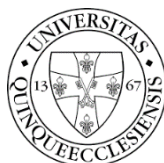


# **Kombinált teljesítményfokozó farmakológiai kezelések hatékonyságának vizsgálata neurokognitív zavarok különböző patkány modelljeiben**

*Doktori (PhD) értekezés*

**Bruszt Nóra**



Témavezető: Prof. Dr. Hernádi István

egyetemi tanár

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Reglődi Dóra

egyetemi tanár

Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán

egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Orvostudományi és Gyógyszerésztudományi Doktori és Habilitációs Tanács

Pécs, 2024

## 1. BEVEZETÉS

Az öregedéssel összefüggésbe hozható neurokognitív zavarok (NCD) súlyos népegészségügyi problémát jelentenek világszerte. Ezek az életkorral összefüggésbe hozható rendellenességek progresszív neuronális diszfunkcióval és a kognitív képességek jelentős romlásával jellemezhetőek, melyek nagyban hozzájárulnak a beteg önálló életvitelének korlátozásához. Azok a mechanizmusok, melyek neurodegenerációra hajlamosítják az idős agyat még nem teljesen tisztázottak, és nehéz meghatározni azt a határvonalat, mely elválasztja a normál és a patológiás öregedést. Fontos lenne tehát megérteni az öregedés alapvető mechanizmusait és azok szerepét a NCD-ok kialakulásában és progressziójában. Továbbá, a megfelelő terápiák hiányában szükség lenne új, hatékonyabb terápiás stratégiák kidolgozására.

A súlyos NCD-ok leggyakoribb típusa az Alzheimer-kór, melynek elsődleges patológiás markerei a szinaptikus és neuronális vesztéséből eredő agyi atrófia (jellemzően a medialis temporalis lebenyben és a hippocampusban), az extracelluláris  $\beta$ -amiloid ( $A\beta$ ) lerakódások neuritikus plakkok formájában, valamint a neuronokban felszaporodó hiperfoszforilált tau fehérjékből álló neurofibrilláris kötegek (NFT). Mivel számos bizonyíték támogatja azt az elképzelést, hogy a neuritikus plakkoknak elsődleges szerepük van az AD kialakulásában, a tanulmányok egy jelentős része a  $A\beta$  képződésére és metabolizmusára összpontosít (Haass and Selkoe 2022). Azonban egyes kutatások ellentmondanak az AD amiloid hipotézisének, arra hivatkozva, hogy az AD-ra jellemző idegsejt károsodás és pusztulás az  $A\beta$  plakkok lerakódásától függetlenül is megjelenhet (Morris et al. 2014), továbbá az  $A\beta$  plakkokat célzó terápiák sem bizonyulnak eredményesnek mindeddig. Ebből kifolyólag számos tanulmány a megnövekedett neuroinflammáció központi szerepét feltételezi a neurodegeneráció és a kognitív diszfunkciók előidézésében. Mára a kutatások jelentős része kimutatta, hogy az aktivált mikroglia által termelt gyulladáscsökkentő citokinek, mint például az interleukin-1 béta (IL-1 $\beta$ ), vagy a tumor nekrozis faktor (TNF- $\alpha$ ) megemelkedett szintje, nagyban hozzájárul a tanulási és memória zavarok kialakulásához (Castellani et al. 2010; Kinney et al. 2018). Ezáltal a jövőbeli kezelési stratégiáknak a hatásosság növelése érdekében figyelembe kell venniük az neurofiziológiai deficitek háttérben álló immunológiai mechanizmusokat is.

Jelenleg három törzskönyvezett kolinészteráz inhibitor (ChEI), a donepezil, a galantamin és a rivasztigmin, és egy NMDAR antagonistá vegyület, a memantin áll rendelkezésünkre a NCD-k gyógyszeres kezelésére (Yiannopoulou and Papageorgiou 2020). Azonban ezek a gyógyszerek csak mérsékelt előnyöket kínálnak a kognitív tünetek enyhítésében, továbbá a NCD-ok progresszióját sem képesek megállítani (Raina et al. 2008;

Tsoi et al. 2016). Az alfa7 nikotinos acetilkolin receptorok ( $\alpha 7$  nAChR) ígéretes célpontot jelentenek az NCD-ok kezelésében, mert fontos szerepet játszanak a tanulási és a memória folyamatokban (Wallace and Porter 2011). Számos bizonyíték alátámasztja, hogy az  $\alpha 7$  nAChR-okon keresztül történő jelátvitel fokozza mind a kolinerg, mind a glutamáterg transzmissziót, mely hozzájárul a memória javulásához. Azonban a legújabb tanulmányokban azt is demonstrálják, hogy a  $\alpha 7$ -nAChR-ok stimulációja csökkenti a neuroinflammációt a kolinerg anti-inflammatorikus útvonal aktiválásán keresztül, mely ugyancsak hozzájárul az  $\alpha 7$ -nAChR-ok terápiás hatékonyságához (Egea et al. 2015; Maurer and Williams 2017).

Az utóbbi időben számos tanulmány számolt be a kombinált terápiák hatékonyságáról, mivel a NCD-ok több patológiás aspektusát is képesek megcélolni és alacsonyabb dózisok alkalmazását teszik lehetővé a nemkívánatos mellékhatások elkerülésével (Parsons et al. 2013). Bár a memantin donepezillel való kombinálását már jóváhagyták az AD kezelésére, a rendelkezésre álló bizonyítékok alapján továbbra sem világos, hogy a kombinációs terápia túlmutat-e a monokezelések hatékonyságán (Deardorff et al. 2015; Knorz and Quante 2021). Azonban egy másik ChEI, a galantamin, mely az  $\alpha 7$ -nAChR-ok pozitív alloszterikus modulátora is egyben, sokkal jobb szinergikus hatást eredményez a memantinnal való együtt adása során, mint a donepezil-memantin kombinációs kezelés (Busquet et al. 2012; Nikiforuk et al. 2016). Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a két vegyület egyidejű hatékonysága az  $\alpha 7$ -nAChR-ok modulációjára vezethető vissza (Koola et al. 2018). Ennek fényében jelen kísérleteinkben különböző hatásmechanizmusú  $\alpha 7$ -nAChR ligandokat kombináltunk a memantinnal, és a NCD-ok farmakológiai, valamint természetesen idős patkány modelljében vizsgáltuk meg viselkedés szintjén a kétféle kombináció kognitív serkentő hatékonyságát. Ezen kívül biokémiai vizsgálatokat alkalmazva felmértük az idős patkányok gyulladási állapotát, valamint az  $\alpha 7$ -nAChR-ok öregedés okozta expressziós változásait.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

- I. Az  $\alpha 7$ -nAChR-okat célzó ligand kölcsönhatások vizsgálata NCD-ok szkopolaminnal indukált farmakológiai patkány modelljében Morris-féle vízi labirintus (MWM) és T-labirintus paradigma alkalmazásával:
  1. A memantin és a szelektív  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA-543613 dózis-hatás összefüggésének meghatározása.

