilitációt (13. ábra).

13. ábra
4 μM -os koncentrációjú kinurénsav kezelés hatása

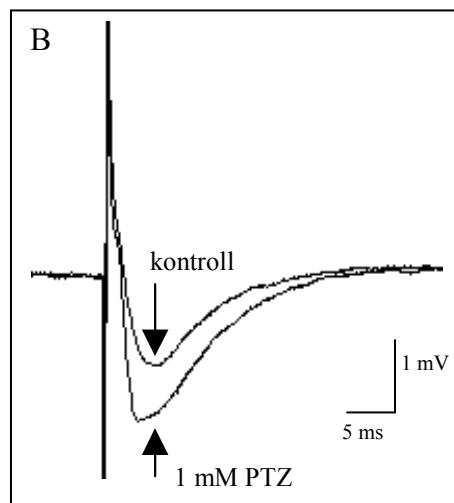
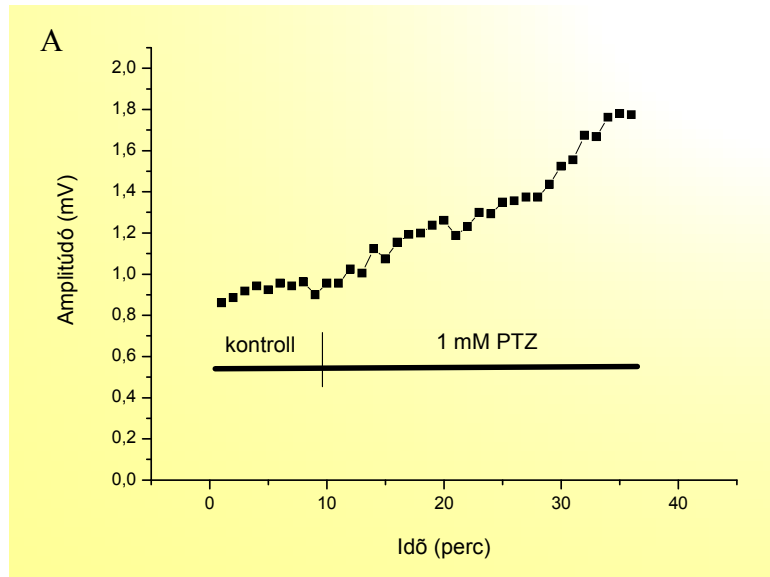


A normál perfúzióhoz való visszatérés nem okozott amplitúdó emelkedést a 4 μM -os kinurénsav kezelést követően.

5. 2. Pentiléntetrazol

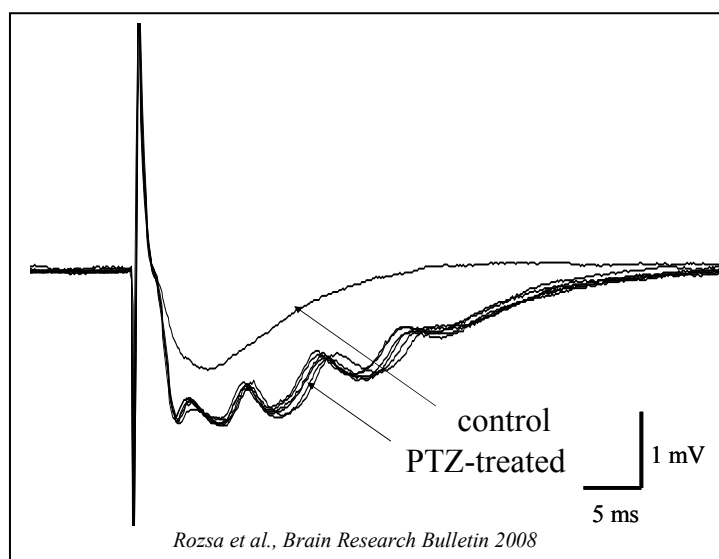
A pentiléntetrazol hatását különböző módszerekkel vizsgáltuk *in vitro* körülmények között. 1 mM-os koncentrációban a perfúziós folyadékkal alkalmazva juttattuk el a hippocampális agyszelet preparátumokhoz. A pentiléntetrazol ebben a koncentrációban drasztikusan megemelte a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok nagyságát (14/A ábra). Az amplitúdó értékek a pentiléntetrazol hatásra percekben belül növekedésnek indultak, a maximumukat fél órával az anyag hozzáadása után érték el. A pentiléntetrazol hatása irreverzibilisnek bizonyult, egy órás mosás után sem normalizálódtak az amplitúdó értékek. A pentiléntetrazol nemcsak megemelte az amplitúdókat, de a mezőpotenciálok latenciáját is lecsökkentette (14/B ábra).

14. ábra
A pentiléntetrazol facilitáló hatása



A: A pentiléntetrazol 1 mM-os koncentrációban a mezőpotenciálok amplitúdó értékét ~96%-al megemelte. B: A facilitáció hatására a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett jelek amplitúdójának növekedése mellett a jelek latenciája is lecsökkent.

15. ábra
Nagy koncentrációjú pentiléntetrazol kezelés konvulzív hatása



A pentiléntetrazol 20 mM-os koncentrációban lokálisan alkalmazva repetitív mezőpotenciálok kialakulását indukálja (Rozsa et al., 2008a).

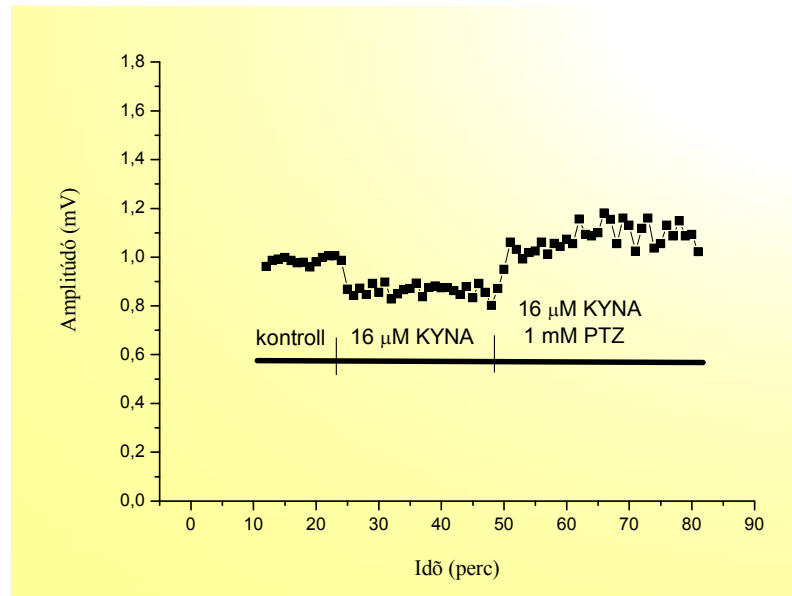
További kísérletekben a pentiléntetrazol koncentrációját húszszorosára emeltük. A pentiléntetrazol ekkora koncentrációban egy perc alatt maximálisra emeli a CA1-es régióból elvezetett mezőpotenciálok amplitúdóját, majd a jel teljes kioltásához vezetett. A pentiléntetrazolt 20 mM-os koncentrációban ezért nem a perfúzióval juttattuk az agyszeletekhez, hanem csak kis térfogatban, csepp formájában (~15 μ l), közvetlenül injektáltuk az agyszeletek felszínére, normál perfúzió mellett. Ennek hatására a mezőpotenciálok amplitúdója azonnal megnövekedett, a latencia és jelszélesség egyre csökkent. Ezt követően a fokozott excitabilitás következtében többszörös hullámforma, ún. repetitív mezőpotenciál alakult ki a konvulzív ágens jelenlétében (15. ábra).

5. 3. Kinurénsav + pentiléntetrazol

Kísérleteinkben megvizsgáltuk a 16 μ M-os kinurénsav előkezelés hatását a pentiléntetrazol modellben. Amennyiben a hippocampális agyszeleteket kinurénsavval preinkubáltuk, és a kinurénsav adagolását a kísérlet teljes hosszában folytattuk, az 1 mM-os pentiléntetrazol perfúzió nem váltott ki drasztikus emelkedést a mezőpotenciálok

amplitúdójában. Az amplitúdók enyhén megemelkedtek ($8,12\% \pm \text{S.D.}$), de a kontroll szint környékén maradtak mindvégig (16. ábra).

16. ábra
Kinurénsav előkezelés hatása a pentiléntetrazol modellben



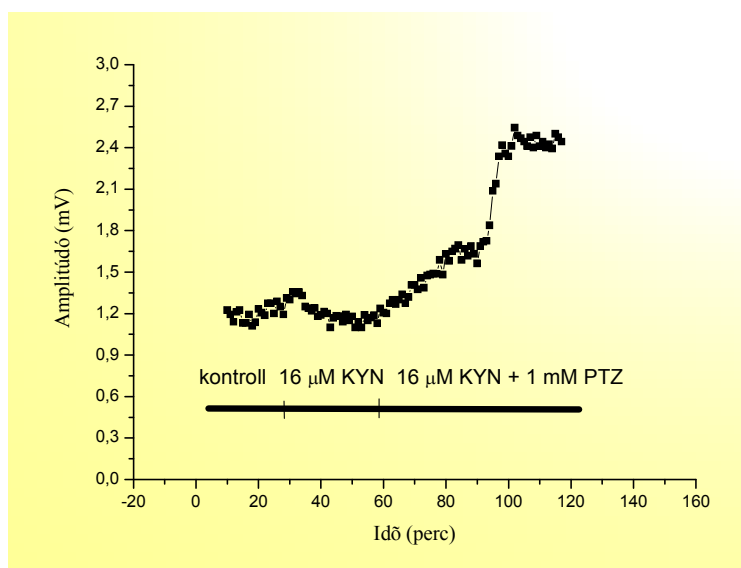
A kinurénsav előkezelést követően az 1 mM koncentrációjú pentiléntetrazol perfúzió nem okozott drasztikus emelkedést a mezőpotenciálok amplitúdójában.

5. 4. L-kinurenin + pentiléntetrazol

Kísérleteinkben a kinurénsav előanyagát, az L-kinurenint $16 \mu\text{M}$ -os koncentrációban alkalmaztuk, 30 perces előkezelés formájában a pentiléntetrazol modellünkben. Az L-kinureninnel történő preinkubáció nem bizonyult hatékonynak a pentiléntetrazol indukálta intenzív facilitáció kivédésében. 1 mM -os koncentrációjú pentiléntetrazol – folyamatos L-kinurenin adagolás mellett - az amplitúdókat csaknem a kontroll kétszeresére növelte ($194,36\% \pm \text{S.D.}$) (17. ábra).

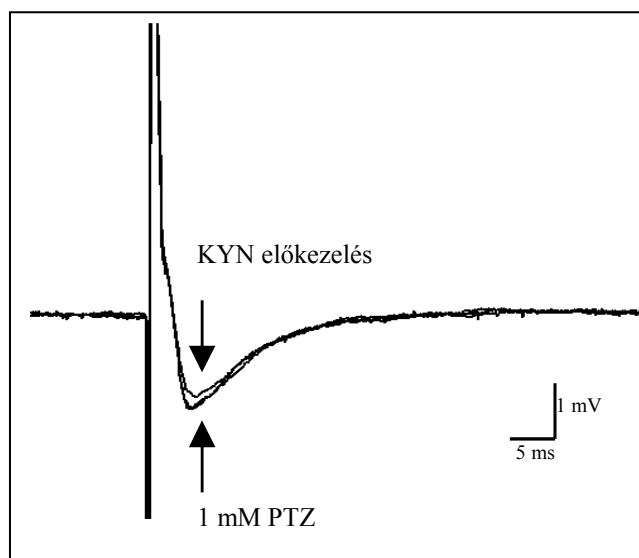
A kísérleteket megismételtük az előbbivel azonos L-kinurenin és pentiléntetrazol koncentrációval, de az eddigiekben alkalmazott standard perfúziós sebességet lecsökkentettük $1,5 \text{ ml/percről } 1,2 \text{ ml/percre}$. Az L-kinurenin előkezelést követő pentiléntetrazolos perfúzió ezúttal nem váltott ki szignifikáns növekedést a hippocampus CA1-es régiójából elvezett mezőpotenciálok amplitúdójában (18., 19. ábra).

17. ábra
Az L-kinurenin előkezelés hatása standard perfúziós sebesség mellett



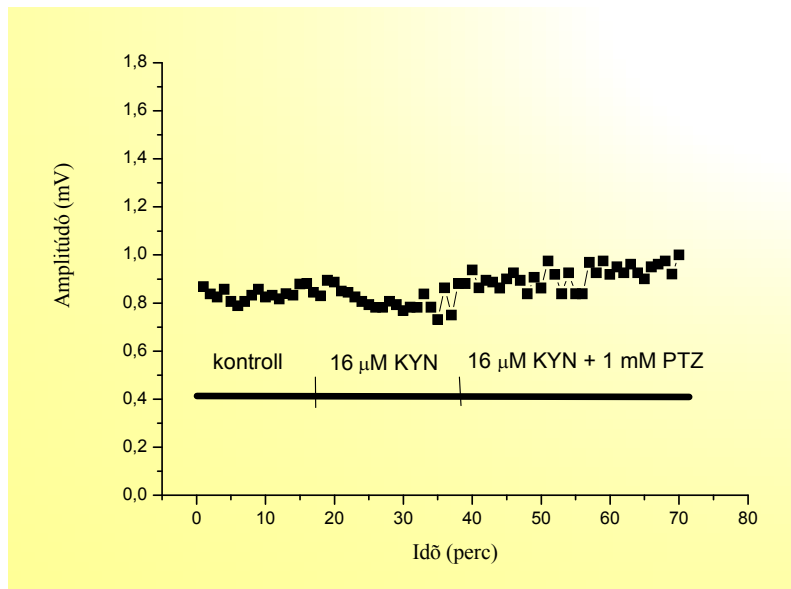
A standard 1,5 ml/perc perfúziós sebességű L-kinurenin perfúzió nem volt képes kivédeni a pentiléntetrazol generálta facilitációt.

