

# 科技部補助

## 大專學生研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計畫： 錳離子增強磁振造影評估路易氏體失智症之鼠腦功能 \*  
\* 名稱： 變化 \*  
\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生： 林孟璇  
學生計畫編號： MOST 106-2813-C-040-020-B  
研究期間： 106年07月01日至107年02月28日止，計8個月  
指導教授： 何應瑞

處理方式： 本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學心理學系

中華民國 107年03月12日

## 摘要

失智症一直是老人健康照護中重要的議題，然而目前已知失智症並非只有單一的症狀，而是包含了許多功能性的變化如：記憶力的減退、認知功能的退化、個性改變、妄想或幻覺等，這些症狀是否因大腦結構異常而造成腦區功能上改變，是近年來相關研究致力的目標。

而路易氏體型失智症(Dementia with Lewy bodies, DLB)是一種神經退化型疾病，多半合併著阿茲海默症(Alzheimer's disease)及帕金森氏症(Parkinson's disease)的症狀出現，使診斷造成誤判，近年來路易氏體型失智症的相關研究逐漸增加，主要以將路易氏體型失智症從典型失智症中區別出來為目標，希望在預防及治療上能提供更多的資訊。

但目前學術上，並沒有一個公認且可靠的方法去診斷路易氏體型失智症，現在只能以減少症狀作為治療。而藥物 CEF 已顯示出在神經退化型疾病中具有保護神經的作用，因此本研究希望藉由磁振造影(magnetic resonance imaging, MRI)的錳離子增強磁振造影(manganese-enhanced magnetic resonance imaging, MEMRI)，同時配合 R1 mapping 來量化錳離子推積在特定的腦區中以分析神經的活性，了解藥物 CEF 是否能改善路易氏體型失智症之症狀。

實驗結果顯示，與對照組(C組)相比，DLB(A $\beta$ )大鼠在海馬迴的 CA1 區跟齒狀迴(DG)、尾狀核、殼核(CPu)及黑質緻密部(SNc)的神經元活動減少，而丘腦下核(STN)神經活性增加。但是，只有在 CA1、DG、SNc 有明顯的下降。CPu 和 STN 的部分並未達到統計學意義。治療組(CEF 組)與 DLB 組(A $\beta$  組)比較下，CA1、CPu、SNc 組神經元活動增加，說明注射藥物 CEF 後神經元活動恢復，故藥物 CEF 可能具有治療 DLB 的效果。

藉由我們的結果指出，MEMRI R1 值可以作為 DLB 嚴重程度及治療成果的良好指標，而藥物 CEF 在 DLB 的治療中是具有臨床潛力的，相信本研究可以提供研究人員和臨床醫師十分重要的線索，並有著極大的應用價值及發展價值。

關鍵字:錳離子增強磁振造影、路易氏體型失智症、神經退化型疾病

## 目錄

摘要.....	1
目錄.....	2
第一章、導論.....	3
(一)研究動機與研究問題.....	3
(二)文獻回顧與討論.....	4
第二章、材料與方法.....	8
(一)材料.....	8
(二)研究方法.....	8
第三章、結果與討論.....	9
第四章、結論.....	12
參考文獻.....	13

# 第一章、導論

## (一)研究動機與研究問題

失智症的症狀除了運動功能障礙、記憶力的衰退，還有認知功能方面的退化，隨之帶來的風險，不僅足以影響病患生活能力與人格個性，也影響其人際關係，也增加了醫療與照護人力的負擔。

根據國際失智症協會(Alzheimer's Disease International, ADI)在 2017 年時調查資料推估，2017 年將增加一千萬名失智症案例，而全球失智症人口將達到五千萬人，到了 2050 年人數將高達 1 億 3150 萬人，罹患失智症的患者人數是逐年升高。而 ADI 也估計在 2015 年花費於失智症患者的照護成本為 8180 億美元，2018 年時可能突破 1 兆美元。

而路易氏體型失智症(Dementia with Lewy bodies, DLB)在年長者的神經退化型疾病為第二常見的類型，佔被診斷出的失智症中的 4%，但事實上所有診斷並非完全正確，根據研究指出，在解剖上看到的病例數，約佔 15 到 25%。

通常路易氏體型失智症患者的腦部某些特定區域可找到異常的路易氏體(Lewy Bodies)沉積，路易氏體是  $\alpha$ -synuclein( $\alpha$ -syn)與 amyloid- $\beta$ (A $\beta$ )交互作用所產生的蛋白質沈積，在路易氏體型失智症及巴金森氏症都可以找到，它們影響大腦和神經系統，並隨著時間變化而使病症更加嚴重，目前沒有足夠的資訊顯示為何路易氏體會出現。然而，路易氏體主要和兩個因素有關：神經細胞之間用來攜帶信息的重要神經傳導物質，如乙醯膽鹼及多巴胺不足、或神經細胞間的連接功能喪失而造成神經細胞的死亡，皆造成腦神經功能的退化。