2. Szubeffektív dózisú memantin és szubeffektív dózisú PHA-543613 kombinált hatásának vizsgálata az epizódikus memória különböző komponenseire (térbeli navigáció, rövid-távú memória, hosszú-távú memória) összehasonlítva a megfelelő monokezelésekkel.
- II. Az  $\alpha 7$ -nAChR-okat célzó ligand kölcsönhatások vizsgálata NCD-ok természetesen idős patkány modelljében NOR paradigma alkalmazásával:
    1. A memantin, a szelektív  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA-543613 és egy szelektív  $\alpha 7$ -nAChR-okra ható PAM vegyület dózis-hatás összefüggésének meghatározása.
    2. Szubeffektív dózisú memantin és szubeffektív dózisú  $\alpha 7$ -nAChR ligandok (PHA-543613 és PAM) kombinált hatásának vizsgálata összehasonlítva a megfelelő monokezelésekkel.
  - III. Idős állatoknál tapasztalható mRNS és fehérje expressziós változások vizsgálata két gyulladáshoz köthető mediátor (IL-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ ) a CNTF neurotróf faktor és az  $\alpha 7$ -nAChR-ok tekintetében a memóriáért felelős agyterületeken (hippocampus, neocortex, striatum).

### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1. A memantin és a PHA-543613 közötti interakció vizsgálata farmakológiai NCD-modellben

Az első tanulmányban a szelektív  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA-543613 és a memantin kombinált hatását teszteltük NCD-ok szkopolaminnal indukált patkány modelljében. A vegyületek egyidejű hatékonyságát az epizódikus memória különböző doménjein (térbeli navigáció, rövid-távú memória és hosszú-távú memória) figyeltük meg MWM paradigmában. Továbbá a memantin-PHA-543613 kombinációs kezelés rövid-távú memóriára kifejtett farmakológiai hatásait T-labirintusban is megvizsgáltuk.

Az MWM kísérleti protokollja négy tréning napból és egy próba napból állt. Az állatok feladata az volt, hogy megtanulják a labirintusban elrejtett platform helyét. Az állatoknak tréning naponként négy próbát kellett teljesíteniük. A próbák során a platform keresésével töltött időt, valamint a platformig megtett útvonal hosszát mértük Ethovision XT10 szoftver (Noldus, Wageningen, Hollandia) segítségével. Az állatok első tréning napon mutatott teljesítményét használtuk fel a rövid-távú memória értékelésére. Az ötödik napon az állatok csak egy próbát

hajtottak végre. Eltávolítottuk az addig fix helyen lévő platformot és az állat célkvadránsban töltött idejét mértük két percen keresztül, melyből a hosszú-távú memóriára következtettünk.

Az első kísérletsorozatban a memantin és a PHA-543613 monokezelések hatékonyságát határoztuk meg. A memantint 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg és 1,0 mg/kg dózisokban, a PHA-543613-at 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg és 3,0 mg/kg dózisokban alkalmaztuk, melyeket korábbi kísérleti eredményeinket alapul véve választottuk ki. A különböző monokezelések hatékonyságát a patkányok kognitív teljesítményére teszteltük szkopolaminnal indukált (0,1 mg/kg, Scop) tranziens amnézia modellben. A kísérleti procedúra második fázisában az adott kísérlet szempontjából szubeffektív dózisú memantin (0,1 mg/kg) és szubeffektív dózisú PHA-543613 (0,3 mg/kg) farmakológiai kölcsönhatásait és a kombinált alkalmazásuk kognitív serkentő hatását teszteltük, összehasonlítva a monokezelések hatékonyságával. A kísérletnek alávetett patkányok a következő kezelésekben részesültek: vehikulum önmagában, szkopolamin önmagában, memantin monokezelés 0,1 mg/kg dózisban, szkopolamin beadást megelőzően, PHA-543613 monokezelés 0,3 mg/kg dózisban, szkopolamin beadást megelőzően, és kombinált kezelés, szkopolamin beadást megelőzően.

Az állatok rövid-távú memóriáját T-labirintusban is leteszteltük spontán alternációs paradigmával, ami a rágcsálók természetes explorációs magatartását használja ki. A rágcsálók ösztönös magatartásának egyik jellemzője, hogy az exploráció során egy adott helyről az aréna legrégebben látogatott pontját keresik fel. A patkányokat egyenként a labirintus Start karjába, majd a guillotine ajtó felnyitását követően az állat a jobb és a bal célkar között választhatott. A kísérletek során feljegyeztük, hogy adott próbában az állat melyik célkart választotta. Akkor alternált, ha az ellenkező kart választotta, mint az azt megelőző próba során, míg hibának tekintettük, ha az azonos kart látogatta meg, mint az azt megelőző próba során. A választások alapján alternálási rátát számoltunk, úgy, hogy az alternálások számát elosztottuk a patkány által teljesített próbák számával, melyből egyet levontunk, ugyanis az első próbában még nincs alternálási lehetőség.

A habituációs és tréning méréseket követően először a memantinnal végzett monokezelések hatékonyságát vizsgáltuk meg különböző dózisokban a patkányok spontán alternáló teljesítményére. Az alkalmazott dózisok a következők voltak: 0,001, 0,003, 0,01, 0,03 és 0,1 mg/kg. A PHA-543613 szubeffektív és effektív dózisait korábbi kísérleteinket alapul véve határoztuk meg (Bali et al. 2015). A kísérleti procedúra második fázisában az adott kísérlet szempontjából szubeffektív dózisú memantin és szubeffektív dózisú PHA-543613 kombinált

alkalmazását teszteltük le a következő farmakológiai kezeléseket alkalmazva: szkopolamin önmagában, memantin monokezelés 0,003 mg/kg dózisban, szkopolamin beadást megelőzően, PHA-543613 monokezelés 0,1 mg/kg dózisban, szkopolamin beadást megelőzően, és kombinált kezelés, szkopolamin beadást megelőzően.

### **3.2. A memantin és az $\alpha 7$ -nAChR ligandok közötti interakciók vizsgálata spontán öregedés modellben**

A második tanulmányunkban a memantint két különböző hatásmechanizmusú  $\alpha 7$ -nAChR-ra ható vegyülettel, a korábban már alkalmazott ortoszterikus agonista PHA-543613-mal és egy jelenleg fejlesztés alatt álló PAM-ral (CPDX) kombináltuk. A kombinált kezelések kognitív serkentő hatását idős patkányok hosszú-távú deklaratív memóriájára teszteltük NOR paradigmában. A magatartásfarmakológiai kísérleteket követően biokémiai vizsgálatokat (PCR, ELISA) is végeztünk az öregedéssel összefüggésbe hozható neuroinflammációs markerek azonosítására. Ezen kívül az  $\alpha 7$ -nAChR-ok öregedéssel kapcsolatos expressziós változásait is elemeztük.