18. ábra
Az L-kinurenin előkezelés hatása csökkentett perfúziós sebesség mellett



Az L-kinurenin előkezelés megakadályozta a pentiléntetrazol indukálta hiperexcitabilitás kialakulását csökkentett perfúziós sebesség mellett.

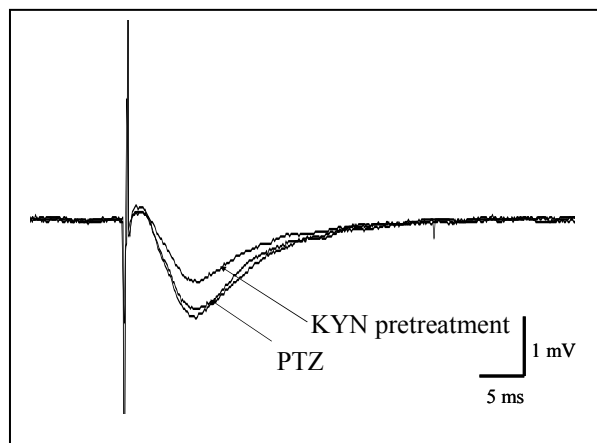
19. ábra
*Az L-kinurenin előkezelés hatása a pentiléntetrazol modellen,
 csökkentett perfúziós sebesség mellett*



1,2 ml/perc perfúziós sebesség mellett az L-kinurenin előkezelés hatékony volt a pentiléntetrazol által kiváltott facilitáció kivédésében.

Az L-kinurenin előkezelés hatását 20 mM-os pentiléntetrazol kezelés esetén is megvizsgáltuk. Az L-kinureninnel történő 30 perces inkubációt követő pentiléntetrazol kezelés megnövelte az amplitúdó értékeket, azonban a mezőpotenciálok latenciája nem csökkent, és repetitív mezőpotenciálok sem alakultak ki (20. ábra).

20. ábra
*Az L-kinurenin előkezelés hatása 20 mM-os
 pentiléntetrazol kezelésre*

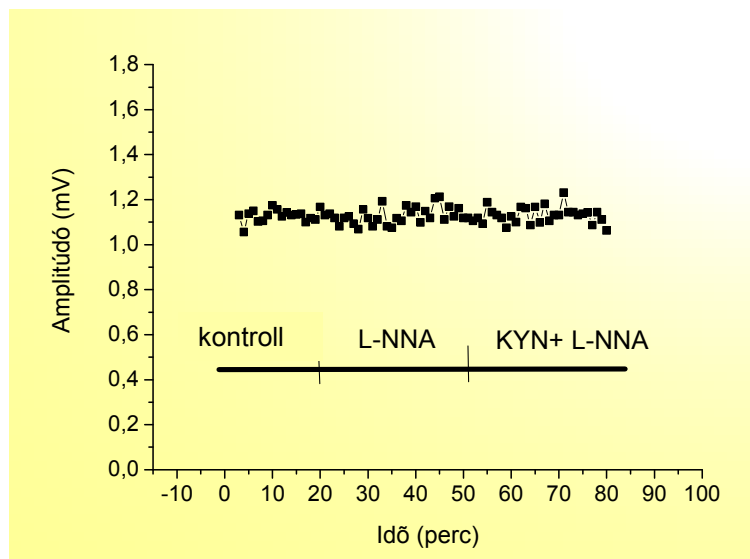


A 20 mM-os pentiléntetrazol kezelés nem váltotta ki repetitív mezőpotenciálok kialakulását, amennyiben az agyszelet preparátumokat L-kinureninnel előkezeltük.

5. 5. Az N-omega-nitro-L-Arginin (L-NNA)

Az L-NNA egy enzim inhibitor, a KAT I és KAT II enzimek működését gátolja, ezáltal megakadályozza az L-kinurenin-kinurensav konverziót. A hippocampális agyszeleteket 30 percen keresztül inkubáltuk 4 mM-os L-NNA perfúzióval.

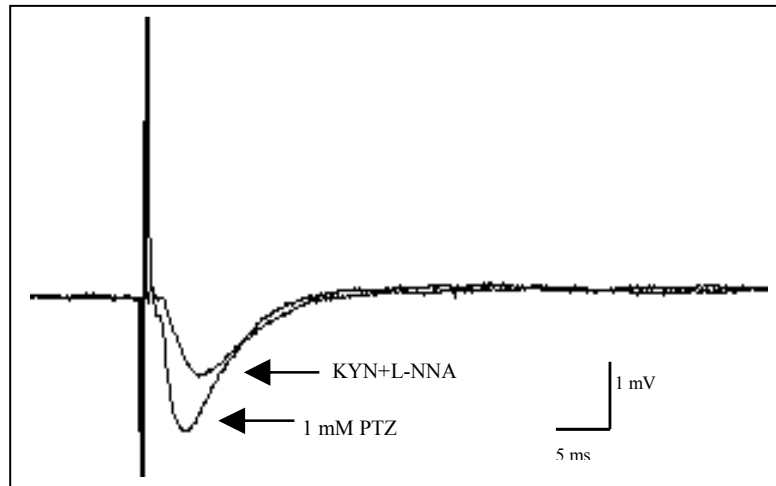
21. ábra
Az L-NNA alkalmazása 4 mM-os koncentrációban



Az L-NNA enzim inhibitor önmagában, ill. L-kinureninnel együttesen alkalmazva, nem idézett elő eltérést a mezőpotenciálok amplitúdójában.

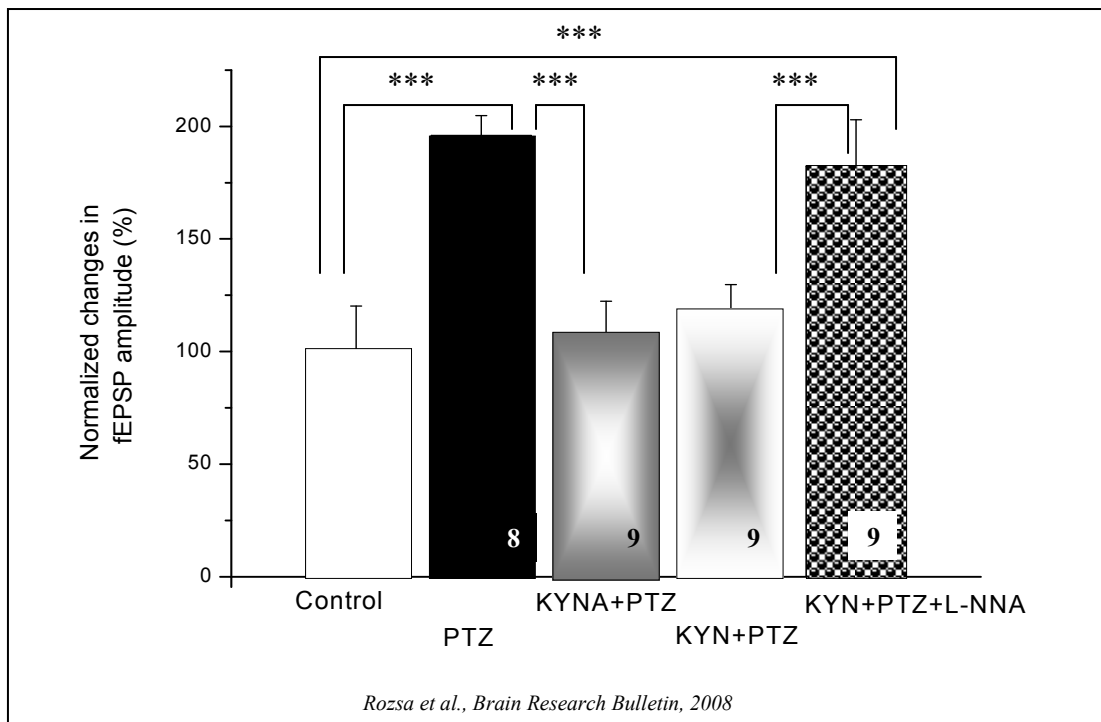
Az L-NNA alkalmazása önmagában nem idézett elő változást a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok szintjén. Az L-NNA + L-kinurenin kombinált kezelés szintén nem okozott elektrofiziológiai eltérést a kontrollhoz képest (21. ábra). Az L-NNA kezelést követő pentiléntetrazol tartamú perfúzió azonban 84.24%-os (\pm S.D.) emelkedést idézett elő az amplitúdó értékekben (23. ábra), és a latenciák is lecsökkentek (22. ábra).

22. ábra
Az L-NNA alkalmazása a pentiléntetrazol modellben



Az L-kinurenin kezelés nem volt képes kivédeni a pentiléntetrazol okozta facilitációt, amennyiben a hippocampális szeleteket az L-NNA enzim gátlóval előkezeltük.

23. ábra
Összefoglaló oszlopdiagram a pentiléntetrazol, kinurénsav, L-kinurenin és az L-NNA hatásáról

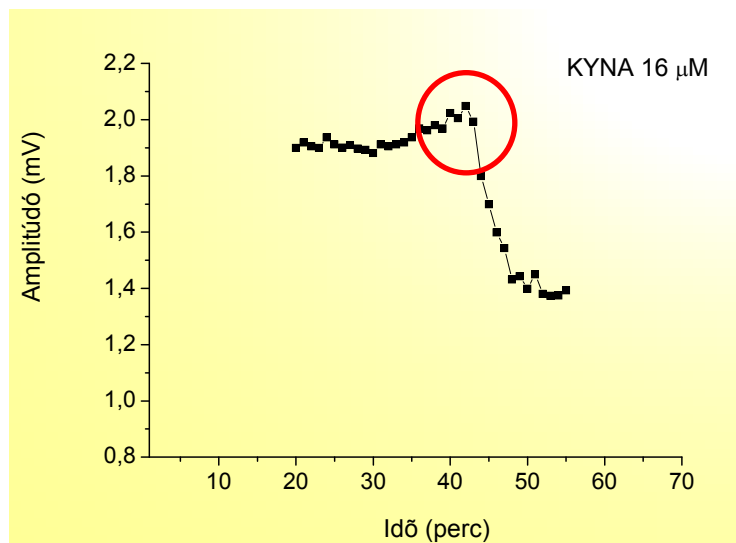


A pentiléntetrazol 1 mM-os koncentrációban a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett jelek amplitúdóját 95,97%-al megemelte (\pm S.D.). A 16 μ M-os koncentrációban alkalmazott kinurénsav és L-kinurenin előkezelés hatékonyan megakadályozta a pentiléntetrazol által generált facilitáció kialakulását. Az L-NNA enzim gátló alkalmazásával az L-kinurenin kezelés elvesztette antikonvulzív hatását a pentiléntetrazol modellben. Az oszlopokon feltüntetett számok az állatszámot jelölik. *** $p < 0,001$ (Oneway ANOVA) (Rozsa et al., 2008a).

5. 6. A kinurénsav facilitáló hatása

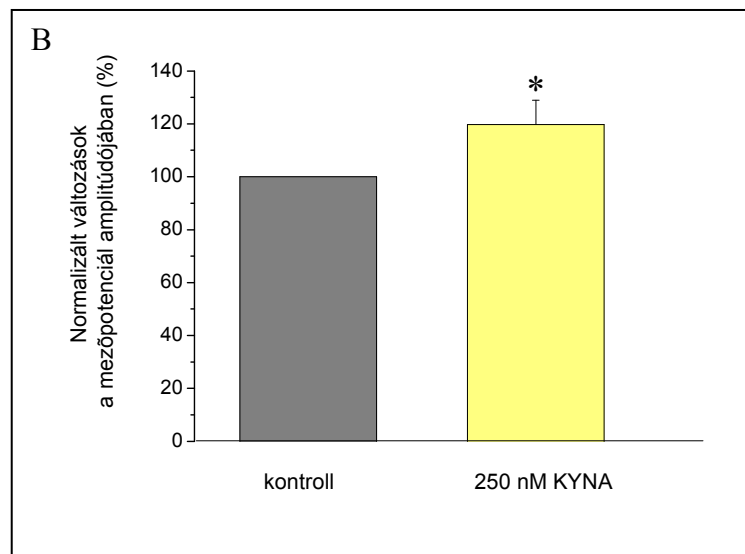
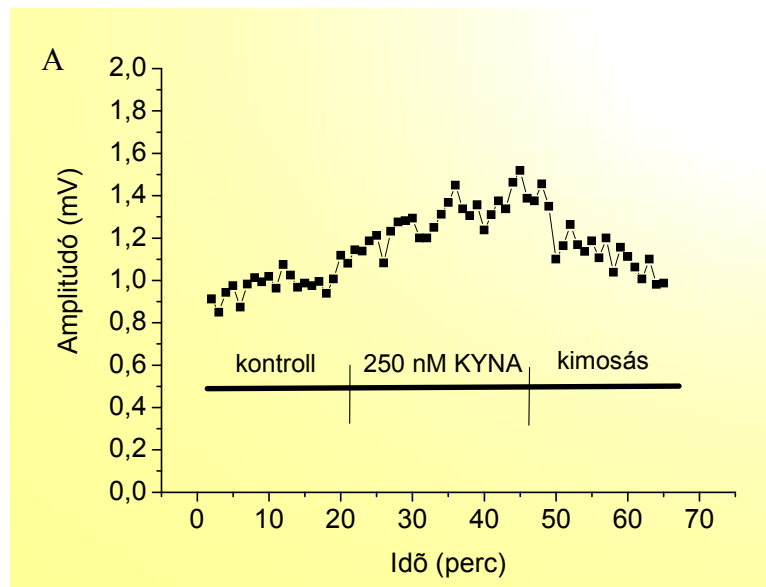
Korábbi *in vivo* elektrofiziológiai kísérletek eredményei (6. ábra) azt sugallták, hogy mielőtt egy kritikus koncentrációt elérne az agyszövetben - vélhetőleg a fiziológias koncentrációhoz közeli tartományban - a kinurénsav nem gátló, hanem épp ellenkezőleg, serkentő hatást fejt ki a hippocampusban. Ezt a feltételezésünket erősítették *in vitro* megfigyeléseink is, amikor a gátló hatást kiváltó kinurénsav perfúziójának kezdetén tranziens, rövid ideig fennálló facilitációt figyeltünk meg (24. ábra). Mindez arra készítetett, hogy megvizsgáljuk, a kinurénsav alacsony, nanomólos koncentrációban milyen elektrofiziológiai változásokat eredményez a hippocampus CA1-es régiójából elvezett mezőpotenciálok amplitúdójában.