即便 DLB 對於社會的影響是漸漸相關，目前依然無公認且可靠的儀器或方法可以正確診斷此疾病，臨床上主要還是針對症狀進行治療，因此，科學界正努力發展合適的方式，提供作為研究或治療此疾病的工具。

而錳離子增強磁振照影(manganese-enhanced magnetic resonance imaging, MEMRI)對於腦神經活性有直接的敏感度，所以本研究透過向有 A $\beta$  的大鼠注射 ceftriaxone，使用錳離子增強磁振照影對正常大鼠、有 A $\beta$  的大鼠及注射 ceftriaxone 的 A $\beta$  大鼠偵測其腦神經活性，比較組間腦神經活性的差異，目的在了解 ceftriaxone 是否能改善路易氏體型失智症之症狀並找出相關腦區中神經活性的變化，希望能藉由此研究提供後續研究及臨床治療上的新方向。

## (二)文獻回顧與討論

### 1. 路易氏體型失智症及路易氏體

由於目前許多國家進入高齡化社會，神經退化型疾病日益受到重視，而路易氏體型失智症(Dementia with Lewy bodies, DLB)為年長者常見的神經退化型疾病，僅次於阿茲海默症(Alzheimer's disease, AD)，被診斷出的失智症中約有 4%是 DLB，但事實上因 DLB 的病理特徵以及其精神症狀具有與阿茲海默症和帕金森氏症相似的特徵，特別是在運動障礙和認知障礙上，造成所有診斷並非完全正確。根據研究指出，在解剖上看到的病例數，約佔 15 到 25%。

大約在 40 年前，Kosaka 和他的同事首次提出了一個失智症患者的腦部解剖的案例，發現在患者的大腦皮層、邊緣皮質、皮質下核、中腦及腦幹有路易氏體(Lewy bodies)聚積，所以他們推測路易氏體型失智症可能是阿茲海默症(Alzheimer's disease, AD)及帕金森氏症(Parkinson's disease, PD)的組合，或可能是一種獨立的失智症類型。

路易氏體為蛋白纖維在神經元細胞質中沉積，是 DLB 的主要病理生理學發現之一，可見於 DLB 患者的大腦皮質、中腦和腦幹，Frederick Henry Lewy 於 1912 年率先描述這些異常的蛋白質結構，因此命名。而  $\alpha$ -synuclein( $\alpha$ -syn)是路易氏體的主要成分，但目前對於  $\alpha$ -syn 的功能尚未完全了解，其可能參與了突觸小泡和細胞膜的穩定性以及神經可塑性。

路易氏體異常沉積的原因包括基因突變和與其他蛋白質的相互作用，導致神經絲纏繞，其廣泛聚積會引起神經元中線粒體功能的障礙，進一步造成細胞內氧化逆境、蛋白質折疊錯誤等，導致細胞損傷，特別是在黑質緻密部(substantia nigra pars compacta, SNc)的多巴胺神經元最容易受到損害，路易氏體沉積因此與許多類型的神經退化型疾病有關，此類疾病也被稱為突觸核蛋白病(synucleinopathies)。

儘管  $\alpha$ -syn 與神經毒性有明顯的關聯，但野生型(wild-type)  $\alpha$ -syn 的過度表達(protein overexpression)不足以引發蛋白質聚集，代表可能有其他病理因素促成  $\alpha$ -syn 聚集的過程，而有研究指出 Amyloid- $\beta$ (A $\beta$ )的沉積與  $\alpha$ -syn 的表現增強有關， $\alpha$ -syn 經常發生在 PD 患者的大腦中，而 A $\beta$  經常發生在 AD 患者大腦的皮層及邊緣系統，使得 DLB 的病理特徵和精神症狀類似於 AD 與 PD 的病徵，特別是在運動障礙和認知障礙方面，也因此我們以有 amyloid- $\beta$  的大鼠作為動物模型。

## 2. 麩胺酸與頭孢曲松(ceftriaxone)

先前有研究指出，腦中的麩胺酸系統能調節運動功能、正強化(positive Reinforcement)、注意力和工作記憶。麩胺酸是哺乳動物中樞神經系統中的興奮性神經傳導物質，參與興奮性中毒和神經退化型疾病。