Az állatok hosszú-távú deklaratív memóriáját NOR teszttel vizsgáltuk. A tesztprotokoll két próbából állt. Az első próbában két egyforma tárgyat helyeztünk el az aréna, melyeket a patkányok 3 percig explorálhattak. 24 órás késleltetés követően a második próbában az egyik tárgyat kicseréltük egy újra, melyet ismét 3 percig vizsgálhattak az állatok.

Az újdonság iránti preferencia a rágcsálók egy veleszületett sajátja. Ennélfogva az ismerős tárgy felismerése feltételezhetően az új tárgy hosszabb ideig tartó felfedezésében nyilvánul meg, melyből az ép memóriefunkciókra következtethetünk. Ennek értékelésére a próbák alatt az ismerős (Ef) és az új tárgyakkal (En) töltött explorációs időt mértük, melyekből diszkriminációs indexet (DI) számoltunk az alábbi képlet alapján:

$$DI = (En - Ef) / (En + Ef)$$

A memantinnal végzett monokezeléseket a következő dózisokban alkalmaztuk: 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg. A PHA-543613-at 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg és 3,0 mg/kg dózisokban, a PAM vegyületet szintén 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg és 3,0 mg/ dózisokban adtuk be. Ezt követően az adott kísérlet szempontjából szubeffektív memantin és szubeffektív PHA-543613 dózisok együttes beadását teszteltük a megfelelő monokezelések hatásaival szemben. A kísérletben tehát a következő kezeléseket részesülték az állatok: vehikulum önmagában,

memantin monokezelés 0,01 mg/kg dózisban, PHA-543613 monokezelés 0,1 mg/ttkg dózisban és a két vegyület kombinált alkalmazása. Ehhez hasonlóan a memantin és a PAM vegyület kombinációját is teszteltük egy különálló kísérletben, melyben a következő kezeléseket alkalmaztuk: vehikulum önmagában, memantin monokezelés 0,01 mg/kg dózisban, monokezelés a PAM vegyülettel 0,1 mg/ttkg dózisban, és a két vegyület kombinált alkalmazása.

### **3.3. Post mortem vizsgálatok**

A viselkedés teszteket követően az állatokat pentobarbitállal altattuk majd fiziológiás sóoldattal transzkardiális úton perfundáltuk. Az agyakat kivétel után jobb és bal neocortexre, striatumra és hippocampusra disszekáltuk, melyeket azonnal folyékony nitrogénben lefagyasztottunk és a felhasználásig -80 °C-on tároltunk.

A kiválasztott célgének expresszióját kvantitatív valós idejű PCR-ral mértük Maxima SYBRGreen MasterMix (Applied Biosystems, Waltham, USA) alkalmazásával ABI Prism 7500 rendszeren (Applied Biosystems). A target mRNS szinteket a housekeeping génként használt ciklofilin A-ra (CycA) normalizáltuk.

A minták teljes fehérjekoncentrációját BCA Protein Assay kit (Pierce, Rockford, IL) segítségével mértük. Az IL-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ , CNTF és  $\alpha$ 7-nAChR mennyiségi meghatározását AbbeXa (Cambridge, UK) ELISA kitékkel végeztük el (katalógusszámok: abx155713, abx155822, abx155360, abx555). Az ELISA vizsgálatokat a gyártói protokollok szerint végeztük.

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1. A memantin és a PHA-543613 kombinált hatása patkányok tanulási és memória teljesítményére**

Először a memantinnal és a PHA-543613-mal végzett monokezeléseket teszteltük különböző dózisokban a szkopolaminnal indukált tanulási és memória deficittel szemben. A tréning fázisban (1–4. nap) az állatok átlagos keresési ideje jelentős mértékben csökkent (NAP:  $F(3, 213) = 177,313, p < 0,001$ ). Ugyanakkor nem volt szignifikáns különbség a vehikulummal, szkopolaminnal, memantinnal és a PHA-543613-mal kezelt csoportok között (KEZELÉS:  $F(7, 71) = 0,845, p = 0,554$ ) a keresési időt tekintve. Az állatok tanulási teljesítményét a platformig

megtett útvonalhossz alapján is értékeltük, mely a tréning napok során jelentős csökkenést mutatott (NAP:  $F(3, 213) = 153,072$ ,  $p < 0,001$ ). A kezeléseknél azonban nem volt szignifikáns hatása az állatok tanulási folyamataira (KEZELÉS:  $F(7, 71) = 1,281$ ,  $p = 0,272$ ), hasonlóan a keresési időn alapuló eredményekhez.

A próba napon a célkvadránsban töltött időből a hosszú távú memóriára következtettünk. A szkopolaminnal kezelt állatok szignifikánsan kevesebb időt töltöttek a célkvadránsban, mint a vehikulummal kezelt csoport (kontroll vs. Scop:  $43,2 \pm 2,8$  s vs.  $28,0 \pm 2,8$  s,  $p = 0,02$ ). Bár a memantin alacsonyabb dózisokban (0,1 mg/kg és 0,3 mg/kg) nem javította az állatok hosszú távú memóriáját a szkopolaminnal szemben, a legnagyobb memantin dózis (1,0 mg/kg) sikeresen visszafordította a szkopolaminnal kiváltott memóriadeficitet (Scop vs Mem1,0:  $28,0 \pm 2,8$  s vs  $41,7 \pm 3,3$  s,  $p = 0,009$ ). A PHA-543613 azonban egyik alkalmazott dózisban sem bizonyult hatékonynak.

A következő kísérletünkben a memantint (0.1 mg/kg) és a PHA-543613-at (0.3 mg/kg) szubeffektív dózisokban kombináltuk és kognitív serkentő hatékonyságát teszteltük a monokezelésekkel összehasonlítva. A tanulási szakaszban (1–4. nap) mind a keresési idő, mind a megtett útvonalhossz szignifikánsan lecsökkent (NAP: keresési idő:  $F(3, 180) = 133,533$ ,  $p < 0,001$ ; megtett útvonalhossz:  $F(3, 180) = 110,325$ ,  $p < 0,001$ ). A korábbi kísérleteinkhez hasonlóan a kezeléseknél nem gyakoroltak jelentős hatást sem a keresési időre (KEZELÉS:  $F(4, 60) = 1,144$ ,  $p = 0,345$ ), sem a megtett útvonal hosszára (KEZELÉS:  $F(4,60) = 0,426$ ,  $p = 0,789$ ). Továbbá a kezeléseknél nem befolyásolták szignifikánsan a tréning teljesítményre gyakorolt hatását (KEZELÉS  $\times$  NAP: keresési idő:  $F(12, 180) = 1,149$ ;  $p = 0,323$ ; megtett útvonalhossz:  $F(12, 180) = 1,246$ ;  $p = 0,255$ ).