24. ábra
A kinurénsav tranziens facilitáló hatása



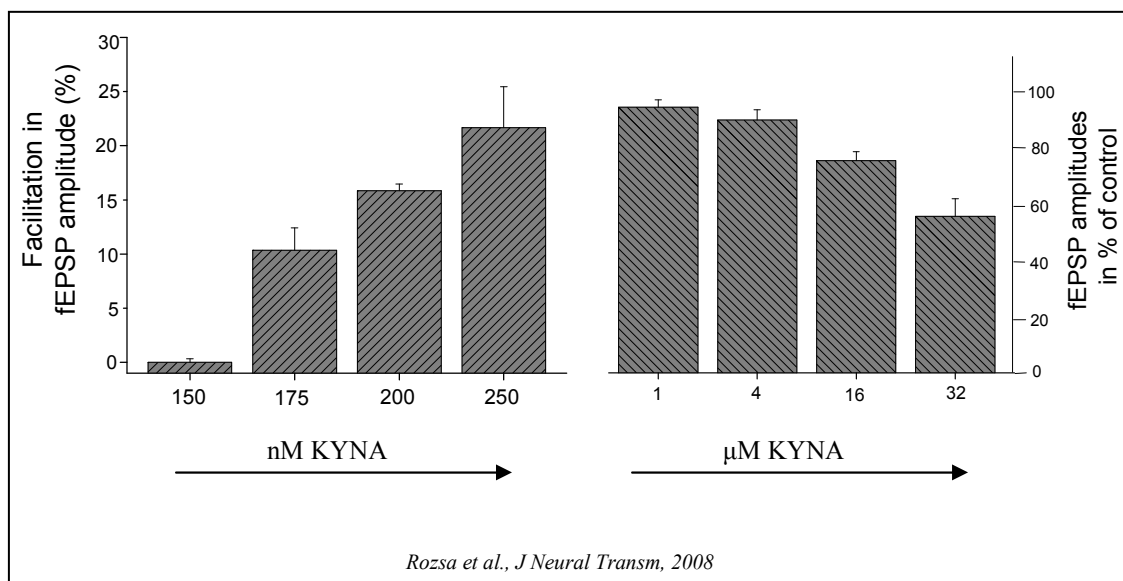
Egyes esetekben, a 16 μM-os koncentrációban alkalmazott kinurénsav átmenetileg megemelte a mezőpotenciálok amplitúdóját.

25. ábra
250 nM-os koncentrációban alkalmazott kinurénsav
elektrofiziológiai hatása



A: A kinurénsav 250 nM-os koncentrációban megemeli a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok amplitúdóját. A facilitáció visszafordítható volt kimosás hatására. **B:** A kinurénsav serkentő hatása szignifikáns növekedést okozott az amplitúdó értékekben * $p < 0,05$ (Students t-test).

26. ábra
A kinurénsav ellentétes hatása nanomólos és mikromólos tartományban



A kinurénsav mikromólos koncentráció értékeken a már jól ismert NMDA receptor antagonist hatás révén a mezőpotenciálok amplitúdóját csökkenti. Nanomólos koncentrációban azonban megjelenik a kinurénsav facilitáló, pozitív neuromodulátoros hatása, mely 250 nM koncentrációnál a legkifejezettebb (Rozsa et al., 2008a).

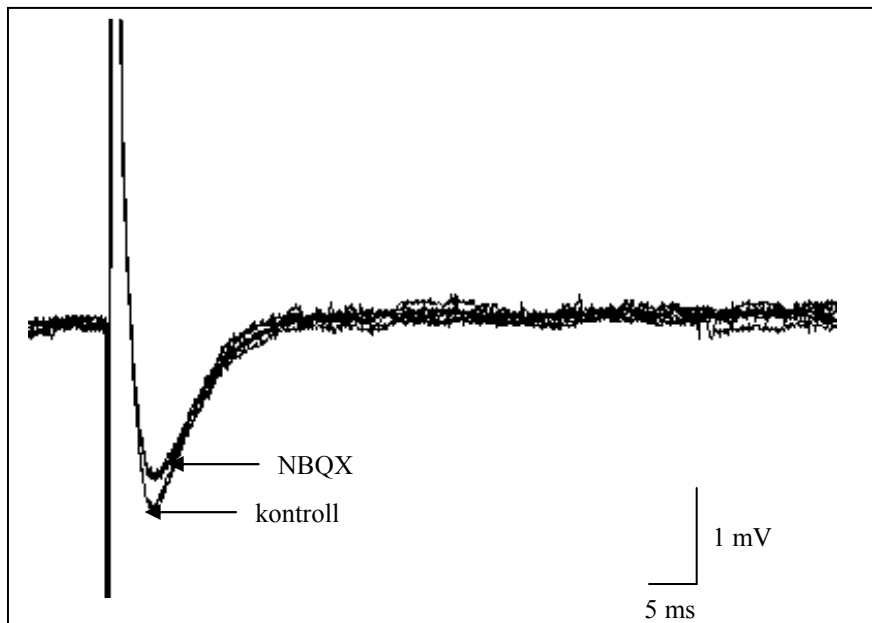
A kinurénsav 250 nM-os koncentrációban fokozatosan emelte a mezőpotenciálok amplitúdóját, maximális hatását 20 perc után fejtette ki (25/A ábra). A kinurénsav a nanomólos tartományban 250 nM-os értéknél mutatott maximális facilitációt (25/B ábra), de 175-200 nM-os értékeken is érvényesült pozitív neuromodulátoros hatása (26. ábra). 150 nM-os koncentrációban a kinurénsav nem váltott ki növekedést az amplitúdó értékekben (26. ábra). A kinurénsav koncentrációtól függően, ellenkező irányban modulálja a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett jelek amplitúdóját: mikromólos koncentrációban csökkenti, nanomólos tartományban pedig megnöveli a mezőpotenciálok nagyságát (26. ábra).

5. 8. Az NBQX receptor gátló alkalmazása

Az NBQX egy szelektív, kompetitív AMPA receptor antagonist. *In vitro* kísérleteinkben 0,5 μM-os koncentrációban alkalmaztuk, a perfúziós folyadékban feloldva. Az NBQX alkalmazásával a mezőpotenciálok AMPA receptor mediálta komponensét iktattuk ki, ami által az amplitúdó értékek 11,03%-os (± S.D) csökkenést mutattak (27. ábra). Az NBQX AMPA receptor gátló hatása 50 perc elteltével vált maximálissá. Az NBQX

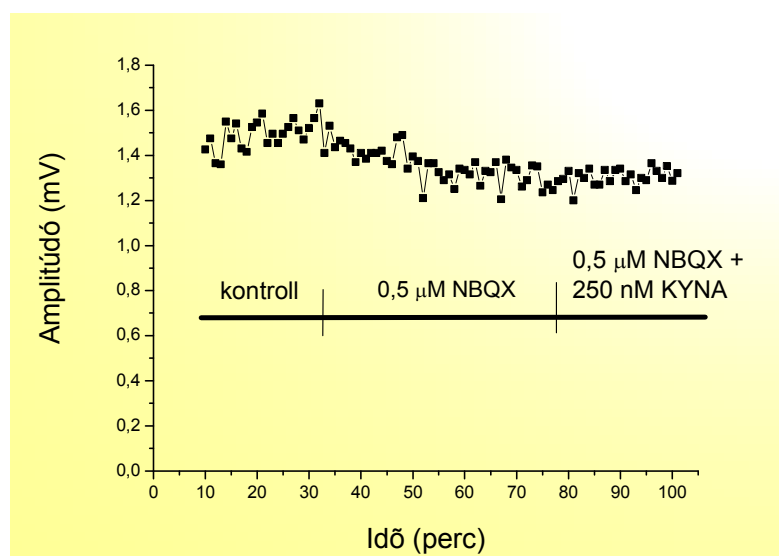
előkezelést követően 0,5 μM NBQX + 250 nM kinurénsav összetételű perfúziót vezettünk az agyszeletekhez. A 250 nM koncentrációjú kinurénsav ezúttal nem emelte meg az amplitúdó értékeit, az amplitúdók nagysága nem változott az NBQX kezelés során mért értékekhez képest (28. ábra).

27. ábra
Az NBQX AMPA receptor gátló hatása



Az NBQX szelektív AMPA receptor gátló 0,5 μM -os koncentrációban alkalmazva, a mezőpotenciálok AMPA receptor közvetítette komponensét iktatja ki.

28. ábra
A 250 nM-os koncentrációjú kinurénsav alkalmazása NBQX előkezelést követően

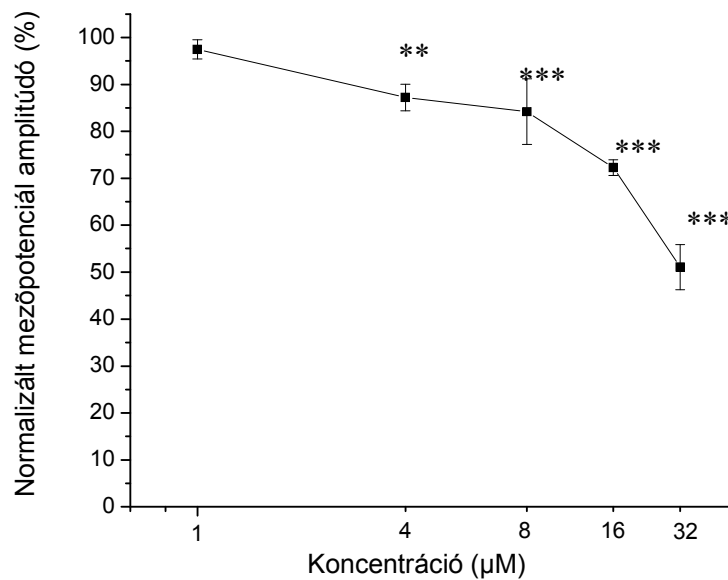


Az NBQX előkezelést követően a 250 nM koncentrációjú kinurénsav nem váltott ki facilitáló hatást a hippocampus CA1-es régiójában.

5. 9. Az SZR-72

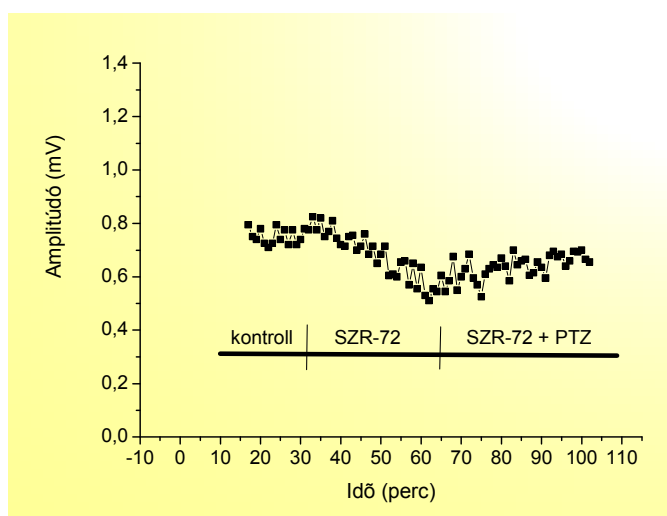
Az SZR-72 egy szintetikus kinurénsav analóg. Hatását szintén a pentiléntetrazol modellen keresztül vizsgáltuk meg. Meghatároztuk az SZR-72 koncentráció-hatás görbét (29. ábra), a további kísérletekben az SZR-72-t a kinurénsavval és L-kinureninnel ekvimolárisan alkalmaztuk a pentiléntetrazol modellben.

29. ábra
Az SZR-72 koncentráció-hatás görbéje



Az SZR-72 *in vitro* alkalmazva, mikromólos tartományokban a mezőpotenciálok amplitúdójában csökkenést váltott ki. Az amplitúdó csökkenés 4 µM-os koncentrációtnál vált szignifikánssá ** $p < 0,01$ szignifikancia szinten. 8, 16 és 32 µM koncentrációknál a csökkenés *** $p < 0,001$ szignifikancia szintű volt (Oneway ANOVA).