麩胺酸過量釋放可能過度刺激 NMDA 受體，引起神經元鈣超載並引發細胞凋亡。近期一項使用磁共振頻譜(magnetic resonance spectroscopy)的研究發現，神經退化型疾病的患者在某些腦區發現麩胺酸神經傳遞失調，神經變性發生在 DLB 患者的腦皮質、紋狀體(striatum)和海馬(hippocampus)。先前的研究證據也顯示麩胺酸神經系統過度活化(glutamatergic hyperactivity)與神經發炎可能也參與 DLB 的神經退化。

麩胺酸轉運子(glutamate transporter 1, GLT-1)是在星形膠質細胞中表達的主要的麩胺酸轉運蛋白之一，調節突觸中的麩胺酸濃度，並負責超過 90% 的麩胺酸攝取。目前已有證據顯示 GLT-1 的下游調控(downregulation)導致細胞外液中麩胺酸蓄積和神經元死亡，引發神經疾病，包括阿茲海默症、癲癇、缺血和中風。

釋放在突觸的麩胺酸被膠質細胞經由 GLT-1 吸收，終止麩胺酸在突觸的功能，由於麩胺酸神經系統過度活化導致興奮性中毒、神經變性和記憶喪失，增加突觸攝取麩胺酸可能可以防止興奮毒性細胞死亡。

而現在已經有研究指出頭孢曲松可以增加麩胺酸轉運子(glutamate transporter 1, GLT-1)之表現，降低麩胺酸神經系統的活性，減少神經毒性與發炎，並防止引起神經毒性的蛋白質的表達和病理聚集，並改善認知缺陷和神經退化性改變等功能，在神經退化性疾病之動物模式可以改善認知功能並且具有神經保護的效果。

### 3. 錳離子增強磁振照影與 R1 mapping

錳離子增強磁振照影(manganese-enhanced magnetic resonance imaging, MEMRI)是一種重要的成像工具，可用於直接測量活體動物中的神經元活動依賴事件。

神經元要釋放神經傳導物質，需要鈣離子( $\text{Ca}^{2+}$ )經離子通道進入神經元，而順磁性的錳離子( $\text{Mn}^{2+}$ )是一種鈣離子( $\text{Ca}^{2+}$ )的化學類似物，故錳離子具有可通透鈣離子通道的特性，通過電壓閘門控制型的鈣離子通道，進入到活化的神經細胞內，並滯留其中。而鈣離子濃度升高與活化神經元中的放電活動有關，使得錳離子在神經元中的聚積可以根據神經元的活性來定量分析。此外，順磁性物質會造成物質的縱向弛豫時間(longitudinal relaxation time, T1)縮短，而增強 T1 權重影像的訊號。

在進行磁振照影前，錳離子以磁振照影對比劑(MRI contrast)的形式注射到活體大鼠內，大鼠經腹膜內注射氯化錳( $\text{MnCl}_2$ )，神經元活化後吸收錳離子。錳離子進入活化的神經細胞後，增強了有錳離子堆積之組織的 T1 權重影像訊號，錳離子依照神經的活性堆積在特定腦區，使得其可以經測量絕對 T1 值(或 R1 值)被量化分析。由於 T1 訊號強度造成的組織對比是由腦區內不同堆積量的錳離子決定，所以透過量測不同腦區的 T1 影像的訊號強度，可得知各腦區的不同活化程度。

而為了提高錳離子濃度的偵測靈敏度，使用一種名為 rapid acquisition with relaxation enhancement with variable time of repetition (RARE-VTR)的 spin-echo saturation recovery sequence 來取得 R1 mappings。而要取得 R1 值，須配合使用 6 種不同 TR (Repetition time)來計算出 T1 值，以得到 R1 值， $R1(1/\text{ms})= 1/T1$ ，並藉由量測到的獨立的 R1 值，量化推積在特定腦區中的錳離子。

由於訊號強度增強取決於錳離子是否存在，有別於功能性磁振造影之訊號由血氧濃度的變化決定，且錳離子在腦區中的清除緩慢，半衰期大約為 51-74 天(對於成年大鼠腦部)，使增強效果在活體被喚醒之後依然可偵測到，使錳離子對腦神經活性有直接的敏感度。

#### 4. ROI(region of interest)

大部分成年動物的腦區中的神經元不會再增殖和分化，但目前至少有兩個腦區證實有神經發生(neurogenesis):(1)前腦室下區(forebrain subventricular zone, SVZ)，新生的神經元會遷移到遷移到嗅球和紋狀體(striatum)；(2)海馬齒狀迴(dentate gyrus, DG)的亞顆粒區(sub-granular zone, SGZ)。

