

*Dr hab. n farm. Marta Kruk-Słomka*

*Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką*

*Uniwersytet Medyczny w Lublinie*

## **Rola układu cholinergicznego i endokannabinoidowego w procesach kognitywnych i zaburzeniach emocjonalnych będących konsekwencją deficytów pamięciowych**

### *O pamięci słów kilka...*

Czym jest pamięć? Pamięć jest zjawiskiem o określonym podłożu neurobiologicznym; polega na tworzeniu tzw. engramów czyli jednostek pamięci, ich składowaniu, przetwarzaniu i przywoływaniu. Prawidłowe działanie procesów pamięciowych jest niezbędnym warunkiem do odbioru bodźców z otaczającego nas środowiska i wykorzystywania ich w celu podjęcia odpowiednich decyzji czy wzbogacania naszego potencjału intelektualnego. Biorąc pod uwagę tak istotną rolę pamięci, poważne, nieodwracalne zaburzenia procesów poznawczych spowodowane organiczną chorobą mózgu mogą spowodować utratę osobowości i uniemożliwić samodzielne, świadome funkcjonowanie w otaczającym nas świecie.

Najczęściej i najwcześniej ujawniającym się zaburzeniem poznawczym jest stopniowe pogorszenie pamięci. U większości ludzi osłabienie pamięci występuje fizjologicznie i wiąże się z naturalnym procesem starzenia się mózgu. Niestety, należy pamiętać, że zaburzenia kognitywne występować mogą często w przebiegu wielu chorób ośrodkowego układu nerwowego (OUN), a najczęściej łączone są z chorobą neurodegeneracyjną, jaką jest choroba Alzheimera (AD). Co więcej trudno jest precyzyjnie na początku określić czy problemy z pamięcią są wynikiem procesów fizjologicznych czy towarzyszą już procesom patologicznym. I kiedy należy podjąć leczenie farmakologiczne.

Celowe jest więc jak najdokładniejsze ustalenie mechanizmów zaangażowanych w pobieranie informacji, ich zapisywanie, przechowywanie, przetwarzanie oraz przywoływanie. Zrozumienie zjawisk leżących u podstaw formowania się szlaków pamięciowych może pomóc w opracowaniu coraz skuteczniejszych metod farmakoterapii chorób OUN, przebiegających z deficytami pamięci.

### ***Anatomiczne i molekularne podłoże procesów kognitywnych***

Nie istnieje pojedyncza anatomiczna struktura odpowiadająca za procesy pamięci. Poszczególne rodzaje pamięci zlokalizowane są w różnych częściach mózgu. Generalizując, strukturą mózgu odgrywającą główną rolę w rozwoju pamięci przestrzennej jest: hipokamp. Inne struktury ważne dla procesów pamięci to: ciało migdałowe, kora przedczołowa, jądro ogoniaste oraz skorupa. Natomiast pod względem molekularnym w procesach pamięci i uczenia główną rolę odgrywają dwa układy: układ cholinergiczny i układ glutaminianergiczny. Układ glutaminianergiczny pełni zasadniczą funkcję w tworzeniu śladów pamięciowych. W zarządzaniu śladami pamięciowymi główną rolę odgrywa układ cholinergiczny przodomózgowia.

### ***Rola układu cholinergicznego w procesach kognitywnych***

Układ cholinergiczny zaangażowany jest więc przede wszystkim w wyższe funkcje korowe związane z pamięcią, uczeniem się, koncentracją i uwagą. Układ ten obejmuje: anatomiczne struktury cholinergiczne, receptory cholinergiczne oraz neuroprzekaźniki.

#### *Struktury cholinergiczne*

Pod względem anatomicznym główne ośrodki cholinergiczne zlokalizowane są w podstawnej części przodomózgowia i pniu mózgu. W przodomózgowiu głównym jądrem cholinergicznym jest jądro podstawne Meynerta, skąd biegną szlaki korowe odpowiadające za takie funkcje jak: pamięć, uwaga, detekcja, selekcja, dyskryminacja i przetwarzanie bodźców sensorycznych. Natomiast projekcje cholinergiczne rozpoczynające się w pniu mózgu rozchodzą się do wielu obszarów mózgu, w tym do kory przedczołowej, wzgórza, podwzgórza, ciała migdałowego i hipokampa. Te szlaki, które rozpoczynają się w pniu mózgu odpowiadają za wzbudzenie oraz funkcje poznawcze [Stahl, 2010a; Stahl, 2010b].