30. ábra
Az SZR-72 hatása a pentiléntetrazol modellben

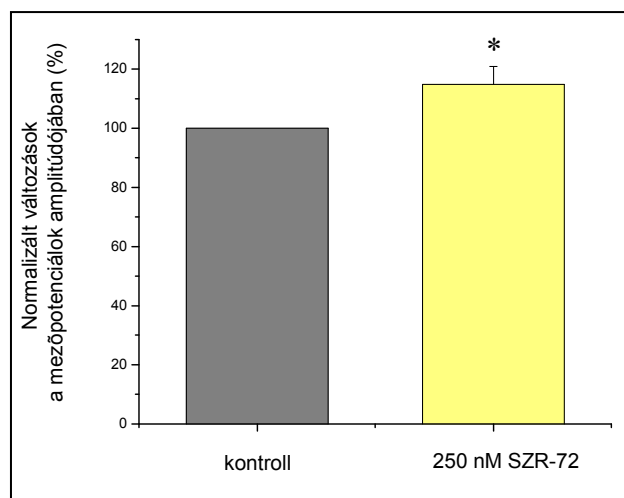


Az SZR-72 16 μ M-os koncentrációban alkalmazva, megakadályozta pentiléntetrazol által okozott fokozott excitabilitás kialakulását.

Az SZR-72-t 16 μ M-os koncentrációban alkalmaztuk a pentiléntetrazol modellben. A pentiléntetrazol kezelést megelőzően 30 percig inkubáltuk a preparátumokat a szintetikus kinurénsav származékkal. Az előkezelés hatékonynak bizonyult a pentiléntetrazol modellben a kóros facilitáció kialakulásának megakadályozásában (30. ábra).

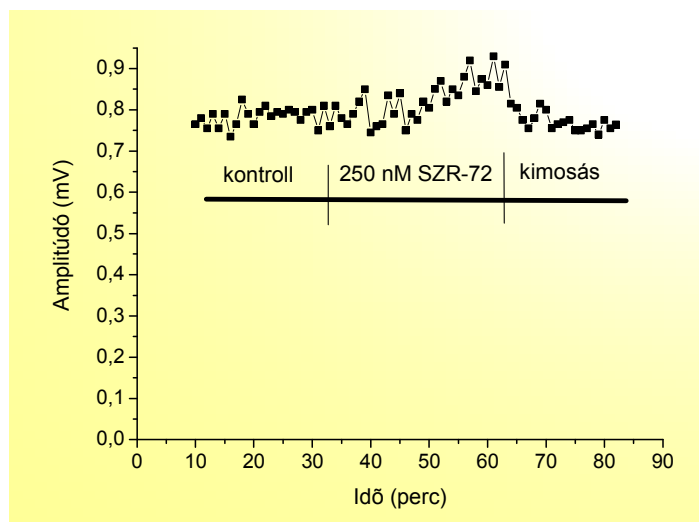
Megvizsgáltuk az SZR-72 elektrofiziológiai hatását azon a nanomólos értéken, amelyen a kinurénsav facilitáló hatást mutatott. Azt tapasztaltuk, hogy 250 nM-os koncentrációban az SZR-72 is rendelkezik pozitív neuromodulátoros hatással, a hippocampus CA1-es régiójában 14,78%-al (\pm S.D) emelte meg a mezőpotenciálok amplitúdóját (31. ábra). A facilitáló hatás visszafordítható volt kontroll aCSF, azaz kimosás hatására (32. ábra).

31. ábra
Az SZR-72 facilitáló hatása



Az SZR-72 250 nM-os koncentrációban alkalmazva, szignifikánsan megnövelte a mezőpotenciálok amplitúdóját a hippocampus CA1-es régiójában * $p < 0,05$ (Students t-Test).

32. ábra
Az SZR-72 elektrofiziológiai hatása 250 nM-os koncentrációban.



Az SZR-72 250 nM-os koncentrációban alkalmazva, emelkedést váltott ki a mezőpotenciálok amplitúdójában. A hatás kimosással visszafordítható volt.

6. DISZKUSSZIÓ

A kinurénsav a triptofán anyagcsere terméke, a Mg^{2+} -on kívül az egyetlen ismert endogén NMDA receptor antagonist. Fiziológiás körülmények között abszolút és relatív koncentrációja állandó. Előanyaga, az L-kinurenin alacsony koncentrációban jelen van a vérben, perifériás szövetekben és az agyszövetben. A kinurénsav a neurobiológia érdeklődéskörébe elsősorban antikonvulzáns és neuroprotektív tulajdonságai révén került. A kinurénsav széles spektrumú serkentő aminosav receptor gátló (Ganong and Cotman, 1986; Ganong et al., 1983; Perkins and Stone, 1985; Stone and Burton, 1988). Mikromólos tartományban megakadályozza az NMDA receptorok túlműködését. Alacsonyabb mikromólos értékeken (8-15 μM) nem kompetitív NMDA receptor antagonistaként funkcionál, a receptor sztrichnin inszenzitív glicinkötő oldalához kötődve. Magasabb mikromólos értékeken (IC 200-500 μM) az NMDA receptorok agonista kötőhelyéhez kapcsolódva is képes antagonist hatást kifejteni (Kessler et al., 1989; Parsons et al., 1997). A kinurénsav millimólos tartományban AMPA és kainát receptorok kompetitív antagonistája (Bertolino et al., 1989; Kessler et al., 1989; Stone and Connick, 1985).

A kinurénsav abszolút vagy relatív koncentrációjának megváltozása összefüggésben áll számos neurodegeneratív megbetegedéssel, mint pl. az Alzheimer kór, Parkinson kór, sclerosis multiplex, skizofrénia vagy az epilepszia (Baran et al., 1999; Carpenedo et al., 1994; Erhardt et al., 2007; Guillemin and Brew, 2002; Ogawa et al., 1992). A kinurénsav terápiás alkalmazásának azonban határt szab a vér-agy gát, melyen a vegyület a poláris struktúrájánál fogva csak limitált mértékben jut át (Fukui et al., 1991). A kinureninekkel kapcsolatos neurobiológiai kutatások ezért elsősorban a kinurénsav előanyagának, ill. különböző szintetikus kinurénsav származékok vizsgálatára irányulnak (Gigler et al., 2007; Knyihar-Csillik et al., 2007; Nemeth et al., 2005; Robotka et al., 2005; Robotka et al., 2008; Rozsa et al., 2008a; Wu et al., 2005). A kinurénsav előanyaga, az L-kinurenin könnyedén átjut a vér-agy gáton, a szintetikus kinurénsav analógok pedig olyan kémiai csoportokat tartalmaznak, melyek a kinurénsav hidrofobicitását növelik, és ezáltal a vegyület vér-agy gáton való átlépését könnyítik (Battaglia et al., 2000; Stone, 2001).

Ismeretes, hogy az L-kinurenin-kinurénsav enzimatis konverzió végbemegy *in vitro* körülmények között is (Scharfman and Ofer, 1997; Turski et al., 1989). A túlélő agyszelet

preparátumok az exogén kinurénsav prekuzort képesek kinurénsavvá konvertálni az asztrocitákban található aminoszferázok segítségével. Kísérleteinkben patkány agyszelet preparátumokon dolgoztunk, és a kinureninek elektrofiziológiai hatását tanulmányoztuk. Vizsgálati objektumnak a hippocampust választottuk, mivel a hippocampus principális neuronjai jól karakterizált glutamáterg bemenettel rendelkeznek (Storm-Mathisen and Ottersen, 1988), valamint a központi idegrendszerben itt találunk legnagyobb sűrűségben NMDA receptorokat (Kleckner and Dingledine, 1989; McDonald et al., 1990; Minota et al., 1989). Extracelluláris elvezetéseink során a Schaffer kollaterálisokat ingerelve, a hippocampus CA1-es régiójából regisztráltunk mezőpotenciálokat. Az elvezető elektródákat a stratum radiatumba pozícionáltuk.

Kísérleteink eredményei azt mutatják, hogy fiatal állatokban a kinurénsav alacsony mikromólos tartományokban is képes befolyásolni a glutamáterg transzmissziót. 32 μM -os koncentrációban alkalmazva, jelentősen csökkenti a szinaptikus áttevődést, a hippocampus CA1-es régiójában a kinurénsav 45,75%-al (\pm S.D.) csökkentette a mezőpotenciálok amplitúdóját. A kinurénsav alacsonyabb mikromólos értékeken, 4 μM -os koncentrációban is szignifikánsan csökkenti az amplitúdókat. Hatása rendkívül gyorsan érvényesül, a kinurénsav tartalmú perfúzió a szeletekhez érkeve már 10 perc után kifejti maximális hatását. A kinurénsav antikonvulzáns tulajdonságát a pentiléntetrazol modellen keresztül vizsgáltuk meg. A pentiléntetrazol egy kémiai konvulzáns, melyet gyakran használnak rohamtevékenységek vizsgálatában (Andre et al., 1998; Erakovic et al., 2001; Meilleur et al., 2003; Nassiri-Asl et al., 2008). A pentiléntetrazol konvulzív hatását a GABA_A receptorokon keresztül fejt ki. A pentiléntetrazol a GABA_A receptorok pikrotoxinkötő oldalához kapcsolódva allosztérikus antagonistaként funkcionál és felfüggeszti a GABA inhibitoros hatását (Macdonald and Barker, 1978; Ramanjaneyulu and Ticku, 1984; Squires et al., 1984). Emellett a pentiléntetrazol interakcióba lép a GABA_A receptorok klorid csatornájával is (Huang et al., 2001), valamint megnöveli az axonok kálium permeabilitását és ezáltal lecsökkenti az akciós potenciálok közötti időintervallumot (Bahremand et al., 2008). Erős konvulzív hatást fejt ki, mely excitotoxicitás kialakulásához is vezethet. Kísérleteinkben a pentiléntetrazolt *in vitro* rendszerben alkalmaztuk a perfúziós folyadékon keresztül. A pentiléntetrazol nagyfokú excitabilitást váltott ki a hippocampus CA1-es régiójában, a mezőpotenciálok amplitúdóját csaknem kétszeresére emelve. A pentiléntetrazolt húszezros koncentrációban, lokálisan alkalmazva, a hiperexcitabilitás által repetitív mezőpotenciálok kialakulását indukálta. 30 perces kinurénsav előkezelés képes volt kivédeni ezt a kóros facilitációt (Rozsa et al., 2008a). Korábbi *in vivo* kísérletekben 60 mg/kg i.p. pentiléntetrazol

kezelés súlyos epilepsziás rohamokat váltott ki az állatokban (Nemeth et al., 2004). Az L-kinurenin szisztémás alkalmazása (300 mg/kg) megóvta az állatokat az epilepsziás rohamok kialakulásától és a pusztulástól. Az L-kinurenin injekciók mellett az állatok probenecidet kaptak 200 mg/kg dózisban. A probenecid gátolja a szerves savak kiürülését az agyszövetből, ezáltal megnöveli a kinurénsav szintjét a központ idegrendszerben. A kezelések eredményessége azt mutatja, hogy a szisztémásan adagolt L-kinurenin átlépett a vér-agy gáton, és az asztrocitákban kinurénsavvá alakulva felszabadult az idegszövetben. *In vitro* kísérletek alátámasztják, hogy az L-kinurenin-kinurénsav konverzió agyszelet preparátumokban is végbemegy (Turski et al., 1989). Hippocampális agyszelet preparátumokon megvizsgáltuk, hogy az exogén L-kinurenint milyen hatékonysággal képes az agyszövet *in vitro* körülmények között kinurénsavvá alakítani. A kinurénsavval ekvimolárisan alkalmazva, az L-kinurenin előkezelés nem volt képes megakadályozni a pentiléntetrazol okozta fokozott excitabilitás kialakulását. A kinurenin kezelés sikertelensége azt jelezte, hogy kísérletünkben nem, vagy nem megfelelő mennyiségben képződött a kinurénsav az előanyagából. Több kísérleti paraméter módosítása is felmerült (preinkubációs idő megnövelése, L-kinurenin koncentrációjának megemlése, hőmérséklet változtatása), de elsőként a perfúzió sebességének megváltoztatását alkalmaztuk. A standard perfúziós sebességet lecsökkentve, a megismételt kísérletek eredményei arról tanúskodnak, hogy a csökkentett áramlási sebesség lehetővé teszi a kinurenin-kinurénsav átalakulást, és biztosítja, hogy a *de novo* szintetizálódó kinurénsav ne távozzon a perfundátummal, s ezáltal megfelelő koncentrációt érjen el a preparátumokban. Eredményeink összhangban vannak Scharfman és munkatársainak megfigyeléseivel, miszerint a kinurénsav és az L-kinurenin preinkubáció is hatékony a null-magnézium modellben a spontán epileptiform tevékenységek kivédésében (Scharfman et al., 1999). Scharfmanék 200 μ M-os koncentrációban alkalmazták az L-kinurenint, felnőtt patkány hippocampális agyszeleteken. Az általunk végzett kísérletekben fiatal Wistar patkányok agyszeletein vizsgáltuk az L-kinurenin hatását, pentiléntetrazol modellen keresztül. Az L-kinurenin fiatal állatok esetén 16 μ M-os koncentrációban is hatékonyan bizonyult a fokozott excitabilitás kivédésében.