海馬在認知功能中有著重要作用，並且對於許多神經疾病具有顯著的認知影響，DG中的顆粒細胞(granule cells)是在成年哺乳動物大腦中持續產生新神經元的兩種細胞池之一，廣泛的顆粒細胞死亡可能導致認知缺陷，特別是在學習和記憶測試中。

而路易氏體的異常沉積常見於患者的大腦皮層、邊緣皮質、皮質下核、中腦及腦幹，特別是在黑質緻密部(substantia nigra pars compacta, SNc)的多巴胺神經元最容易受到損害。

目前已知基底核主要參與認知功能及涉及運動功能，且海馬迴與記憶功能、認知功能密切相關，而認知功能、運動問題及記憶力的衰減都是失智症顯著的病徵。

故本研究主要圈選的ROI為在冠狀面上紋狀體(striatum)，包括尾狀核及殼核(caudate and putamen, CPu)、丘腦下核(subthalamic nucleus, STN)、黑質緻密部(substantia nigra pars compacta, SNc)、海馬迴(hippocampus)的CA1區及齒狀迴(dentate gyrus, DG)(Fig. 1)，等與神經退化型疾病相關之腦區。



## 第二章、材料與方法

### (一)材料

本研究以動物模型作為研究對象，共有 16 隻大鼠，將所有大鼠分為 3 組，包含 5 隻經假手術(sham-operated)的大鼠作為控制組(C 組)、5 隻有 amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) 的大鼠( $A\beta$  組)，以及 6 隻有 DLB 但經腹膜內注射 ceftriaxone 的大鼠作為治療組(CEF 組)，注射天數為 14 天。

全部的大鼠在第 13 天皆經腹膜內注射 40 mg/kg 的氯化錳( $MnCl_2$ )，並在第 14 天以 RARE-VTR 進行 MRI 的腦掃描。

所得數據以 MATLAB (MATrix LABoratory)、ImageJ (Image processing and analysis in Java, NIH Image, U.S.A.) 等軟體進行影像分析。

### (二)研究方法

#### 1. MRI 影像擷取(MRI data acquisition)

本研究使用 7-Tesla MRI (Bruker BioSpec, Karlsruhe, Germany)，而 R1 mappings 須經由 RARE-VTR sequence 來取得，使用 6 種 TR 以得到 6 組影像。RARE-VTR sequence 之參數如下：6 個 TR，TR= 500, 750, 1000, 1500, 2500, 及 3500 ms；TE=8.5 ms；其他參數設定為：FOV= 25 x 25( $mm^2$ )；Matrix size=160 x 160；Slice thickness= 0.7mm；Slices=20。

#### 2. 影像處理及數據分析

所得原始影像以撰寫好的 Matlab 程式來計算 R1 mappings，經由 6 組不同 TR 的影像計算出 T1 值，並得到 R1 值( $R1= 1/T1$ )，以獲得 R1 mappings。

在以 ImageJ 在冠狀面(coronal plane)經由手動圈選 ROIs(regions of interest)來測量 R1 值，並計算 ROI 內的所有體素(voxel)的平均信號強度及左右兩個大腦半球的平均值，再以統計分析計算組間 R1 值的差異，設定 P 值 $<0.05$  即具有統計上的意義。

## 第三章、結果與討論

### (一) R1 mapping

藉由 R1 mapping 的結果，進行統計分析後得到組間的差異(Fig. 2)，可以看到 A $\beta$  組與控制組(C 組)相比，DLB 大鼠的腦神經元活性在腦區 CA1、DG、CPu、SNc 中表現出降低的趨勢，但是在 STN 中表現出增加的活性。然而，只有在 CA1、DG 和 SNc 上有顯著的變化，在 CPu 和 STN 的結果未達到統計學意義。

治療組(CEF 組)與 A $\beta$  組比較，在 CA1、CPu 和 SNc 的神經元活性增加，且 SNc 的數據具有統計上的意義，這表明注射 ceftriaxone 後神經元活動恢復。