#### *Neuroprzekaźniki*

Głównym neuroprzekaźnikiem układu cholinergicznego jest acetylocholina (ACh). Jest to ester kwasu octowego i choliny, który powstaje przy udziale acetylotransferazy cholinowej. Cholina jest dostarczana do OUN przez krew, a następnie w drodze aktywnego transportu jest pobierana do neuronów. ACh jest magazynowana w pęcherzykach synaptycznych i w wyniku depolaryzacji błony komórkowej jest uwalniana do przestrzeni synaptycznej. Po uwolnieniu z ziarnistości, ACh wiąże się z odpowiednimi receptorami błony postsynaptycznej wywołując określony efekt metaboliczny. Rozkład ACh w połączeniach nerwowo-mięśniowych zachodzi

poprzez działanie dwóch enzymów z grupy cholinoesteraz: acetylocholinesterazy (AChE), zlokalizowanej w OUN, i butyrylocholinesterazy (BuChE) (niespecyficzna cholinoesteraza, pseudocholinoesteraza, cholinoesteraza osoczowa), obecnej w tkankach i narządach obwodowych m.in. w wątrobie, jak również w gęstwinie. Powstała w wyniku działania tych enzymów cholina jest zwrotnie wchłaniana do neuronu wskutek aktywnego działania transportera dla choliny.

ACh jest neuroprzekaźnikiem w OUN, układzie autonomicznym przywspółczulnym przed- i pozazwojowym, współczulnym przedzwojowym oraz transmiterem w płycie motorycznej. Dowiedziono, że poziom ACh znacznie wzrasta w trakcie procesu myślowego, w szczególności w początkowym jego etapie, który wymaga wzmożenia uwagi, jak i również na etapie konsolidacji pamięci. Zwiększoną sekrecją ACh odnotowano przede wszystkim w hipokampie i korze mózgowej, zasadniczych strukturach mózgowych zaangażowanych w procesy kognitywne [Kopf i wsp., 2001; Power wsp., 2008].

### *Receptory cholinergiczne*

Rozróżnia się dwa typy receptorów cholinergicznych: muskarynowe (mAChRs) i nikotynowe (nAChRs). Nazwy ich jest związana z wybiórczym pobudzaniem odpowiednio przez muskarynę i nikotynę. ACh może pobudzać oba typy receptorów, dzięki możliwości przybierania różnych form konformacyjnych.

mAChRs - występujące w synapsach obwodowych zakończeń przywspółczulnych i znajdują się w obrębie błony komórki efektorowej. Wśród receptorów mAChRs wyróżnia się ich poszczególne typy: M1-M6, różniące się sekwencją aminokwasów, białkiem sprzęgającym, układem enzymatycznym i lokalizacją. Ośrodkowe mAChRs (zwłaszcza M1) uczestniczą w wielu funkcjach mózgowych, takich jak m. in.: pamięć, uczenie.

nAChRs – znajdują się komórki zwoju autonomicznego. nAChRs są pierwszymi receptorami z rodziny jonotropowych bramkowanych ligandem. Wśród nAChRs wyróżnia się receptory typu mięśniowego - zlokalizowane na połączeniach nerwowo-mięśniowych - uczestniczą w transmisji nerwowo-mięśniowej oraz typu neuronalnego, które występują na neuronach pozazwojowych, w rdzeniu nadnerczy oraz OUN i pośredniczą w wielu funkcjach układu nerwowego. m.in. w procesach pamięci i uczenia się.

Receptor nikotynowy zbudowany jest w zależności od lokalizacji z pięciu jednakowych lub różnych podjednostek. Skład podjednostek determinuje również wiele cech danego

receptora np.: kinetykę kanału, swoistość ligandów i ich powinowactwo. Receptor nikotynowy występujący w synapsach nerwowo-mięśniowych to oligomer zbudowany z kombinacji podjednostek  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  lub  $\epsilon$ , które tworzą ściany kanału dla jonów sodu i potasu. Neuronalne receptory nikotynowe są bramkowanymi ligandem kanałami jonowymi obecnymi w synapsach układu nerwowego. Na neuronach są umiejscowione dwie klasy neuronalnych nAChRs, heteromeryczne i homomeryczne, które różnią się od siebie właściwościami farmakologicznymi i pełnionymi funkcjami fizjologicznymi. Neuronalne nAChRs składają się z pięciu identycznych podjednostek  $\alpha 7$ ,  $\alpha 8$ , lub  $\alpha 9$  (receptor homopentameryczny) i mogą stanowić kombinację podjednostek  $\alpha 2$ - $\alpha 6$  lub  $\alpha 10$  z podjednostkami  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ ,  $\beta 4$  (receptor heteropentameryczny). Do tej pory opisano prawie 30 podtypów neuronalnych nAChRs będących kombinacją podjednostek, a za najczęściej wstępującą w mózgu konfiguracją uznaje się:  $\alpha 7$ ,  $\alpha 4\beta 2$  i  $\alpha 3\beta 4$ . Podjednostki  $\alpha 7$  i konfiguracja podjednostek  $\alpha 4\beta 2$  uważa się za najbardziej zaangażowane w procesy kognitywne.