A kinurénsav szintézisét a KAT enzimek katalizálják (Guidetti et al., 1997; Okuno et al., 1991; Schmidt et al., 1993). Az L-NNA egy enzim inhibitor, mely a KAT enzimeket gátolva, az L-kinurenin transzaminációját akadályozza (Luchowski et al., 2001). Kísérleteinkben az L-NNA-t alkalmaztuk, hogy bizonyítsuk, *in vitro* rendszerünkben az L-kinurenin kinurénsavvá alakulva fejtette ki antikonzulzáns hatását. A hippocampális szeleteket az L-kinurenin mellett L-NNA-val preinkubáltuk. Az előkezelést követően a

pentiléntetrazol kifejtette konvulzív hatását, és a mezőpotenciálok amplitúdóját szignifikánsan megemelte. Az eredmények azt bizonyítják, hogy az L-NNA alkalmazásával az L-kinurenin nem transzaminálódott, és nem képeződött elegendő kinurénsav, amely a pentiléntetrazol hatását kivédte volna.

Korábbi tanulmányok azt mutatják, hogy a kortikális agyszelet preparátumok a perfúziós folyadékkal alkalmazott exogén L-kinurenin ~1%-át konvertálják kinurénsavvá (Turski et al., 1989). A különböző agyi régiók eltérő kapacitással rendelkeznek a kinurénsav szintézis tekintetében. Eredményeink alapján úgy gondoljuk, a hippocampusban ez az arány 3-4 %-ot ér el, és a 16 μ M-os L-kinurenin kezelés hozzávetőlegesen 500-600 nM kinurénsav koncentrációt eredményez a preparátumokban. A kinurénsav ebben a koncentrációban még mutat mérhető NMDA receptor gátló hatást, a pentiléntetrazol modellben azonban ebben a koncentrációban nem eredményes a hiperexcitabilitás kivédésében. Ezzel szemben a 16 μ M-os L-kinurenin kezelés hatékonysága vélhetőleg annak tudható be, hogy míg a kinurénsav exogén alkalmazása során egy általános külső kinurénsav szintet hozunk létre, addig az L-kinurenin az asztricitákban kinurénsavvá átalakulva célzottan, közvetlenül a glutamáterg szinapszisok közelében szabadul fel, és az NMDA receptorokat hatékonyabban képes befolyásolni.

A pentiléntetrazol modellünkben egy szintetikus kinurénsav származék, az SZR-72 elektrofiziológiai hatását is megvizsgáltuk. Az SZR-72 a migrén kísérletes modelljében a nitro-glicerol indukálta c-fos immunreaktivitást szignifikánsan csökkentette stem sejtekben (Knyihar-Csillik et al., 2008). Az SZR-72 *in vitro* kísérleteinkben a kinurénsavval hasonlatos koncentráció-hatás görbét mutat, az egyes mikromólos koncentráció értékeken a kinurénsavval analóg módon csökkenti a mezőpotenciálok amplitúdó értékét. A pentiléntetrazol modellben a kinurénsavval ekvimolárisan alkalmazva, hatékonyan bizonyult a hiperexcitabilitás kialakulásának megakadályozásában. A szintetikus előállított kinurénsav analóg tehát rendelkezik a kinurénsav antikonvulzív hatásaival, mitöbb, nanomólos tartományban akár csak a kinurénsav, pozitív neuromodulátoros hatással is bír.

A kinureninekkal kapcsolatos neurobiológiai kutatások többsége a kinurénsav neuroprotektív hatását vizsgálja különböző modelleken. A kinurénsav antikonvulzáns tulajdonságának alapját az NMDA receptorokon kifejtett antagonistá hatás képezi. A kinurénsav azonban csak magas, nem fiziológiás koncentrációkban szorítja le a glicin koaktivátort az NMDA receptorokról (Birch et al., 1988; Kessler et al., 1989; Parsons et al., 1997). Kevés tanulmány született ez idáig a kinurénsav fiziológiás körülmények között betöltött szerepéről. A kinurénsav fiziológiás koncentrációja patkány agyban megközelítőleg

20 nM (Connick et al., 1992), míg ember esetében 1 mM-os értéket mértek (Turski et al., 1989). *In vitro* kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy a kinurénsav nanomólos koncentrációkban milyen elektrofiziológiai hatásokat mutat a hippocampális patkány agyszelet preparátumokon. Eredményeink azt mutatják, hogy a kinurénsav nanomólos koncentrációkban ellenkező hatást vált ki a mezőpotenciálok amplitúdójában, mint mikromólos tartományban (Rozsa et al., 2008b). A kinurénsav 175-250 nM tartományban megnöveli a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok amplitúdóját. A kinurénsav a maximális facilitáló hatást 250 nM koncentrációban fejtette ki, az amplitúdó értékeket 19,98%-al (\pm S.D.) emelte meg. A kinurénsav pozitív neuromodulátoros hatását az NBQX előkezelés megszüntette. Az NBQX egy szelektív AMPA receptor gátló (Gruart et al., 2006; Kapus et al., 2000), mely a mezőpotenciálok AMPA receptor közvetítette komponensét iktatja ki. Az AMPA receptorok blokkolásával a kinurénsav elvesztette facilitáló hatását a nanomólos értékeken. Prescott és munkatársai 2006-os vizsgálataikban kimutatták, hogy a kinurénsav alacsony mikromólos koncentrációban megnöveli a hippocampus CA1-es és CA3-mas régiójából elvezett mezőpotenciálok amplitúdóját (Prescott et al., 2006). Az általuk használt 10 μ M-os kinurénsav koncentráció pozitív neuromodulátoros hatást fejtett ki 4-6 hetes patkány agyszelet preparátumokon, az amplitúdó növekedés nem volt szignifikáns. Saját kísérleteink esetén, melyek során 3-4 hetes patkányok agyszelet preparátumán dolgoztunk, azt tapasztaltuk, hogy a kinurénsav alacsony mikromólos értékeken is NMDA receptor antagonistaként működik, és kizárólag nanomólos koncentrációban vált ki facilitáló hatást. A kinurénsav endogén szintje az ontogenezis folyamán nagymértékű változásokon megy keresztül (Moroni et al., 1988a). Születést megelőzően 4-5-szörös kinurénsav koncentrációt találtak patkány magzati agyszövetben, míg a születést követő egy nap alatt gyors, és kifejezett csökkenés figyelhető meg (Beal et al., 1992). Az agyszövet kinurénsav tartalma igen alacsony a születést követő napokban patkányban, újszülött állatokban fehérjére vonatkoztatva 15 \pm 3 pmol/g (\pm -S.E.M.) kinurénsav tartalmat mértek, míg 3 hónapos korban 320 \pm 31 pmol/g, 18 hónapos korban pedig 747 \pm 116 pmol/g értékekre nőtt meg a kinurénsav szintje (Moroni et al., 1988a). A kor előrehaladtával csak az agyszövetben és a vérben volt kimutatható a kinurénsav tartalom emelkedése, míg a perifériás szervekben, a májban vagy a vesében nem történt változás. A születést megelőző, és az azt követő napon megfigyelhető nagy differencia a kinurénsav agyi szintjében felhívja a figyelmet, hogy a kinurénsav vélhetőleg komoly szerepet tölt be az idegrendszer fejlődésében. Csillik és munkatársai megállapították, hogy az agykéreg fejlődésében alapvető szerepet betöltő „subplate” sejtjei ideiglenesen KAT immunreakciót mutatnak, s hogy ezek a sejtek

egyidejűleg NMDA receptorokat is tartalmaznak (Csillik et al., 2002). A subplate sejtek KAT expressziója a 16. embrionális naptól, a születést követő hetedik napig volt kimutatható. Az ontogenezisnek ebben a fázisában az agyszövetben semmilyen más sejtípusban nem figyelhető meg KAT immunreaktivitás. A subplate neuronjai szinaptikus bemeneteken keresztül, az NMDA receptorok közvetítésével kapnak információt, melyek migrációjukhoz elengedhetetlen (Hanganu et al., 2001). Nemcsak a kéreg fejlődéséhez elengedhetetlenek az NMDA receptorok által közvetített jelek, hanem a hippocampus szinapszisainak érésében is (Bellinger et al., 2002). Az NMDA receptorok mellett az AMPA receptorok szintén kulcsfontosságúak a fejlődő idegrendszer szinaptikus kapcsolatainak kialakításában. Az újszülött patkány hippocampusban olyan nyugvó AMPA receptorokat találunk a CA3-mas és CA1-es régiókban, melyek a fejlődés korai szakaszában már jelen vannak a szubszinaptikus membránban, azonban még nem működőképesek. Ezeknek a néma szinapszisoknak funkcionális szinapszissokká történő átalakulása fontos szerepet játszik a hippocampális szinaptikus kapcsolatok stabilizálásában és a neuronális hálózatok finom hangolásában (Gasparini et al., 2000). Feltételezik, hogy ezek a nyugvó szinapszisok aktivitásfüggő folyamatok, mint pl. a long term potentiation (LTP) révén válnak működőképesé (Durand and Konnerth, 1996; Durand et al., 1996; Liao et al., 1995). A kinurénsav koncentrációja a központi idegrendszerben a születést követő napon alacsony szintre esik vissza, majd növekedésnek indul a kor előrehaladtával. Mivel a kinurénsav alacsony, nanomólos koncentráció értékeken képes az AMPA receptorok működését befolyásolni, elképzelhető, hogy az ontogenezis korai szakaszában szerepet játszik ezeknek a nyugvó szinapszisoknak az aktiválásában, és rész vesz a hippocampális neuron hálózatok formálásában.

A kinurenin útvonal felfedezése óta eltelt 60 év alatt a neurobiológiai kutatások számos kérdésre megadták a választ. Az egyszerű triptofán metabolitnak vélt kinurénsavról bebizonyosodott, hogy neuroaktív tulajdonságokkal rendelkezik, és egyben az egyetlen eddig ismert endogén NMDA receptor antagonist. Az NMDA receptorokon kifejtett gátló hatása antikonvulzáns és neuroprotektív tulajdonságokkal ruházza fel, az egyes szintetikus kinurénsav származékok szintén sikerrel alkalmazhatóak iszkémiás vagy traumás neuron károsodások kivédésében. A legújabb kutatások felhívják a figyelmet arra, hogy a kinurénsav és az egyes kinureninek neurobiológiai vizsgálata nem csak az antikonvulzáns szerek kifejlesztésében válhatnak hasznossá. A kinurénsav alacsony koncentrációban kifejtett pozitív neuromodulátoros hatása a kinurénsav fiziológiás körülmények között betöltött szerepét hangsúlyozza, mely újabb kérdéseket vet fel. Érdemes volna a jövőben behatóbban megvizsgálni a kinurénsav hatását nanomólos koncentrációkban LTP-s kísérletekben is,

különböző korcsoportú állatokban, hogy a kinureninek fiziológiai hatásáról és az ontogenezis során esetlegesen betöltött szerepéről további részleteket ismerjünk meg.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

A Célkitűzésekben megfogalmazott kérdésekre vizsgálataink alapján az alábbi válaszokat adhatjuk:

– *A kinurénsav - mikromólos tartományban – in vitro kísérletekben is gátlóan hat a hippocampus CA1-es régiójának mezőpotenciáljaira.*

– *A pentiléntetrazol in vitro modellben is hatékonyan alkalmazható konvulzáns, és a kinureninek neuromodulátoros hatásának vizsgálatára alkalmas. A pentiléntetrazol modellben a kinurénsav előkezelés képes kivédeni a pentiléntetrazol által generált kóros facilitációt.*

– *A kinurenin-kinurénsav konverzió in vitro körülmények között is végbemegy, és optimális paraméterek - perfúziós sebesség - mellett kellően hatékony a pentiléntetrazol kiváltotta konvulzív hatások ellensúlyozásában.*

– *Elsőként írtuk le, hogy az SZR-72, az új szintetikus kinurénsav származék, a kinurénsavval összemérhető antikonvulzív hatással bír.*

– *Elsőként írtuk le, hogy 3-4 hetes állatokban, nanomólos tartományban a kinurénsav AMPA receptor serkentő hatással rendelkezik. A mesterségesen előállított kinurénsav analóg esetén szintén kimutatható ez a facilitáló hatás, az SZR-72 tehát nemcsak a kinurénsav antikonvulzáns tulajdonságával rendelkezik, hanem a pozitív neuromodulátoros effektust is mutatja.*

8. ÖSSZEFOGLALÓ

A kinurénsav a triptofán metabolizmusa során keletkező neuroaktív anyagcseretermék. Előanyagából, az L-kinureninből keletkezik a kinurenin útvonalon, szintézise az asztrocitákban zajlik a kinurenin aminotranszferáz enzimek segítségével. Különböző neurodegeneratív megbetegedésekben - mint pl. a sclerosis multiplex, az Alzheimer kór, skizofrénia vagy az epilepszia - a kinurénsav abszolút vagy relatív koncentrációja eltér a fiziológias értékektől. A kinurénsav magas koncentrációkban az NMDA receptorok nem kompetitív antagonistája, gátló hatást fejt ki továbbá kainát és AMPA receptorokon. A serkentő aminosav receptorok gátlása révén antikonvulzáns és neuroprotektív tulajdonságokkal rendelkezik. A kinurénsav terápiás alkalmazásának azonban gátat szab a vegyület poláris struktúrája, mely a vér-agy gáton való átlépését nehezíti. Ezzel szemben előanyaga az L-kinurenin, ill. egyes szintetikus kinurénsav származékok könnyedén átjutnak a vér-agy gáton. Jelen tanulmányban a kinurénsav, az L-kinurenin és egy szintetikus kinurénsav analóg *in vitro* elektrofiziológiai hatásait vizsgáltuk patkány hippocampusban.