A $\beta$  組與 C 組相比，其神經活性下降代表其神經的功能衰減或喪失。由於 DLB 之症狀與記憶、認知及運動問題相關。據我們所知，DLB 的病理特徵和精神症狀上類似於 AD 與 PD 的病徵，特別是在運動障礙和認知障礙方面。CPu 屬於紋狀體(striatum)，為基底核的組成之一，目前已知基底核主要功能為意識活動的調節、自主運動的控制和運動反應，同時也參與高級認知功能，基底核的功能衰減或喪失將導致多種運動和認知障礙；且失智症最為明顯的症狀即為記憶功能的變化，而在 AD 中，海馬是首先受到損傷的區域，導致其記憶功能的異常；路易氏體的異常沉積特別常見於患者的 SNc，造成多巴胺神經元受到損害；而相較於 C 組，A $\beta$  組在 STN 的神經活性明顯提高，有文獻顯示出 STN 的神經元在 PD 中有過度活化的現象，其過度活化被認為是神經放電的突發模式。以上都與我們的結果相符合。

CEF 組與 A $\beta$  組相較下，注射 ceftriaxone 的 CEF 組之神經元活動恢復，且根據過去研究，已知 ceftriaxone 對於神經退化性疾病具有改善功能及神經保護的效果，依照我們的研究結果，表明 ceftriaxone 在治療 DLB 方面可能具有臨床潛力。