Az állatok rövid-távú memóriáját is elemeztük, melyhez az első tréningnapon nyújtott teljesítményüket vettük alapul. Szignifikáns interakciót sikerült kimutatnunk a kezeléseknél és a próbák között, tehát kimondhatjuk, hogy a kezeléseknél jelentősen befolyásolták a próbák alatti teljesítményt (KEZELÉS  $\times$  PRÓBA: keresési idő:  $F(12, 180) = 1,952$ ,  $p = 0,031$ ; útvonalhossz:  $F(12, 177) = 2,305$ ,  $p = 0,009$ ). Az eredmények azt mutatják, hogy a szkopolaminnal kezelt csoportban nem tapasztalható javulás az első és a negyedik próba között, szemben a kontroll állatokkal, ami arra utal, hogy a szkopolamin nagy mértékben rontotta a rövid-távú memóriát ([Kontroll vs. Scop] $\times$ [t1 vs. t4]: keresési idő:  $45,7 \pm 18,4$  (kontrasztbecslés $\pm$ SEM),  $p = 0,016$ ; útvonalhossz:  $1475,0 \pm 515,7$ ,  $p = 0,006$ ). Azonban a memantin és a PHA-543613 mind önmagában, mind kombinációban javította a szkopolaminnal kiváltott rövid-távú memória-zavart ([Scop vs. Mem0,1]  $\times$  [próba1 vs. próba4]: keresési idő:  $65,4 \pm 16,3$ ,  $p < 0,001$ ;



útvonalhossz:  $1939,4 \pm 456,2$ ,  $p < 0,001$ ; [Scop vs. PHA0,3]  $\times$  [próba1 vs. próba4]: keresési idő:  $65,3 \pm 16,3$ ,  $p < 0,001$ ; útvonalhossz:  $1884,0 \pm 464,9$ ,  $p < 0,001$ ; [Scop vs. Mem0,1&PHA0,3]  $\times$  [próba1 vs. próba4]: keresési idő:  $79,0 \pm 16,3$ ;  $p < 0,001$ ; útvonalhossz:  $2524,0 \pm 456,2$ ,  $p < 0,001$ ).

A második tréning napon a kezelések szignifikáns hatást gyakoroltak az állatok keresési idejére (KEZELÉS:  $F(4, 60) = 2,932$ ,  $p = 0,028$ ) a megtett útvonal hosszánál viszont nem mutattunk ki különbséget a csoportok között (KEZELÉS:  $F(4, 60) = 1,661$ ,  $p = 0,171$ ). A páros összehasonlítások eredményei azt mutatják, hogy a szkopolaminnal kezelt állatok továbbra is rosszabbul teljesítettek a keresési idő tekintetében, szemben a kontroll állatokkal, illetve azokkal az állatokkal, akik alacsony dózisban kapták a memantin, a PHA-543613-at, vagy ezek kombinációját (kontroll vs. Scop:  $37,4 \pm 6,7$  s vs.  $58,6 \pm 9,4$  s,  $p = 0,054$ ; Scop vs. Mem0,1:  $58,6 \pm 9,4$  s vs.  $39,3 \pm 6,0$  s,  $p = 0,048$ ; Scop vs. PHA0,3:  $58,6 \pm 9,4$  s vs.  $28,3 \pm 6,2$  s,  $p = 0,002$ ; Scop vs. Mem0,1&PHA0,3:  $58,6 \pm 9,4$  s vs.  $33,0 \pm 5,5$  s,  $p = 0,009$ ). Azonban szignifikáns interakciót nem sikerült kimutatnunk a próbák és a kezelések között (KEZELÉS  $\times$  PRÓBA: keresési idő:  $F(12, 180) = 1,020$ ,  $p = 0,432$ ; útvonalhossz:  $F(12, 180) = 0,852$ ,  $p = 0,597$ ), tehát a szkopolaminnal kezelt állatok teljesítménye is tendenciaszerű javulást mutatott a második tréning napon.

A próba napon a szkopolaminnal kezelt csoport szignifikánsan kevesebb időt töltött a célkvadránsban, mint a kontroll csoport (Kontroll vs. Scop:  $47,9 \pm 3,5$  s vs.  $38,3 \pm 2,1$  s,  $p = 0,035$ ). A memantin és a PHA-543613 monokezelés nem csökkentette a szkopolaminnal kiváltott amnéziát (Scop vs. Mem0,1:  $38,3 \pm 2,1$  s vs.  $37,1 \pm 2,8$  s,  $p = 0,766$ ; Scop vs. PHA0,3:  $38,3 \pm 2,1$  s vs.  $43,3 \pm 3,2$  s,  $p = 0,210$ ), azonban a kombinált alkalmazásuk sikeresen visszafordította a hosszútávú memória romlást (Scop vs. Mem0,1&PHA0,3:  $38,3 \pm 2,1$  s vs.  $47,1 \pm 2,9$  s,  $p = 0,029$ ). Az eredmények a memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA-543613 között létrejövő előnyös interakciót tükrözik.

#### **4.2 A memantin és a PHA-543613 kombinált hatása patkányok spontán alternáló teljesítményére**

A memantin dózisfüggően gyengítette a szkopolamin által kiváltott memóriazavart, és növelte a patkányok alternálási rátáját. Bár a memantin memória javító hatása 0,1 mg/kg dózisban csak marginálisan tekinthető szignifikánsnak a szkopolamin kezeléséhez képest

(Mem0,1 vs. Scop:  $0,62 \pm 0,04$  vs.  $0,43 \pm 0,05$ ,  $p = 0,073$ ), visszaállította az állatok normális alternáló teljesítményét ( $t = 3,011$ ,  $p = 0,008$ ). Ez alapján a memantin  $0,1$  mg/kg-os dózisát hatékony dózissnak tekintettük a rövid-távú memória javítására.

A szubeffektív dózisú memantinnal és a szubeffektív dózisú PHA-543613-mal végzett kezelések önmagukban nem enyhítették a szkopolaminnal kiváltott memória deficitet (Mem0.003 vs. Scop:  $0,53 \pm 0,07$  vs.  $0,51 \pm 0,02$ ;  $p > 0,1$ ; PHA0.1 vs. Scop:  $0,45 \pm 0,04$  vs.  $0,51 \pm 0,02$ ;  $p > 0,1$ ). Továbbá az állatok alternálási teljesítménye sem haladta meg szignifikáns mértékben az 50%-os véletlen szintet a memantinnal és a PHA-543613-mal végzett monokezeléseket követően. Azonban a vegyületek kombinált alkalmazása megnövelte az alternálási rátát (Mem0,003&PHA0,1 vs. Scop:  $0,64 \pm 0,04$  vs.  $0,51 \pm 0,02$ ;  $p = 0,043$ ), és visszaállította az állatok normál memória teljesítményét ( $t = 3,506$ ,  $p = 0,004$ ).