Kísérleteink során a Schaffer kollaterálisokat stimulálva, a hippocampus CA1-es régiójából vezettünk el mezőpotenciálokat. A kinureninek hatásvizsgálatára a pentiléntetrazol modellt alkalmaztuk. A pentiléntetrazol egy konvulzáns, melyet gyakran alkalmaznak rohamtevékenységek vizsgálatában. A pentiléntetrazol a GABA_A receptorok gátlása révén hiperexcitabilitás kialakulását indukálja. A pentiléntetrazol *in vitro* alkalmazása 1 mM-os koncentrációban, a mezőpotenciálok amplitúdójának erőteljes növekedéséhez vezetett a hippocampus CA1-es régiójában. Lokálisan, húszezros koncentrációban használva, repetitív mezőpotenciálok megjelenését eredményezte. Ezzel szemben a kinurénsav előkezelés megakadályozta a pentiléntetrazol okozta kóros facilitáció kialakulását és a mezőpotenciálok amplitúdóját a kontroll szintjéhez közeli értékeken tartotta. Hasonlóképpen, a kinurénsav előanyagának, az L-kinureninnek az alkalmazása szintén hatékonyan bizonyult a pentiléntetrazol modellben. Az L-NNA megakadályozza a kinurénsav transzaminációját, ezáltal az L-kinurenin-kinurénsav átalakulást gátolja. Kísérleteinkben az L-NNA enzim inhibitor segítségével bizonyítottuk, hogy *in vitro* rendszerünkben az L-kinurenin kinurénsavvá alakulva fejtette ki antikonvulzáns hatását. Megvizsgáltuk továbbá egy

szintetikus kinurénsav származék, az SZR-72 elektrofiziológiai hatásait. Alkalmazása a pentiléntetrazol modellben a kinurénsav analóg antikonvulzáns hatását bizonyítja.

A kinurénsav további vizsgálatával kimutattuk, hogy a kinurénsav nanomólos koncentráció tartományokban nem a megszokott NMDA receptor gátló hatását mutatja fiatal állatokban, hanem szignifikáns növekményt generál a hippocampus CA1-es régiójából elvezetett mezőpotenciálok amplitúdójában. A nanomólos tartományban kifejtett facilitáló hatás AMPA receptor gátló jelenlétében nem érvényesül. A kinurénsav ezen pozitív neuromodulátoros hatása felhívja a figyelmet arra, hogy a kinurénsav koncentrációjának változása az ontogenezis során vélhetőleg fontos szerepet játszik az idegrendszer fejlődésének szabályzásában. A hippocampus szinaptikus hálózatainak kialakulásában a funkcionális AMPA receptorok megjelenése nagy jelentőséggel bír. Felmerül annak a lehetősége, hogy a fejlődés kezdeti szakaszában még nyugvó AMPA receptorok aktiválásában a kinurénsav szerepet játszik. A kinureninek antikonvulzáns hatásának tanulmányozása mellett a jövőben a kinurénsav fiziológias körülmények között betöltött szerepének vizsgálata is figyelmet érdemel.

9. SUMMARY

In most tissues, including brain, a major proportion of the tryptophan which is not used for protein synthesis is metabolized along the kynurenine pathway. Kynurenic acid (KYNA) is an endogenous metabolite in the kynurenine pathway of tryptophan degradation and is an antagonist at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate (NMDA) as well as at the alpha 7 nicotinic cholinergic receptors. In the brain tissue KYNA is synthesised from L-kynurenine (KYN) by kynurenine aminotransferases (KAT) I and II. KYNA is produced by astrocytes and secreted into the extracellular milieu in the close vicinity of glutamatergic synapses. Kynurenic acid has been suggested to be involved in the pathophysiology of several brain disorders, including Parkinson's disease, Huntington's disease, Sclerosis multiplex, Alzheimer's disease and epilepsy. However, the therapeutic use of KYNA is rather restricted, because KYNA has a very limited ability to cross the blood-brain barrier. In contrast, the precursor of KYNA, KYN crosses this barrier more readily. Previous studies revealed that cortical rat brain slices have the ability to synthesize KYNA from exogenously added KYN. This study was designed to examine the conversion of KYN to KYNA in hippocampal rat brain slices and to test the electrophysiological properties of a newly synthesised compound, SZR-72, which is a synthetic KYNA analog. KYNA exerts its anticonvulsant properties through the action on excitatory amino acid receptors- an action displayed at non-physiological, high concentrations. The knowledge about the potential physiological significance of the compound is limited, so we additionally examined the effect of kynurenic acid at nM concentrations.

In the course of the experiments on rat brain slices, the Schaffer collaterals were stimulated and field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) were recorded in the pyramidal layer of the hippocampal CA1 region. To test the effects of KYNA, we used an *in vitro* pentylenetetrazole (PTZ) model. PTZ, a chemical convulsant frequently utilized in the study of seizures, exerts its effects by binding to the picrotoxin binding site of the post-synaptic GABA-A receptor. PTZ administered *in vitro* at 1 mM induced a considerable increase in the amplitude of the fEPSPs recorded from the hippocampal CA1 region. When applied locally in an extremely high concentration (20 mM), PTZ resulted in characteristic wavelets, repetitive fEPSPs. However, KYNA administration not only decreased the

amplitude of the hippocampal CA1 responses evoked by Schaffer collateral stimulation, but also afforded protection from the PTZ-induced response enhancement. The KYNA precursor KYN also blocked the development of the PTZ-induced high increase in amplitude. To prove that the KYN→KYNA conversion did take place in our experiments and that it was KYNA which afforded the protection against the effects of PTZ, we applied *N*-omega-nitro-L-arginine, an inhibitor of KAT I and II. The administration of L-NNA diminished the protection achieved by the KYN pretreatment. SZR-72, a synthetic kynurenic acid derivative, applied *in vitro*, proved to be also effective in preventing the high increase in fEPSP amplitudes, generated by PTZ.

These findings show that treatment with KYN, or the synthetic kynurenic acid derivative, SZR-72, even at very low μM concentration, has an effect on enhanced neural excitability and thus support the hypothesis that manipulations of the kynurenine pathway might be a rewarding target in different neuronal disorders affected by neuronal hyperexcitation. Additionally we have shown, that KYNA in submicromolar concentration range has a positive neuromodulatory effect. In nM concentrations, kynurenic acid does not give rise to inhibition, but in fact facilitates the field excitatory postsynaptic potentials, recorded from the hippocampal CA1 region. We have shown that KYNA exerts its facilitatory effect through AMPA receptors. The fact that KYNA displays neuromodulatory effects in low nanomolar concentrations in the young rat hippocampus leaves the question open as to whether KYNA has a significant role in the developing rat brain. At early developmental stages non-functional AMPA receptors have been found in both CA3 and CA1 hippocampal regions. The mechanism by which these silent synapses are converted to functional ones is still unknown and KYNA might afford an answer. The *in vivo* significance of KYNA remains to be determined and is of peculiar interest.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Disszertációm végén a köszönetnyilvánítás fejezete újabb 50 oldalt érdemelne - munkám létrejöttét, sokmindenkinek köszönni tartozom, de a hely szűke miatt egy rövid bekezdés erejéig szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik közvetlenül vagy közvetve segítettek engem doktoranduszi munkám során. Szeretném hálámat kifejezni **Dr. Toldi József** professzor úrnak, hogy három éven keresztül a témavezetőm volt, és hogy bármilyen aggályommal, problémámmal és kérdésemmel bizalommal fordulhattam hozzá. Köszönöm Tanár úrnak és **Dr. Vécsei László** professzor úrnak, hogy bekapcsolódhattam a kinureninekkel kapcsolatos kutatásokba. Köszönöm Tanár úrnak a végtelen türelmét, az értékes ötleteit, segítő tanácsait, támogató szavait. Köszönöm **Dr. Fekete Éva** egyetemi tanárnak, hogy a neurobiológia oktatásával tovább erősítette bennem a tudomány iránti tiszteletemet. Köszönöm **Robotka Herminának** a szakmai segítséget, az egyetemi éveket, barátságára interkontinentálisan is számítok. Köszönöm **Berkó Anikónak** számítástechnikai fogyatékoságaim orvoslását, **Dr. Varga Csabának** a nyári locsolásokat, nélküle biztosan elhervadtam volna. Köszönet **Mérnökúrnak** a műszaki problémák elhárításáért, és az 50 Hz ellen folytatott kíméletlen harcokban tanúsított segítségéért. Hálás vagyok **Veketyné Váradi Margónak** az adminisztrációs munkákban nyújtott segítségéért, és a Tanszék többi munkatársának, akik segítettek munkámban. Köszönöm **Szüleimnek** a támogatásukat, köszönöm nekik, hogy biológus lehettem.

Végezetül köszönöm férjemnek, **Takács Viktornak**, hogy a disszertáció írásakor fellépő agonizálásaim nem készítették válásra, és hogy továbbra is boldog házasságban élhetünk.

11. FELHASZNÁLT SZAKIRODALOM JEGYZÉK

- Andre, V., Pineau, N., Motte, J. E., Marescaux, C., and Nehlig, A. (1998): Mapping of neuronal networks underlying generalized seizures induced by increasing doses of pentylenetetrazol in the immature and adult rat: a c-Fos immunohistochemical study. *Eur J Neurosci* 10, 2094-106.
- Bahreman, A., Shafaroodi, H., Ghasemi, M., Nasrabady, S. E., Gholizadeh, S., and Dehpour, A. R. (2008): The cannabinoid anticonvulsant effect on pentylenetetrazole-induced seizure is potentiated by ultra-low dose naltrexone in mice. *Epilepsy Res*.
- Baran, H., Jellinger, K., and Deecke, L. (1999): Kynurenine metabolism in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 106, 165-81.
- Battaglia, G., La Russa, M., Bruno, V., Arenare, L., Ippolito, R., Copani, A., Bonina, F., and Nicoletti, F. (2000): Systemically administered D-glucose conjugates of 7-chlorokynurenic acid are centrally available and exert anticonvulsant activity in rodents. *Brain Res* 860, 149-56.
- Beadle, G. W., Mitchell, H. K., and Nyc, J. F. (1947): Kynurenine as an Intermediate in the Formation of Nicotinic Acid from Tryptophane by Neurospora. *Proc Natl Acad Sci U S A* 33, 155-8.
- Beal, M. F., Matson, W. R., Storey, E., Milbury, P., Ryan, E. A., Ogawa, T., and Bird, E. D. (1992): Kynurenic acid concentrations are reduced in Huntington's disease cerebral cortex. *J Neurol Sci* 108, 80-7.
- Bellinger, F. P., Wilce, P. A., Bedi, K. S., and Wilson, P. (2002): Long-lasting synaptic modification in the rat hippocampus resulting from NMDA receptor blockade during development. *Synapse* 43, 95-101.
- Bender, D. A., and McCreanor, G. M. (1982): The preferred route of kynurenine metabolism in the rat. *Biochim Biophys Acta* 717, 56-60.
- Bertolino, M., Vicini, S., and Costa, E. (1989): Kynurenic acid inhibits the activation of kainic and N-methyl-D-aspartic acid-sensitive ionotropic receptors by a different mechanism. *Neuropharmacology* 28, 453-7.
- Birch, P. J., Grossman, C. J., and Hayes, A. G. (1988): Kynurenic acid antagonises responses to NMDA via an action at the strychnine-insensitive glycine receptor. *Eur J Pharmacol* 154, 85-7.
- Bonney, E. A., and Matzinger, P. (1998): Much IDO about pregnancy. *Nat Med* 4, 1128-9.
- Carpenedo, R., Chiarugi, A., Russi, P., Lombardi, G., Carla, V., Pellicciari, R., Mattoli, L., and Moroni, F. (1994): Inhibitors of kynurenine hydroxylase and kynureninase increase cerebral formation of kynurenate and have sedative and anticonvulsant activities. *Neuroscience* 61, 237-43.
- Ceresoli-Borroni, G., and Schwarcz, R. (2000): Perinatal kynurenine pathway metabolism in the normal and asphyctic rat brain. *Amino Acids* 19, 311-23.
- Chiarugi, A., Carpenedo, R., Molina, M. T., Mattoli, L., Pellicciari, R., and Moroni, F. (1995): Comparison of the neurochemical and behavioral effects resulting from the inhibition of kynurenine hydroxylase and/or kynureninase. *J Neurochem* 65, 1176-83.
- Christensen, H. N. (1984): Organic ion transport during seven decades. The amino acids. *Biochim Biophys Acta* 779, 255-69.