### (二) 研究限制

由於本研究的樣本數相對較小，可能影響結果的顯著性，未來希望能有更多的樣本量。

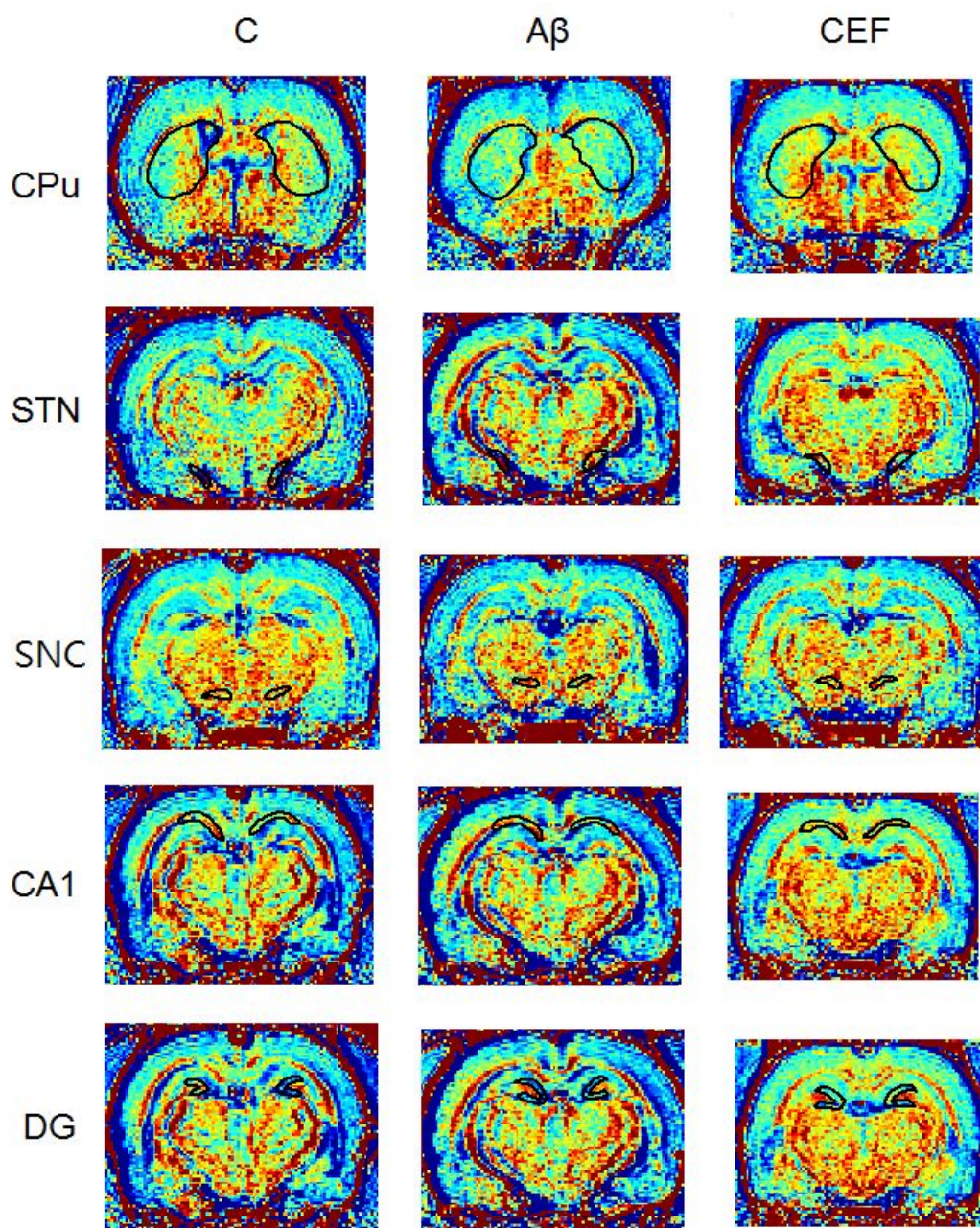
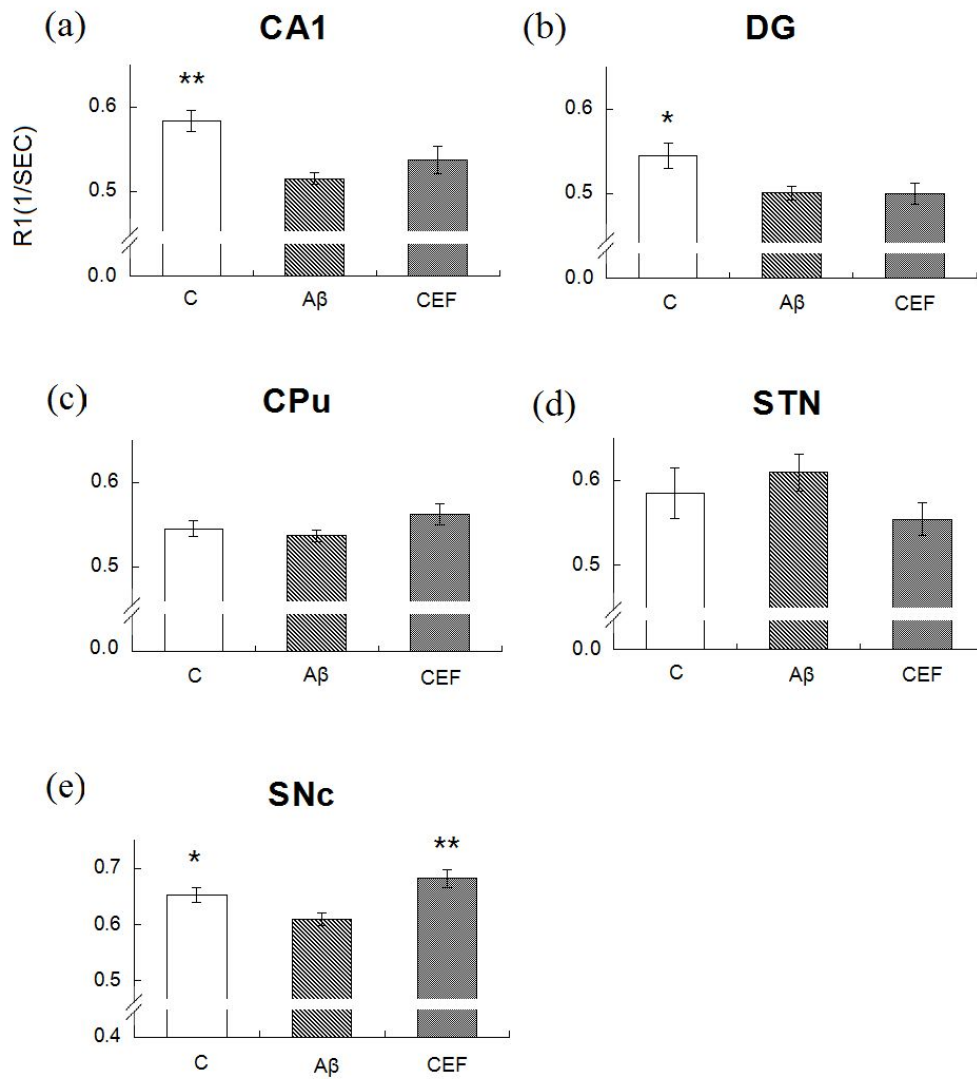


Figure 1. 控制組(C組)、DLB組(A $\beta$ 組)及治療組(CEF組)的R1 mapping，所圈選的ROIs由圖示中的黑色輪廓線表示，ROIs為在冠狀面上的尾狀核及殼核(caudate and putamen, CPU)、丘腦下核(subthalamic nucleus, STN)、黑質緻密部(substantia nigra pars compacta, SNC)、海馬迴(hippocampus)的CA1區及齒狀迴(dentate gyrus, DG)。