#### **4.3 A memantin és az $\alpha 7$ -nAChR ligandok közötti interakciók vizsgálata idős patkányokban**

A memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR ligandumok, a PHA-543613 és a PAM vegyület dózishatás összefüggéseit az öregedés okozta kognitív hanyatlással szemben teszteltük. A  $0,1$  és  $1,0$  mg/kg dózisú memantin beadását követően a patkányok szignifikánsan több időt fordítottak az új tárgyak felfedezésére, mint az ismerősre, a vehikulummal kezelt állatokkal ellentétben (új vs. ismerős: VEH:  $9,3 \pm 1,6$  vs.  $7,3 \pm 1,1$ ,  $t=1,489$ ,  $df=10$ ,  $p=0,167$ ; Mem0,1:  $9,0 \pm 1,3$  vs.  $5,5 \pm 0,5$ ,  $t=2,492$ ,  $df=11$ ,  $p=0,030$ ; Mem1,0:  $8,7 \pm 1,2$  vs.  $5,7 \pm 1,0$ ,  $t=2,737$ ,  $df=10$ ,  $p = 0,021$ ). Az idős állatok, akik  $0,3$  mg/kg és  $1,0$  mg/kg dózisban alkalmazott PHA-543613 kezelésben részesültek, előnyben részesítették az új tárgyat (új vs. ismerős: PHA0,3:  $10,4 \pm 0,8$  vs.  $5,0 \pm 0,8$ ,  $t=6,354$ ,  $df= 12$ ,  $p<0,001$ ; PHA1,0:  $9,3 \pm 1,2$  vs.  $6,7 \pm 0,8$ ,  $t=2,684$ ,  $df=12$ ,  $p=0,020$ ), míg a vehikulummal kezelt idős patkányok nem tudtak diszkriminálni a tárgyak között (új és ismerős: VEH:  $9,4 \pm 1,7$  vs.  $7,8 \pm 1,1$ ,  $t=0,799$ ,  $df=10$ ,  $p=0,443$ ). Továbbá a PHA-543613 a legalacsonyabb dózisban ( $0,3$  mg/kg) javította az idős állatok DI-ét a vehikulummal kezeltékhez képest ( $F(3, 34,7)=4,189$ ;  $p=0,012$ ; PHA0,3 vs. VEH:  $0,38 \pm 0,07$  vs.  $0,05 \pm 0,12$ ,  $p=0,012$ ). A PAM vegyület szintén javította a patkányok memória teljesítményét azáltal, hogy  $0,3$  mg/kg dózisban helyreállította az állatok új és az ismerős tárgyak közötti diszkrimináló képességét (új vs. ismerős: CPDX0,3:  $10,9 \pm 1,4$  vs.  $5,3 \pm 0,6$ ,  $t=5,245$ ,  $df =9$ ,  $p=0,001$ ).

A következő kísérletsorozatban 0,01 mg/kg dózisú memantint 0,1 mg/kg dózisú PHA-543613-mal és 0,1 mg/kg dózisú PAM vegyülettel kombináltuk. Először a memantin-PHA-543613 kombinációs kezelés kognitív serkentő hatását hasonlítottuk össze a megfelelő monokezelések hatásaival. Az eredmények azt mutatják, hogy az alacsony dózisú memantin mind önmagában, mind az alacsony dózisú PHA-543613-mal való kombinálása során javította az idős állatok diszkriminációs képességét az új és az ismerős tárgyak között (új vs. ismerős: Mem0.01:  $8,1 \pm 0,8$  vs.  $5,4 \pm 0,5$ ,  $t=2,549$ ,  $df=10$ ,  $p=0,029$ ; Mem0,01&PHA01:  $10,1 \pm 1,2$  vs.  $5,0 \pm 0,6$ ,  $t=3,544$ ,  $df=11$ ,  $p=0,005$ ). A PHA-543613-mal végzett monokezelés azonban nem bizonyult hatékonynak. Az alkalmazott kezelések marginális hatást eredményeztek a DI-re ( $F(3, 30)=2,727$ ;  $p=0,062$ ). Ahogy az várható volt, a páronkénti összehasonlítások nem mutattak szignifikáns DI-emelkedést az alacsony dózisú memantinnal és PHA-543613-mal végzett monokezelések esetén a vehikulummal kezelt idős kontrollcsoporthoz képest (Mem0,01 vs. VEH:  $0,19 \pm 0,07$  vs.  $-0,06 \pm 0,12$ ,  $p=0,081$ , PHA01 vs. VEH:  $0,09 \pm 0,07$  vs.  $-0,06 \pm 0,12$ ,  $p=0,298$ ). Ezzel szemben a DI szignifikánsan megemelkedett a kombinált kezelés hatására (Mem0.01&PHA01 vs. VEH:  $0,31 \pm 0,10$  vs.  $-0,06 \pm 0,12$ ,  $p=0,01$ ), ami azt jelzi, hogy sikeresen visszafordította az életkorral összefüggő deklaratív memória romlást. Ezt követően a memantin és a PAM vegyület együttes beadásának hatásait is teszteltük. Azok az állatok, amelyek kis dózisú memantinnal, vagy PAM vegyülettel végzett monokezelésekben részesültek, nem tettek különbséget az új és az ismerős tárgyak között (új vs. ismerős: Mem0,01:  $6,5 \pm 0,8$  vs.  $5,2 \pm 0,6$ ,  $t=1,716$ ,  $df=14$ ,  $p=0,108$ , CPDX0,1:  $6,9 \pm 0,7$  vs.  $6,1 \pm 0,8$ ,  $t=0,965$ ,  $df=13$ ,  $p=0,352$ ). Míg a memantin és a PAM vegyület együttes alkalmazása visszafordította az életkorral összefüggő memóriazavart, mivel a patkányok a kombinációs kezelést követően szignifikánsan több időt töltöttek az új tárgy felfedezésével (új vs. ismerős:  $9,8 \pm 1,2$  vs.  $4,5 \pm 0,6$ ,  $t=4,560$ ,  $df=14$ ,  $p<0,001$ ) (9C ábra). A kezelések szignifikáns főhatása volt megfigyelhető a DI-re ( $F(3, 41,7)=3,281$ ;  $p=0,030$ ). A DI életkorral összefüggő csökkenését nem enyhítette sem a memantin, sem PAM vegyülettel végzett monokezelés (Mem0,01 vs. VEH:  $0,11 \pm 0,08$  vs.  $0,17 \pm 0,06$ ,  $p=0,565$ ; CPDX0,1 vs. VEH:  $0,07 \pm 0,08$  vs.  $0,17 \pm 0,06$ ,  $p=0,378$ ). Az átlagos DI azonban látszólag (de nem szignifikánsan) nőtt a kombinált kezelés hatására (Mem0,01&PHA01 vs. VEH:  $0,37 \pm 0,07$  vs.  $0,17 \pm 0,06$ ,  $p=0,055$ ).

#### 4.4. A neuroinflammációval összefüggésbe hozható mediátorok és az $\alpha 7$ -nAChR-ok mRNA és fehérje expressziós vizsgálata fiatal és idős patkány agyban

A további biokémiai vizsgálatokhoz 5 fiatal és 10 idős állatot használtunk fel. Az idős állatokat normál memória teljesítményű (AU) és memória deficitesek (AI) alcsoportokra osztottuk (5 állat/csoport) a NOR tesztben nyújtott kognitív alapteljesítményük szerint. Azokat az idős állatokat, akik a DI adatsor mediánja alatt teljesítettek memóriadeficiteseknek tekintettük (DI tartomány: -0,66 - -0,01), míg a medián felett teljesítőket (DI tartomány: 0,17-0,68) ép memóriájú csoportként értékeltük.