- Connick, J. H., Heywood, G. C., Sills, G. J., Thompson, G. G., Brodie, M. J., and Stone, T. W. (1992): Nicotinylalanine increases cerebral kynurenic acid content and has anticonvulsant activity. *Gen Pharmacol* 23, 235-9.
- Csillik, A. E., Okuno, E., Csillik, B., Knyihar, E., and Vecsei, L. (2002): Expression of kynurenine aminotransferase in the subplate of the rat and its possible role in the regulation of programmed cell death. *Cereb Cortex* 12, 1193-201.
- Du, F., Schmidt, W., Okuno, E., Kido, R., Kohler, C., and Schwarcz, R. (1992): Localization of kynurenine aminotransferase immunoreactivity in the rat hippocampus. *J Comp Neurol* 321, 477-87.
- Durand, G. M., and Konnerth, A. (1996): Long-term potentiation as a mechanism of functional synapse induction in the developing hippocampus. *J Physiol Paris* 90, 313-5.
- Durand, G. M., Kovalchuk, Y., and Konnerth, A. (1996): Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. *Nature* 381, 71-5.
- Ellinger, A. (1904): Die Entstehung der kynurenen saure. *Z. Physiol Chem* 43, 325-327.
- Erakovic, V., Zupan, G., Varljen, J., Laginja, J., and Simonic, A. (2001): Altered activities of rat brain metabolic enzymes caused by pentylenetetrazol kindling and pentylenetetrazol--induced seizures. *Epilepsy Res* 43, 165-73.
- Erhardt, S., Blennow, K., Nordin, C., Skogh, E., Lindstrom, L. H., and Engberg, G. (2001): Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Neurosci Lett* 313, 96-8.
- Erhardt, S., Schwieler, L., Nilsson, L., Linderholm, K., and Engberg, G. (2007): The kynurenic acid hypothesis of schizophrenia. *Physiol Behav* 92, 203-9.
- Foster, A. C., Vezzani, A., French, E. D., and Schwarcz, R. (1984): Kynurenic acid blocks neurotoxicity and seizures induced in rats by the related brain metabolite quinolinic acid. *Neurosci Lett* 48, 273-8.
- Fukui, S., Schwarcz, R., Rapoport, S. I., Takada, Y., and Smith, Q. R. (1991): Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. *J Neurochem* 56, 2007-17.
- Fuster, J. M. (1995): Memory in the cerebral cortex: An empirical approach to neural networks in the human and nonhuman primate.
- Gal, E. M., and Sherman, A. D. (1978): Synthesis and metabolism of L-kynurenine in rat brain. *J Neurochem* 30, 607-13.
- Gal, E. M., and Sherman, A. D. (1980): L-kynurenine: its synthesis and possible regulatory function in brain. *Neurochem Res* 5, 223-39.
- Ganong, A. H., and Cotman, C. W. (1986): Kynurenic acid and quinolinic acid act at N-methyl-D-aspartate receptors in the rat hippocampus. *J Pharmacol Exp Ther* 236, 293-9.
- Ganong, A. H., Lanthorn, T. H., and Cotman, C. W. (1983): Kynurenic acid inhibits synaptic and acidic amino acid-induced responses in the rat hippocampus and spinal cord. *Brain Res* 273, 170-4.
- Gasparini, S., Saviane, C., Voronin, L. L., and Cherubini, E. (2000): Silent synapses in the developing hippocampus: lack of functional AMPA receptors or low probability of glutamate release? *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 9741-6.
- Gigler, G., Szenasi, G., Simo, A., Levay, G., Harsing, L. G., Jr., Sas, K., Vecsei, L., and Toldi, J. (2007): Neuroprotective effect of L-kynurenine sulfate administered before focal cerebral ischemia in mice and global cerebral ischemia in gerbils. *Eur J Pharmacol* 564, 116-22.

- Gramsbergen, J. B., Hodgkins, P. S., Rassoulpour, A., Turski, W. A., Guidetti, P., and Schwarcz, R. (1997): Brain-specific modulation of kynurenic acid synthesis in the rat. *J Neurochem* 69, 290-8.
- Gramsbergen, J. B., Schmidt, W., Turski, W. A., and Schwarcz, R. (1992): Age-related changes in kynurenic acid production in rat brain. *Brain Res* 588, 1-5.
- Gruart, A., Munoz, M. D., and Delgado-Garcia, J. M. (2006): Involvement of the CA3-CA1 synapse in the acquisition of associative learning in behaving mice. *J Neurosci* 26, 1077-87.
- Guidetti, P., Okuno, E., and Schwarcz, R. (1997): Characterization of rat brain kynurenine aminotransferases I and II. *J Neurosci Res* 50, 457-65.
- Guidetti, P., Wu, H. Q., and Schwarcz, R. (2000): In situ produced 7-chlorokynurenate provides protection against quinolinate- and malonate-induced neurotoxicity in the rat striatum. *Exp Neurol* 163, 123-30.
- Guillemin, G. J., and Brew, B. J. (2002): Implications of the kynurenine pathway and quinolinic acid in Alzheimer's disease. *Redox Rep* 7, 199-206.
- Guillemin, G. J., Cullen, K. M., Lim, C. K., Smythe, G. A., Garner, B., Kapoor, V., Takikawa, O., and Brew, B. J. (2007): Characterization of the kynurenine pathway in human neurons. *J Neurosci* 27, 12884-92.
- Han, Q., Robinson, H., and Li, J. (2007): Crystal structure of human kynurenine aminotransferase II. *J Biol Chem* 283, 3567-73.
- Hanganu, I. L., Kilb, W., and Luhmann, H. J. (2001): Spontaneous synaptic activity of subplate neurons in neonatal rat somatosensory cortex. *Cereb Cortex* 11, 400-10.
- Hartai, Z., Klivenyi, P., Janaky, T., Penke, B., Dux, L., and Vecsei, L. (2005): Kynurenine metabolism in plasma and in red blood cells in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 239, 31-5.
- Hayaishi, O., Rothberg, S., Mehler, A. H., and Saito, Y. (1957): Studies on oxygenases; enzymatic formation of kynurenine from tryptophan. *J Biol Chem* 229, 889-96.
- Heidelberger, C., Gullberg, M. E., and et al. (1949): Tryptophan metabolism; concerning the mechanism of the mammalian conversion of tryptophan into kynurenine, kynurenic acid, and nicotinic acid. *J Biol Chem* 179, 143-50.
- Heyes, M. P., Swartz, K. J., Markey, S. P., and Beal, M. F. (1991): Regional brain and cerebrospinal fluid quinolinic acid concentrations in Huntington's disease. *Neurosci Lett* 122, 265-9.
- Hilmas, C., Pereira, E. F., Alkondon, M., Rassoulpour, A., Schwarcz, R., and Albuquerque, E. X. (2001): The brain metabolite kynurenic acid inhibits alpha7 nicotinic receptor activity and increases non-alpha7 nicotinic receptor expression: physiopathological implications. *J Neurosci* 21, 7463-73.
- Hirata, F., and Hayaishi, O. (1975): Studies on indoleamine 2,3-dioxygenase. I. Superoxide anion as substrate. *J Biol Chem* 250, 5960-6.
- Hokari, M., Wu, H. Q., Schwarcz, R., and Smith, Q. R. (1996): Facilitated brain uptake of 4-chlorokynurenine and conversion to 7-chlorokynurenic acid. *Neuroreport* 8, 15-8.
- Homer, H. (1914): The constitution of kynurenic acid. *J Biol Chem* 17, 509-518.
- Huang, R. Q., Bell-Horner, C. L., Dibas, M. I., Covey, D. F., Drewe, J. A., and Dillon, G. H. (2001): Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant gamma-aminobutyric acid type A (GABA(A)) receptors: mechanism and site of action. *J Pharmacol Exp Ther* 298, 986-95.
- Jauch, D., Urbanska, E. M., Guidetti, P., Bird, E. D., Vonsattel, J. P., Whetsell, W. O., Jr., and Schwarcz, R. (1995): Dysfunction of brain kynurenic acid metabolism in Huntington's disease: focus on kynurenine aminotransferases. *J Neurol Sci* 130, 39-47.

- Kaminski, R. M., Zielinska, E., Dekundy, A., van Luijtelaar, G., and Turski, W. (2003): Deficit of endogenous kynurenic acid in the frontal cortex of rats with a genetic form of absence epilepsy. *Pol J Pharmacol* 55, 741-6.
- Kapus, G., Szekely, J. I., Durand, J., Ruiz, A., and Tarnawa, I. (2000): AMPA receptor antagonists, GYKI 52466 and NBQX, do not block the induction of long-term potentiation at therapeutically relevant concentrations. *Brain Res Bull* 52, 511-7.
- Kemp, J. A., Foster, A. C., Leeson, P. D., Priestley, T., Tridgett, R., Iversen, L. L., and Woodruff, G. N. (1988): 7-Chlorokynurenic acid is a selective antagonist at the glycine modulatory site of the N-methyl-D-aspartate receptor complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85, 6547-50.
- Kessler, M., Terramani, T., Lynch, G., and Baudry, M. (1989): A glycine site associated with N-methyl-D-aspartic acid receptors: characterization and identification of a new class of antagonists. *J Neurochem* 52, 1319-28.
- Kleckner, N. W., and Dingledine, R. (1989): Selectivity of quinoxalines and kynurenines as antagonists of the glycine site on N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol Pharmacol* 36, 430-6.
- Knyihar-Csillik, E., Mihaly, A., Krisztin-Peva, B., Robotka, H., Szatmari, I., Fulop, F., Toldi, J., Csillik, B., and Vecsei, L. (2008): The kynurenate analog SZR-72 prevents the nitroglycerol-induced increase of c-fos immunoreactivity in the rat caudal trigeminal nucleus: Comparative studies of the effects of SZR-72 and kynurenic acid. *Neurosci Res* 61, 429-32.
- Knyihar-Csillik, E., Toldi, J., Mihaly, A., Krisztin-Peva, B., Chadaide, Z., Nemeth, H., Fenyó, R., and Vecsei, L. (2007): Kynurenine in combination with probenecid mitigates the stimulation-induced increase of c-fos immunoreactivity of the rat caudal trigeminal nucleus in an experimental migraine model. *J Neural Transm* 114, 417-21.
- Laube, B., Hirai, H., Sturgess, M., Betz, H., and Kuhse, J. (1997): Molecular determinants of agonist discrimination by NMDA receptor subunits: analysis of the glutamate binding site on the NR2B subunit. *Neuron* 18, 493-503.
- Liao, D., Hessler, N. A., and Malinow, R. (1995): Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature* 375, 400-4.
- Liebig, J. (1853): Über Kynurensäure. *Ann Chem* 86, 125-126.
- Luchowski, P., Kocki, T., and Urbanska, E. M. (2001): N(G)-nitro-L-arginine and its methyl ester inhibit brain synthesis of kynurenic acid possibly via nitric oxide-independent mechanism. *Pol J Pharmacol* 53, 597-604.
- Macdonald, R. L., and Barker, J. L. (1978): Specific antagonism of GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian spinal cord neurons: a common mode of convulsant action. *Neurology* 28, 325-30.
- McDonald, J. W., Penney, J. B., Johnston, M. V., and Young, A. B. (1990): Characterization and regional distribution of strychnine-insensitive [³H] glycine binding sites in rat brain by quantitative receptor autoradiography. *Neuroscience* 3, 653-668.
- Mehler, A. H., and Knox, W. E. (1950): The conversion of tryptophan to kynurenine in liver. II. The enzymatic hydrolysis of formylkynurenine. *J Biol Chem* 187, 431-8.
- Meilleur, S., Aznavour, N., Descarries, L., Carmant, L., Mamer, O. A., and Psarropoulou, C. (2003): Pentylentetrazol-induced seizures in immature rats provoke long-term changes in adult hippocampal cholinergic excitability. *Epilepsia* 44, 507-17.
- Minatogawa, Y., Noguchi, T., and Kido, R. (1974): Kynurenine pyruvate transaminase in rat brain. *J Neurochem* 23, 271-2.

- Minota, S., Miyazaki, T., Wang, M. Y., Read, H. L., and Dun, N. J. (1989): Glycine potentiates NMDA responses in rat hippocampal CA1 neurons. *Neurosci Lett* 100, 237-42.
- Moroni, F. (1999): Tryptophan metabolism and brain function: focus on kynurenine and other indole metabolites. *Eur J Pharmacol* 375, 87-100.
- Moroni, F., Russi, P., Carlá, V., and Lombardi, G. (1988a): Kynurenic acid is present in the rat brain and its content increases during development and aging processes. *Neurosci Lett* 94, 145-150.
- Moroni, F., Russi, P., Lombardi, G., Beni, M., and Carla, V. (1988b): Presence of kynurenic acid in the mammalian brain. *J Neurochem* 51, 177-80.
- Mugnaini, M., Antolini, M., Corsi, M., and van Amsterdam, F. T. (1998): [3H]5,7-dichlorokynurenic acid recognizes two binding sites in rat cerebral cortex membranes. *J Recept Signal Transduct Res* 18, 91-112.
- Munn, D. H., Zhou, M., Attwood, J. T., Bondarev, I., Conway, S. J., Marshall, B., Brown, C., and Mellor, A. L. (1998): Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 281, 1191-3.
- Nassiri-Asl, M., Zamansoltani, F., and Zangivand, A. A. (2008): The inhibitory effect of trimethylamine on the anticonvulsant activities of quinine in the pentylenetetrazole model in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*.
- Natsume, J., Kumakura, Y., Bernasconi, N., Soucy, J. P., Nakai, A., Rosa, P., Fedi, M., Dubeau, F., Andermann, F., Lisbona, R., Bernasconi, A., and Diksic, M. (2003): Alpha-[11C] methyl-L-tryptophan and glucose metabolism in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology* 60, 756-61.
- Nemeth, H., Robotka, H., Kis, Z., Rozsa, E., Janaky, T., Somlai, C., Marosi, M., Farkas, T., Toldi, J., and Vecsei, L. (2004): Kynurenine administered together with probenecid markedly inhibits pentylenetetrazol-induced seizures. An electrophysiological and behavioural study. *Neuropharmacology* 47, 916-25.
- Nemeth, H., Toldi, J., and Vecsei, L. (2005): Role of kynurenines in the central and peripheral nervous systems. *Curr Neurovasc Res* 2, 249-60.
- Ogawa, T., Matson, W. R., Beal, M. F., Myers, R. H., Bird, E. D., Milbury, P., and Saso, S. (1992): Kynurenine pathway abnormalities in Parkinson's disease. *Neurology* 42, 1702-6.
- Okuno, E., Nakamura, M., and Schwarcz, R. (1991): Two kynurenine aminotransferases in human brain. *Brain Res* 542, 307-12.
- Parsons, C. G., Danysz, W., Quack, G., Hartmann, S., Lorenz, B., Wollenburg, C., Baran, L., Przegalinski, E., Kostowski, W., Krzascik, P., Chizh, B., and Headley, P. M. (1997): Novel systemically active antagonists of the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor: electrophysiological, biochemical and behavioral characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 283, 1264-75.
- Perkins, M. N., and Stone, T. W. (1985): Actions of kynurenic acid and quinolinic acid in the rat hippocampus in vivo. *Exp Neurol* 88, 570-9.
- Plant, N., Kitchen, I., Goldfarb, P. S., and Gibson, G. G. (1997): Developmental modulation of cysteine conjugate beta-lyase/glutamine transaminase K/kynurenine aminotransferase mRNA in rat brain. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 22, 335-9.
- Prescott, C., Weeks, A. M., Staley, K. J., and Partin, K. M. (2006): Kynurenic acid has a dual action on AMPA receptor responses. *Neurosci Lett* 402, 108-12.
- Ramanjaneyulu, R., and Ticku, M. K. (1984): Interactions of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. *Eur J Pharmacol* 98, 337-45.