\*: 與 Aβ 組比較，p-value<0.05; \*\*: 與 Aβ 組比較，p-value<0.01。

## 第四章、結論

根據我們的結果顯示，與對照組(C組)相比，DLB 大鼠(A $\beta$ 組)在海馬迴的 CA1 區跟齒狀迴(DG)、尾狀核、殼核(CPu)及黑質緻密部(SNc)的神經元活動減少，而丘腦下核(STN)神經活性增加，並在 CA1、DG、SNc 有顯著的下降。治療組(CEF 組)與 DLB 大鼠(A $\beta$ 組)比較下，CA1、CPu、SNc 組神經元活動增加，說明注射頭孢曲松後，神經元活動恢復。我們的結果表明 MEMRI R1 值可以作為 DLB 嚴重程度和治療效果的良好指標，頭孢曲松在治療 DLB 方面可能具有臨床潛力，希望本研究結果能提供研究者與臨床工作者重要的線索及幫助，除此之外，期盼本研究能使往常針對症狀治療的療程進而推往從問題根源來根治病症。

## 参考文献

- [1] McKeith I, Mintzer J, Aarsland D, et al. Dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2004; 3: 19-28.
- [2] Neef D, Walling AD. Dementia with Lewy bodies: an emerging disease. *American Family Physician*. 2006, Apr; 73(7): 1223-9.
- [3] Lippa CF, Duda JE, Grossman M, et al. DLB and PDD boundary issues: diagnosis, treatment, molecular pathology, and biomarkers. *Neurology*. 2007, Mar; 68(11): 812-9.
- [4] Trojanowski JQ, Goedert M, Iwatsubo T, et al. Fatal attractions: abnormal protein aggregation and neuron death in Parkinson's disease and Lewy body dementia. *Cell Death & Differentiation*. 1998, Oct; 5(10): 832-7.
- [5] Masters CL, Selkoe DJ. Biochemistry of amyloid  $\beta$ -protein and amyloid deposits in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012, Jun; 2(6): a006262.
- [6] Kosaka K, Oyanagi S, Matsushita M, et al. Presenile dementia with Alzheimer-, Pick- and Lewy-body changes. *acta neuropathologica*. 1976, Nov; 36(3): 221-33.
- [7] Kövari E, Horvath J, Bouras C, et al. Neuropathology of Lewy body disorders. *Brain Research Bulletin*. 2009, Oct; 80(4-5): 203-10.
- [8] Londos E, PassantU, Gustafson L, et al. Neuropathological correlates to clinically defined dementia with Lewy bodies. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2001, Jul; 16(7): 667-79.

- [9] Schulz-Schaeffer WJ. The synaptic pathology of alpha-synuclein aggregation in dementia with Lewy bodies, Parkinson's disease and Parkinson's disease dementia. *Acta Neuropathologica*, 2010, Aug; 120(2): 131-43.
- [10] Trojanowski JQ, Lee VM. Aggregation of neurofilament and alpha-synuclein proteins in Lewy bodies: implications for the pathogenesis of Parkinson disease and Lewy body dementia. *Archives of Neurology*. 1998, Feb; 55(2): 151-2.
- [11] Bieschke J, et al. Small molecule oxidation products trigger disease-associated protein misfolding. *Accounts of Chemical Research*. 2006; 39(9): 611-9.
- [12] Pletnikova O, West N, Lee MK, et al. Abeta deposition is associated with enhanced cortical alpha-synuclein lesions in Lewy body diseases. *Neurobiology of Aging*. 2005, Aug-Sep; 26(8): 1183-92.
- [13] Lesné S, Koh MT, Kotilinek L, et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. *Nature*. 2006, Mar; 440(7082): 352-7.
- [14] Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, et al. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature*. 1997, Aug; 388(6645): 839-40.
- [15] Emre M. Dementia associated with Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. 2003, Apr; 2(4): 229-37.
- [16] Massaad CA, Pautler RG. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *Methods in Molecular Biology*. 2011; 711: 145-174.
- [17] Eschenko O, et al. Mapping of functional brain activity in freely behaving rats during voluntary running using manganese-enhanced MRI: implication for longitudinal studies. *Neuroimage*. 2009; 49(3): 2544-55.