A fiatal, az idős AI és AU patkányok gyulladási állapotának meghatározásához különböző pro-inflammatorikus és neurotróf faktorok mRNA expressziós szintjeit mértük fel a neocortexben a striatumban és a hippocampusban. Ugyanezekben az agyi régiókban az  $\alpha 7$ -nAChR-ok mRNA expressziós összehasonlítására is sor került a fiatal és a két idős csoport között.

A qRT-PCR analízis eredményei azt mutatják, hogy mind az AI, mind az AU állatok szignifikánsan magasabb IL-1 $\beta$  mRNA szintet produkáltak a neocortexben és a striatumban a fiatal kontroll patkányokhoz képest (CTX: F(2, 11)=5,631, p=0,021; AI vs. fiatal: 26,9 $\pm$ 4,7 vs. 9,7 $\pm$ 2,1, p=0,008; AU vs. fiatal: 22,2 $\pm$ 4,5 vs. 9,7 $\pm$ 2,1, p=0,047; STR: F(2, 11)=8,753, p=0,005, AI vs. fiatal: 55,3 $\pm$ 8,3 vs. 18,9 $\pm$ 2,4, p=0,002; AU vs. fiatal: 40,8 $\pm$ 7,2 vs. 18,9 $\pm$ 2,4, p=0,038). Azonban a hippocampusban csak az AI állatok mutattak szignifikáns emelkedést az IL-1 $\beta$  mRNA mennyiségében a fiatal állatokhoz képest (F(2, 12)=6,708, p=0,013; AI vs. fiatal: 35,6 $\pm$ 3,1 vs. 19,1 $\pm$ 3,6, p=0,005).

A MIP-1 $\alpha$  mRNA expressziója mind az AI, mind az AU patkányokban az összes vizsgált agyterületen megnövekedett a fiatal állatokhoz képest (CTX: F(2, 12)=5,860, p=0,017; AI vs. fiatal: 75,6 $\pm$ 20,7 vs. 14,5 $\pm$  14,5 $\pm$  3,8, p=0,006; AU vs. fiatal: 58,3 $\pm$ 8,0 vs. 14,5 $\pm$ 3,8, p=0,035; STR: F(2, 12)=45,5, p<0,001; AI vs. fiatal: 184,8 $\pm$ 42,7 vs.  $\pm$ 5,8, p<0,001; AU vs. fiatal: 232,1 $\pm$ 9,7 vs. 42,6 $\pm$ 5,8, p<0,001; HC: F(2, 12)=16,121, p<0,001; AI vs. fiatal: 122,1  $\pm$  9,7 vs. 18,8 $\pm$ 1,6, p>0,001; AU vs. fiatalok: 96,2 $\pm$ 9,5 vs. 18,8 $\pm$ 1,6, p=0,001).

A CNTF mRNA expressziós szintje szignifikánsan megemelkedett az AI csoportban a kéregben és a hippocampusban a fiatal állatokhoz képest (CTX: F(2, 11)=4,167, p=0,045; AI vs. fiatal: 12,2 $\pm$ 2,3 vs. 6,4 $\pm$ 0,4, p=0,017, HC: F(2, 12)=4,099, p=0,044, AI vs. fiatal: 46,0 $\pm$ 8,2

vs.  $28,1 \pm 1,7$ ,  $p=0,029$ ). A striatumban a CNTF mRNS expressziója nem különbözött a csoportok között ( $F(2, 12)=0,394$ ,  $p=0,683$ ).

Az AI patkányok a fiatal patkányokhoz képest nagymértékű  $\alpha 7$ -nAChR mRNS upregulációt mutattak az összes vizsgált agyterületen, míg az AU csoport és a fiatal patkányok között nem találtunk különbséget (CTX:  $F(2, 11)=3,739$ ,  $p=0,058$ ; AI vs. fiatal:  $28,6 \pm 4,6$  vs.  $15,8 \pm 1,3$ ,  $p=0,020$ ; AU vs. fiatal:  $20,7 \pm 3,2$  vs.  $15,8 \pm 1,3$ ,  $p=0,350$ ; STR:  $F(2, 11, p=5,635)$   $p=0,021$ ; AI vs. fiatal:  $16,1 \pm 0,9$  vs.  $13,5 \pm 0,7$ ,  $p=0,027$ ; AU vs. fiatal:  $12,7 \pm 0,4$  vs.  $13,5 \pm 0,7$ ,  $p=0,489$ ; HC:  $F(2, 12,)=3,08$   $p=0,083$ ; AI vs. fiatal:  $68,7 \pm 3,0$  vs.  $52,6 \pm 5,4$ ,  $p=0,047$ ; AU vs. fiatal:  $53,4 \pm 6,5$  vs.  $52,6 \pm 5,4$ ,  $p=0,907$ ).

Ezt követően az IL-1 $\beta$ , CNTF, MIP-1 $\alpha$  és az  $\alpha 7$ -nAChR-ok fehérje expressziós szintjeit elemeztük fiatal, idős AI és AU patkányok neocortexében, striatumában és hippocampusában. Az ELISA teszt eredményei azt mutatják, hogy az AI állatok striatumában szignifikáns megemelkedett az IL-1 $\beta$  fehérjeszint a fiatal kontrollcsoporthoz képest, míg az AI és fiatal csoport között nem találtunk különbséget ( $F(2, 12)=3,127$ ,  $p=0,081$ ; AU vs. fiatal:  $1,5 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g vs.  $1,1 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g,  $p=0,032$ ; AI vs. fiatal:  $1,4 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g vs.  $1,1 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g,  $p=0,110$ ). A neocortexben és a hippocampusban az IL-1 $\beta$  expressziója nem tért el a csoportok között (CTX:  $F(2, 7)=0,511$ ,  $p=0,621$ ; HC:  $F(2, 12)=0,061$ ,  $p=0,941$ ).

Meglepő módon sem az AI, sem az AU csoport nem mutatott szignifikáns változást a MIP-1 $\alpha$  fehérje expresszióban egyik vizsgált agyi régióban sem (CTX:  $F(2, 7)=0,652$ ,  $p=0,550$ ; STR:  $F(2, 12) = 0,051$ ,  $p = 0,950$ , HC:  $F(2, 12) = 0,173$ ,  $p = 0,843$ ).

Az mRNS expressziós szintekkel ellentétben a hippocampalis CNTF fehérje szint szignifikánsan lecsökkent az AI csoportban a fiatal csoporthoz képest ( $F(2, 12)=5,386$ ,  $p=0,021$ ; AI vs. fiatal:  $0,6 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g vs.  $1,3 \pm 0,2$  pg/ $\mu$ g,  $p=0,007$ ). Ezenkívül a CNTF fehérje expressziós szintje tendenciaszerű csökkenést (nem szignifikáns) mutatott az AU csoport hippocampusában a fiatal állatokhoz képest (AU vs. fiatal:  $0,9 \pm 0,1$  pg/ $\mu$ g vs.  $1,3 \pm 0,2$  pg/ $\mu$ g,  $p=0,070$ ) (11I. ábra). A cortexben és a striatumban az öregedés jelentős főhatása nem volt megfigyelhető a patkányok CNTF fehérje expressziós szintjére (CTX:  $F(2, 7)=2,298$ ,  $p=0,171$ ; STR:  $F(2, 12)=2,167$ ,  $p=0,151$ ).