- Rejdak, K., Bartosik-Psujek, H., and Dobosz, B. (2002): Decreased level of kynurenic acid in cerebrospinal fluid relapsing-onset multiple sclerosis patients. *Neurosci Lett* 331, 63-65.
- Roberts, R. C., McCarthy, K. E., Du, F., Ottersen, O. P., Okuno, E., and Schwarcz, R. (1995): 3-Hydroxyanthranilic acid oxygenase-containing astrocytic processes surround glutamate-containing axon terminals in the rat striatum. *J Neurosci* 15, 1150-61.
- Robotka, H., Nemeth, H., Somlai, C., Vecsei, L., and Toldi, J. (2005): Systemically administered glucosamine-kynurenic acid, but not pure kynurenic acid, is effective in decreasing the evoked activity in area CA1 of the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 513, 75-80.
- Robotka, H., Sas, K., Agoston, M., Rozsa, E., Szenasi, G., Gigler, G., Vecsei, L., and Toldi, J. (2008): Neuroprotection achieved in the ischaemic rat cortex with L-kynurenine sulphate. *Life Sci* 82, 915-9.
- Rozsa, E., Robotka, H., Nagy, D., Farkas, T., Sas, K., Vecsei, L., and Toldi, J. (2008a): The pentylenetetrazole-induced activity in the hippocampus can be inhibited by the conversion of L-kynurenine to kynurenic acid: an in vitro study. *Brain Res Bull* 76, 474-9.
- Rozsa, E., Robotka, H., Vecsei, L., and Toldi, J. (2008b): The Janus-face kynurenic acid. *J Neural Transm.* DOI 10.1007/s00702-008-0052-5
- Sas, K., Robotka, H., Rózsa, E., Ágoston, M., Szénási, G., Gigler, G., Marosi, M., Kis, Zs., Farkas, T., Vécsei, L. and Toldi, J. (2008): Kynurenine diminishes the ischemia-induced histological and electrophysiological deficits in the rat hippocampus. *Neurobiol of disease* (Article in press).
- Scharfman, H. E., Hodgkins, P. S., Lee, S. C., and Schwarcz, R. (1999): Quantitative differences in the effects of de novo produced and exogenous kynurenic acid in rat brain slices. *Neurosci Lett* 274, 111-4.
- Scharfman, H. E., and Ofer, A. (1997): Pretreatment with L-kynurenine, the precursor to the excitatory amino acid antagonist kynurenic acid, suppresses epileptiform activity in combined entorhinal/hippocampal slices. *Neurosci Lett* 224, 115-8.
- Schmidt, W., Guidetti, P., Okuno, E., and Schwarcz, R. (1993): Characterization of human brain kynurenine aminotransferases using [³H]kynurenine as a substrate. *Neuroscience* 55, 177-84.
- Smith, Q. R., Aoyagi M., Rapoport S.I. (1989): Structural specificity of the brain capillary neutral amino acid transporter, pp. 1025: *Soc. Neurosci.*
- Smith, Q. R., Momma, S., Aoyagi, M., and Rapoport, S. I. (1987): Kinetics of neutral amino acid transport across the blood-brain barrier. *J Neurochem* 49, 1651-8.
- Speciale, C., Hares, K., Schwarcz, R., and Brookes, N. (1989): High-affinity uptake of L-kynurenine by a Na⁺-independent transporter of neutral amino acids in astrocytes. *J Neurosci* 9, 2066-72.
- Squires, R. F., Saederup, E., Crawley, J. N., Skolnick, P., and Paul, S. M. (1984): Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on GABA/benzodiazepine/picrotoxin receptor complexes in brain. *Life Sci* 35, 1439-44.
- Stone, T. W. (2001): Kynurenines in the CNS: from endogenous obscurity to therapeutic importance. *Prog Neurobiol* 64, 185-218.
- Stone, T. W., and Burton, N. R. (1988): NMDA receptors and ligands in the vertebrate CNS. *Prog Neurobiol* 30, 333-68.
- Stone, T. W., and Connick, J. H. (1985): Quinolinic acid and other kynurenines in the central nervous system. *Neuroscience* 15, 597-617.
- Storm-Mathisen, J., and Ottersen, O. P. (1988): Anatomy of putative glutamatergic neurons.

- Turski, W. A., Gramsbergen, J. B., Traitler, H., and Schwarcz, R. (1989): Rat brain slices produce and liberate kynurenic acid upon exposure to L-kynurenine. *J Neurochem* 52, 1629-36.
- Turski, W. A., Nakamura, M., Todd, W. P., Carpenter, B. K., Whetsell, W. O., Jr., and Schwarcz, R. (1988): Identification and quantification of kynurenic acid in human brain tissue. *Brain Res* 454, 164-9.
- Wang, H., and Storm, D. R. (2005): Ca stimulated adenylyl cyclases and hippocampal neuroplasticity. *Cellscience* 2 No.1.
- Watanabe, Y., Yoshida, R., Sono, M., and Hayaishi, O. (1981): Immunohistochemical localization of indoleamine 2,3-dioxygenase in the argyrophilic cells of rabbit duodenum and thyroid gland. *J Histochem Cytochem* 29, 623-32.
- Wolf, H. (1974): Studies on tryptophan metabolism in man. *Scan J Clin Lab Invest* 136(S), 1-186.
- Wu, H. Q., Lee, S. C., and Schwarcz, R. (2000): Systemic administration of 4-chlorokynurenine prevents quinolinate neurotoxicity in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 390, 267-74.
- Wu, H. Q., Rassoulpour, A., Goodman, J. H., Scharfman, H. E., Bertram, E. H., and Schwarcz, R. (2005): Kynurenate and 7-chlorokynurenate formation in chronically epileptic rats. *Epilepsia* 46, 1010-6.
- Yoshida, R., and Hayaishi, O. (1987): Indoleamine 2,3-dioxygenase. *Methods Enzymol* 142, 188-95.

12. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

- Nemeth H, Robotka H, Kis Z, Rozsa E, Janaky T, Somlai C, Marosi M, Farkas T, Toldi J, Vecsei L: **Kynurenine administered together with probenecid markedly inhibits pentylenetetrazol-induced seizures. An electrophysiological and behavioural study.** *Neuropharmacology* 2004, **47**(6):916-925.
IF: 3.734, Független idéző: 2
- Szegedi V, Fulop L, Farkas T, Rozsa E, Robotka H, Kis Z, Penke Z, Horvath S, Molnar Z, Datki Z *et al*: **Pentapeptides derived from Abeta 1-42 protect neurons from the modulatory effect of Abeta fibrils--an in vitro and in vivo electrophysiological study.** *Neurobiol Dis* 2005, **18**(3):499-508.
IF: 4.048, Független idéző: 3
- Juhasz-Vedres G, Rozsa E, Rakos G, Dobszay MB, Kis Z, Wolfling J, Toldi J, Parducz A, Farkas T: **Dehydroepiandrosterone sulfate is neuroprotective when administered either before or after injury in a focal cortical cold lesion model.** *Endocrinology* 2006, **147**(2):683-686.
IF: 5.236, Független idéző: 5
- Szegedi V, Juhasz G, Rozsa E, Juhasz-Vedres G, Datki Z, Fulop L, Bozso Z, Lakatos A, Laczko I, Farkas T *et al*: **Endomorphin-2, an endogenous tetrapeptide, protects against Abeta1-42 in vitro and in vivo.** *Faseb J* 2006, **20**(8):1191-1193.
IF: 6.721, Független idéző: 2
- Rozsa E, Robotka H, Nagy D, Farkas T, Sas K, Vecsei L, Toldi J: **The pentylenetetrazole-induced activity in the hippocampus can be inhibited by the conversion of l-kynurenine to kynurenic acid: An in vitro study.** *Brain Res Bull* 2008, **30**;76(5):474-9
IF: 1.684

Rózsa E, Robotka H, Vécsei L, Toldi J: **The Janus-face kynurenic acid.** *J. Neural Transm.* 2008, DOI 10.1007/s00702-008-0052-5
IF: 2.938

Robotka H, Sas K, Agoston M, Rózsa E, Szénási G, Gigler G, Vécsei L, Toldi J.: **Neuroprotection achieved in the ischaemic rat cortex with L-kynurenine sulphate** *Life Sci* 2008, 82(17-18):915-9.
IF: 2.257

Katalin Sas, Hermina Robotka, Éva Rózsa, Márta Ágoston, Gábor Szénási, Gábor Gigler, Máté Marosi, Zsolt Kis, Tamás Farkas, László Vécsei and József Toldi: **Kynurenine diminishes the ischemia-induced histological and electrophysiological deficits in the rat hippocampus.** *Neurobiol of disease* 2008, (Article in press).
IF: 4,377

13. ABSZTRAKTOK

Rózsa Éva, Penke Zsuzsa, Farkas Tamás, Kis Zsolt, Horváth Szatmár, Soós Katalin, Penke Botond, Toldi József:

Comparative electrophysiological study of pentapeptides in the neurotoxicity produced by beta-amyloid peptide

IBRO International Workshop, 29-31 January, 2004, Budapest, Hungary

Éva Rózsa, Gabriella Juhász-Vedres, Marton Dobszay, Gabriella Rákos, Zsolt Kis, Tamás Farkas and József Toldi:

Dehydroepiandrosterone sulfate is neuroprotective in a focal cortical cold lesion model

Congress of the Hungarian Neuroscience Society, January 27th, 2005, Pécs, Hungary

Gabriella Juhász-Vedres, Éva Rózsa, Zsolt Kis, Katalin Soós, Livia Fülöp, Marta Zarándi, Tamas Farkas, Botond Penke and József Toldi:

Comparative electrophysiological study of aggregation inhibitors on the neuromodulatory effects produced by beta-amyloid peptide

Congress of the Hungarian Neuroscience Society, January 27th, 2005, Pécs, Hungary

Szegedi Viktor, Juhász Gábor, Rózsa Éva, Juhász-Vedres Gabriella, Datki Zsolt, Fülöp Livia, Farkas Tamás, Kis Zsolt, Soós Katalin, Zarándi Márta, Budai Dénes, Toldi József, Penke Botond

Endomorphin II protects against Ab1-42 induced neuromodulatory effect on CA1 hippocampal neuron *in vivo* and in motor cortical slices *in vitro*

Congress of the Hungarian Neuroscience Society, January 27th, 2005, Pécs, Hungary

Rózsa Éva, Robotka Hermina, Sas Katalin, Vécsei László, Toldi József:

Az L-kinurenin neuroprotekciónban betöltött szerepe in vitro hippocampális agyszelet preparátumon

Magyar Élettani Társaság LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9

Robotka Hermina, Németh Hajnalka, Rózsa Éva, Sas Katalin, Toldi József és Vécsei László:

Az L-kinurenin neuroprotektív hatásának vizsgálata in vivo kísérletekben

Magyar Élettani Társaság LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9

Farkas Tamás, Juhász-Vedres Gabriella, Rózsa Éva, Soós Katalin, Datki Zsolt, Fülöp Livia, Kis Zsolt, Penke Botond és Toldi József:

Különböző pentapeptidok vizsgálata az 1-42 β -amiloid által okozott szinaptotoxicitásban

Magyar Élettani Társaság LXX. Vándorgyűlése, Szeged, 2006. június 7-9

Robotka Hermina, Rózsa Éva, Kopcsányi Tamás, Berkecz Róbert, Péter Antal, Szatmáry István, Fülöp Ferenc, Vécsei László és Toldi József:

Egy új kinurénsav származék vizsgálata in vivo és in vitro módszerekkel

Magyar Idegtudományi Társaság XI. konferenciája, Szeged, 2007. január 24-27,

Vécsei László, Knyihár Erzsébet, Klivényi Péter, Robotka Hermina, Rózsa Éva, Toldi József:

Neurodegeneráció, neuroprotekción és kinureninek

Magyar Idegtudományi Társaság XI. konferenciája, Szeged, 2007. január 24-27

MELLÉKLETEK