- [18] Sliva AC, Lee JH, Koretsky AP. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI): methodological and practical considerations. *NMR in Biomedicine*. 2004, Dec; 17(8): 532-43.
- [19] Lin YJ, Koretsky AP. Manganese ion enhances T1-weighted MRI during brain activation: an approach to direct imaging of brain function. *Magnetic Resonance in Medicine*. 1997, Sep; 38(3): 378-88.
- [20] Kikuta S, Nakamura Y, Yamamura Y, et al. Quantitative activation-induced manganese-enhanced MRI reveals severity of Parkinson' s disease in mice. *Scientific Reports*. 2015, Aug; 5: 12800.
- [21] Thöne-Reineke C, Neumann C, Namsolleck P, et al. The beta-lactam antibiotic, ceftriaxone, dramatically improves survival, increases glutamate uptake and induces neurotrophins in stroke. *Journal of Hypertension*. 2008, Dec; 26(12): 2426-35.
- [22] Rothstein JD, Patel S, Regan MR, et al. Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*. 2005, Jan;433(7021): 73-7.
- [23] Lipski J, Wan CK, Bai JZ, et al. Neuroprotective potential of ceftriaxone in in vitro models of stroke. *Neuroscience*. 2007, May; 146(2): 617-29.
- [24] Hota SK, Barhwal K, Ray K, et al. Ceftriaxone rescues hippocampal neurons from excitotoxicity and enhances memory retrieval in chronic hypobaric hypoxia. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2008, May; 89(4): 522-32.
- [25] Cepeda C, Levine MS. Dopamine and N-methyl-D-aspartate receptor interactions in the neostriatum. *Developmental Neuroscience*. 1998. 20(1): 1-18.



- [26] Johnston MV. Excitotoxicity in neonatal hypoxia. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2001. 7(4): 229-34.
- [27] Luetjens CM, Bui NT, Sengpiel B, et al. Delayed mitochondrial dysfunction in excitotoxic neuron death: cytochrome c release and a secondary increase in superoxide production. *Journal of Neuroscience.* 2000, Aug; 20(15): 5715-23.
- [28] Perez Velazquez JL, Frantseva MV, Carlen PL, et al. In vitro ischemia promotes glutamate-mediated free radical generation and intracellular calcium accumulation in hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience.* 1997, Dec; 17(23): 9085-94.
- [29] Chihab R, Oillet J, Bossenmeyer C, et al. Glutamate triggers cell death specifically in mature central neurons through a necrotic process. *Molecular Genetics and Metabolism.* 1998, Feb; 63(2): 142-7.
- [30] Lin CL, Kong Q, Cuny GD, et al. Glutamate transporter EAAT2: a new target for the treatment of neurodegenerative diseases. *Future Medicinal Chemistry.* 2012, Sep; 4(13): 1689-700
- [31] Kanai Y, Hediger MA. The glutamate and neutral amino acid transporter family: physiological and pharmacological implications. *European Journal of Pharmacology.* 2003, Oct; 479(1-3): 237-47.
- [32] Hediger MA, Welbourne TC. Introduction: glutamate transport, metabolism, and physiological responses. *American Journal of Physiology.* 1999, Oct; 277(4 Pt 2): F477-80.
- [33] Kim K, Lee SG, Kegelman TP, et al. Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: opportunities for developing novel therapeutics. *Journal of Cellular Physiology.* 2011, Oct; 226(10): 2484-93.

- [34] Maragakis NJ, Dietrich J, Wong V, et al. Glutamate transporter expression and function in human glial progenitors. *Glia*. 2004, Jan; 45(2): 133-43
- [35] Furuta A, Rothstein JD, Martin LJ, et al. Glutamate transporter protein subtypes are expressed differentially during rat CNS development. *Journal of Neuroscience*. 1997, Nov; 17(21): 8363-75..
- [36] Nicholls D, Attwell D. The release and uptake of excitatory amino acids. *Trends in Pharmacological Sciences*. 1990, Nov; 11(11): 462-8.
- [37] Hunsaker MR, Thorup JA, Welch T, Kesner RP, et al. The role of CA3 and CA1 in the acquisition of an object-trace-place paired-associate task. *Behavioral Neuroscience*. 2006, Dec; 120(6): 1252-6.
- [38] Plaitakis A, Shashidharan P. Glutamate transport and metabolism in dopaminergic neurons of substantia nigra: implications for the pathogenesis of Parkinson's disease. *Journal of Neurology*. 2000, Apr; 247 Suppl 2: II25-35.
- [39] Tsai ST, Chuang WY, Kuo CC, et al. Dorsolateral subthalamic neuronal activity enhanced by median nerve stimulation characterizes Parkinson's disease during deep brain stimulation with general anesthesia. *Journal of Neurosurgery*. 2015, Dec; 123(6): 1394-400.
- [40] Mosley RL, Benner EJ, Kadiu I, et al. Neuroinflammation, Oxidative Stress and the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Clinical Neuroscience Research*. 2006, Dec; 6(5): 261-281.
- [41] Takeda A, Sawashita J, Okada S, et al. Biological half-lives of zinc and manganese in rat brain. *Brain Research*. 1995, Oct; 695(1): 53-8.

[42] Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine*. 1998, Nov; 4(11): 1313-7.