Az  $\alpha 7$ -nAChR fehérje expressziós szintjeinél ugyancsak nem tapasztaltunk szignifikáns, öregedéssel összefüggő változásokat (CTX:  $F(2, 7)=1,882$ ,  $p=0,222$ ; STR:  $F(2, 12)=2,120$ ,  $p=0,163$ ; HC:  $F(2, 12) = 0,383$ ,  $p = 0,690$ ).

## 5. ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen kutatásunkban egy, a NCD-ok kezelésére már jóváhagyott gyógyszer, a memantin és szelektív pro-kognitív hatású  $\alpha 7$ -nAChR ligandok közötti kölcsönhatásokat teszteltünk le viselkedés szintjén a NCD-ok különféle patkány modelljeiben. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a szubeffektív dózisu  $\alpha 7$ -nAChR ligandok (PHA-543613 vagy PAM) együtt adása a szubeffektív dózisu memantinnal erőteljesebb javulást eredményez-e a patkányok kognitív teljesítményében, mint a vegyületek önmagukban való alkalmazása. Első tanulmányunkban a memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR agonista PHA-543613 közötti kölcsönhatást vizsgáltuk, melyhez szkopolaminnal indukált NCD patkány modellt alkalmaztunk. A kombinált kezelés kognitív serkentő hatását az epizodikus memória több komponensére is teszteltük MWM és T-labirintus alkalmazásával, beleértve a térbeli navigációt, a rövid-távú memóriát és a hosszú-távú memóriát. A második kísérletsorozatunkban idős patkányok NOR tesztben nyújtott diszkrimináló képességére vizsgáltuk a korábban már alkalmazott memantin-PHA-543613 kombinációs kezelést, valamint a memantin PAM vegyülettel való kombinálását. Végül PCR és ELISA teszt alkalmazásával vizsgáltuk a normál és a „patológiás” öregedéssel összefüggő, molekuláris szinten végbemenő expressziós változásokat patkányok memóriáért felelős agyterületein.

A magatartásfarmakológiai kísérleteink eredményei azt mutatják, hogy a memantin-PHA-543613 kombinációs kezelés sikeresen javította mind a patkányok rövid-távú mind a hosszú-távú memória funkcióit a szkopolaminnal szemben. A rövid-távú memóriát tekintve az egyes monokezelések szintén hatékonyak bizonyultak az MWM tesztben, azonban a szkopolamin okozta hosszú-távú memória deficitet kizárólag a kombinált kezelés volt képes enyhíteni, meghaladva ezzel az egyes monokezelések hatásait. Második kísérletsorozatunkban az idős patkányok jelentős kognitív hanyatlásáról számoltunk be. Azonban a memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR-okat serkentő vegyületek (PHA-543613, vagy PAM) kombinációi ebben az esetben is sikeresen enyhítették a patkányok öregedéssel összefüggő memóriaromlását, szemben a monokezelésekkel.

A post mortem vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy az idős állatoknál patológiás jellegű változások is megfigyelhetők. Mind a normál memória teljesítményű mind a memória deficitese idős állatok jelentős up-regulációt mutattak bizonyos gyulladási markereket tekintve (IL-1 $\beta$  és a MIP-1 $\alpha$ ). A neurotróf támogatást tekintve viszont nagy mértékű csökkenés volt megfigyelhető náluk, különösen a memória deficitese idős állatoknál. Ezen kívül az  $\alpha 7$ -nAChR-ok öregedéssel összefüggő expressziós változásairól is beszámoltunk.

Eredményeink pozitív kölcsönhatást jeleznek a memantin és az  $\alpha 7$ -nAChR-okra ható agonisták és PAM vegyületek között, melyet a NCD-ok farmakológiai és természetesen idős patkánymodelljeiben is kimutattunk, megerősítve azt a hipotézist, miszerint az  $\alpha 7$ -nAChR-ok kiemelkedő szerepet játszanak a kombinált kezelések jótékony hatásaiban. Továbbá bizonyítottuk, hogy az idős állatok nagy transzlációs potenciállal rendelkeznek, ugyanis a nagymértékű memória hanyatláson kívül a NCD-okra jellemző patológiás változásokat is képesek modellezni, beleértve az agy megnövekedett gyulladásos állapotát, a neurotróf támogatás csökkenését, vagy az  $\alpha 7$ -nAChR-ok expressziós változásait, releváns adatokat szolgáltatva ezzel az  $\alpha 7$ -nAChR-okat célzó gyógyszer kölcsönhatásokról és kiindulási alapját képezhetik további pre-klinikai gyógyszerfejlesztési programoknak.

## 6. FELHASZNÁLT IRODALOM

- Bali ZK, Inkeller J, Csurgyók R, et al (2015) Differential effects of  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist PHA-543613 on spatial memory performance of rats in two distinct pharmacological dementia models. *Behav Brain Res* 278:404–410.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.030>
- Busquet P, Capurro V, Cavalli A, et al (2012) Synergistic effects of galantamine and memantine in attenuating scopolamine-induced amnesia in mice. *J Pharmacol Sci* 120:305–309. <https://doi.org/10.1254/jphs.12166SC>
- Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA (2010) Alzheimer disease. *Disease-a-Month* 56:484–546. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2010.06.001>
- Deardorff WJ, Feen E, Grossberg GT (2015) The Use of Cholinesterase Inhibitors Across All Stages of Alzheimer’s Disease. *Drugs and Aging* 32:537–547.  
<https://doi.org/10.1007/s40266-015-0273-x>
- Egea J, Buendia I, Parada E, et al (2015) Anti-inflammatory role of microglial  $\alpha 7$  nAChRs and its role in neuroprotection. *Biochem Pharmacol* 97:463–472.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.07.032>
- Haass C, Selkoe D (2022) If amyloid drives Alzheimer disease, why have anti-amyloid therapies not yet slowed cognitive decline? *PLoS Biol* 20:1–15.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001694>

- Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, et al (2018) Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv* 4:575–590.  
<https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.06.014>
- Knorz AL, Quante A (2021) Alzheimer's Disease: Efficacy of Mono- and Combination Therapy. A Systematic Review. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 35:475–486.  
<https://doi.org/10.1177/08919887211044746>
- Koola MM, Nikiforuk A, Pillai A, Parsaik AK (2018) Galantamine-memantine combination superior to donepezil- memantine combination in Alzheimer ' s disease : critical dissection with an emphasis on kynurenic acid and mismatch negativity. *J Geriatr Care Res* 5:57–67
- Maurer S V., Williams CL (2017) The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. *Front Immunol* 8:1489. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01489>
- Morris GP, Clark IA, Vissel B (2014) Inconsistencies and Controversies Surrounding the Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease. *Acta Neuropathol Commun* 2:1–21.  
<https://doi.org/10.1186/s40478-014-0135-5>
- Nikiforuk A, Potasiewicz A, Kos T, Popik P (2016) The combination of memantine and galantamine improves cognition in rats: The synergistic role of the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine and NMDA receptors. *Behav Brain Res* 313:214–218.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.07.023>
- Parsons CG, Danysz W, Dekundy A, Pulte I (2013) Memantine and cholinesterase inhibitors: Complementary mechanisms in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurotox Res* 24:358–369. <https://doi.org/10.1007/s12640-013-9398-z>
- Raina P, Santaguida P, Ismaila A, et al (2008) Effectiveness of cholinesterase inhibitors and memantine for treating dementia: evidence review for a clinical practice guideline. *Ann Intern Med* 148:379–97. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-148-5-200803040-00009>
- Tsoi KKF, Chan JYC, Leung NWY, et al (2016) Combination Therapy Showed Limited Superiority Over Monotherapy for Alzheimer Disease: A Meta-analysis of 14 Randomized Trials. *J Am Med Dir Assoc* 17:863.e1-863.e8.  
<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2016.05.015>



Wallace TL, Porter RHP (2011) Targeting the nicotinic  $\alpha 7$  acetylcholine receptor to enhance cognition in disease. In: *Biochemical Pharmacology*. pp 891–903 doi: 10.1016/j.bcp.2011.06.034.

Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG (2020) Current and Future Treatments in Alzheimer Disease: An Update. *J Cent Nerv Syst Dis* 12:1–12.  
<https://doi.org/10.1177/1179573520907397>

## 7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnak, Dr. Hernádi Istvánnak, aki a PhD éveim alatt végig támogatta szakmai fejlődésemet, továbbá hasznos tanácsaival járult hozzá a kutatómunkám előremeneteléhez.

Köszönet illeti Dr. Bali Zsolt Kristófot a statisztikai analízisekben, eredményeim publikálásában nyújtott segítségéért, valamint a rengeteg szakmai támogatásáért. Továbbá köszönettel tartozom a Transzlációs Idegtudományi Kutatócsoport valamennyi munkatársának, akik valamilyen módon hozzájárultak ahhoz, hogy ez a dolgozat létrejöhesse. Szeretném kiemelni a kutatócsoport tagjai közül barátnőmet Nagy Lili Veronikát, akinek végtelenül hálás vagyok a kísérleteim lebonyolításában nyújtott rengeteg segítségéért, továbbá a sok lelki támogatásáért, amit az évek során kaptam tőle.

Köszönet illeti még az Immunológiai és Biotechnológiai Intézet munkatársait, Dr. Engelmann Pétert és Bodó Kornéliát, akik a biokémiai vizsgálatokban voltak segítségünkre.

Köszönöm Deák Gergőnek és Schmelczer Kittinek, akik nagy odafigyeléssel és precizitással gondozták állatainkat, lehetővé téve ezáltal a kísérleteink eredményes lebonyolítását.

Köszönettel tartozom a Richter Gedeon Nyrt.-nek, hogy kutatásainkhoz biztosította az általuk fejlesztett  $\alpha 7$ -nAChR-okra ható PAM vegyületet.

Továbbá köszönet illeti a Richter Gedeon Nyrt. által létrehozott Richter Gedeon Talentum Alapítványt (székhely: 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.), mert a PhD dolgozat és annak keretében ismertetett tudományos eredményeink részben a Richter Gedeon Talentum Alapítvány támogatásával, „Richter Gedeon kiválósági PhD Ösztöndíj” keretében készültek.

Nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani családomnak a tanulmányaimhoz adott támogatásukért.

## 8. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

### Disszertáció alapjául szolgáló publikációk:

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

**Bruszt, N.,** Bali, Z. K., Tadepalli, S. A., Nagy, L. V., Hernádi, I. (2021). Potentiation of cognitive enhancer effects of Alzheimer's disease medication memantine by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist PHA-543613 in the Morris water maze task. *Psychopharmacology*, 238(11), 3273–3281. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05942-4> **Q1, IF: 3,4**

Bali, Z. K., **Bruszt, N.,** Tadepalli, S. A., Csurgyók, R., Nagy, L. V., Tompa, M., Hernádi, I. (2019). Cognitive Enhancer Effects of Low Memantine Doses Are Facilitated by an Alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist in Scopolamine-Induced Amnesia in Rats. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 73. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00073> **Q1, IF:5,988**

### Értekezéshez kapcsolódó konferencia közlemények:

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

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

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

### **Egyéb publikációk:**

Bali, Z. K., Nagy, L. V., **Bruszt, N.**, Bodó, K., Engelmann, P., Hernádi, Zs., Göntér, K., Tadepalli, S. A., Hernádi, I., Increased brain cytokine level associated impairment of vigilance and memory in aged rats can be improved by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonist treatment (2023) *Geroscience*, Nov 23. doi: 10.1007/s11357-023-01019-6. **Q1, IF: 5,6**

Bali, Z.K., **Bruszt, N.**, Kőszegi, Z., Nagy, L.V., Atlasz, T., Kovács, P., Csupor, D., Csupor-Löffler, B., Hernádi, I. *Aconitum* Alkaloid Songorine Exerts Potent Gamma-Aminobutyric Acid-A Receptor Agonist Action In Vivo and Effectively Decreases Anxiety without Adverse Sedative or Psychomotor Effects in the Rat. (2022) *Pharmaceutics*. Sep 28;14(10):2067. doi: 10.3390/pharmaceutics14102067 **Q1, IF: 5,8**

Tadepalli, S.A., Bali, Z.K., **Bruszt, N.**, Nagy, L.V., Amrein, K., Fazekas, B., Büki, A., Czeiter, E., Hernádi, I. Long-term cognitive impairment without diffuse axonal injury following repetitive mild traumatic brain injury in rats. (2020) *Behav Brain Res*. Jan 27;378:112268. doi: 10.1016/j.bbr.2019.112268 **Q1, IF: 2,95**

Nagy, S.A., Vranesics, A., Varga Zs., Csabai, D., **Bruszt, N.**, Bali, Z. K., Perlaki, G., Hernadi, I., Berente, Z., Miseta, A., Doczi, T., Czeh, B. (2020). Stress-induced microstructural alterations correlate with the cognitive performance of rats: A longitudinal in vivo diffusion tensor imaging study. *Frontiers in Neuroscience*, doi: 10.3389/fnins.2020.00474 **Q1, IF: 4,3**

Bali, Z.K., Inkeller, J., Csurgyók, R., **Bruszt, N.**, Horváth, H., Hernádi, I. (2015) Differential effects of  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist PHA-543613 on spatial memory performance of rats in two distinct pharmacological dementia models. *Behav Brain Res* 278:404-10. doi: 10.1016/j.bbr.2014.10.030 **Q1, IF: 2,95**