#### *Udział receptorów $\alpha 7$ -nAChRs w procesach kognitywnych*

Receptor  $\alpha 7$ -nAChR jest jednym z głównych podtypów cholinergicznym receptorów nikotynowych obecnych w mózgu. Receptory te u człowieka są umiejscowione w hipokampie (m.in. warstwa promienista, podpora hipokampa, kora śródwęchowa, zakręt zębaty), śródmózgowiu (m.in. jądro czerwienne, istota szara okołowodociągowa, istota czarna), korze mózgu, przodomózgowiu, wzgórzu, podwzgórzu, zwojach podstawy i mózdzku.  $\alpha 7$ -nAChRs rozmieszczone w układzie limbicznym i korze czołowej pełnią ważną rolę w funkcjach poznawczych, zwłaszcza w pamięci operacyjnej i referencyjnej.

Podjednostka  $\alpha 7$  jest kodowana przez gen *CHRNA7* na chromosomie 15 człowieka. Obniżona ekspresja *chrna7* i funkcja receptora  $\alpha 7$ -nACh jest związana z wieloma chorobami, m.in. schizofrenią, chorobą dwubiegunową, zaburzeniami uczenia się, zespołem nadpobudliwości z deficytem uwagi (ADHD), AD, autyzmem i padaczką. Dane te otwierają nowe możliwości terapii powyższych chorób.

Wśród potencjalnych możliwości terapii chorób przebiegających z upośledzeniem funkcji poznawczych, szczególne miejsce zajmują agoniści i pozytywne allosteryczne modulatory  $\alpha 7$ -nAChRs. W ostatnich latach prowadzono wiele doświadczeń na zwierzętach oraz badań klinicznych z wykorzystaniem ligandów  $\alpha 7$ -nAChRs [Frątczak i wsp., 2013].

## AD

Wśród wszystkich schorzeń typu otępiennego, AD znajduje się na pierwszym miejscu jeśli chodzi o częstość występowania. Szacuje się, że na świecie na AD choruje ok. 30 mln, z czego w Polsce jest ponad 200 tys. Jest to postępująca choroba neurodegeneracyjna, w przebiegu której dochodzi do przyspieszonego obumierania neuronów, szczególnie cholinergicznym, w wielu obszarach mózgu, takich jak kora śródmózgowa, hipokamp, przodomózgowie podstawne, prążkowie brzuszne, jak również kora nowa. Przyspieszone wymieranie neuronów cholinergicznym spowodowane jest produkcją dwóch patologicznych złogów białkowych, odkładających się zarówno w samych komórkach nerwowych, jak i pomiędzy komórkami nerwowymi, a których pojawienie się w mózgu prowadzi do obumierania neuronów, na drodze zaprogramowanej śmierci komórkowej, tzw. apoptozy. Na tej podstawie wyróżniono dwa neuropatyczne objawy AD odpowiadające za zmiany neurodegeneracyjne w mózgu: obecność w mózgu patologicznych białek beta ( $\beta$ )-amyloidu oraz białka tau.

### *Rola układu cholinergicznego w przebiegu AD*

Jak już wspomniano podstawą patologii AD jest spadek transmisji cholinergicznym. U pacjentów z AD obserwuje się: utratę połączeń synaptycznych, głównie cholinergicznym; zanik neuronów w jądrze podstawnym Meynerta, znaczny spadek gęstości nAChRs, (zwłaszcza podjednostki  $\alpha 4\beta 2$  oraz  $\alpha 7$ ), głównie w obszarach mózgu ściśle zaangażowanych w formowanie się szlaków pamięciowych: korze mózgu i hipokampie, a także neurotoksyczne działanie białek  $\beta$ -amyloidu w płytkach neuronalnych na  $\alpha 7$ - nAChR. Co ciekawe, wykazano także, że obszary mózgu charakteryzujące się największą ekspresją  $\alpha 7$ -nAChRs są bardziej podatne na neuropatologię związane z AD. Dodatkowo u pacjentów z AD zaobserwowano spadek ekspresji acetylotransferazy cholinowej w całej korze mózgowej o 50-90%, co warunkuje drastyczny spadek stężenia ACh i ogólne zaburzenie funkcji poznawczych. Nie stwierdzono natomiast u pacjentów z AD występowania zmian funkcjonalnych i strukturalnych w obrębie mAChRs.

Biorąc pod uwagę opisaną powyżej kluczową rolę układu cholinergicznego (głównie nAChRs i ACh) w przebiegu AD, pierwszym zasadniczym objawem AD są, jak już wspomniano, objawy dotyczące zaburzenia funkcji pamięciowych (objawy poznawcze). Jednakże objawy AD nie dotyczą tylko dysfunkcji kognitywnych; obserwuje się również grupę objawów nie związanych z funkcjami poznawczymi, dotyczącą sfery emocjonalnej, jak: lęki,

depresje czy psychozy, które pojawiają się często w konsekwencji właśnie deficytów pamięciowych.

Celowe jest dokładne poznanie mechanizmów warunkujących rozwój AD, a tym samym odpowiedzialnych za objawy tej choroby, by w przyszłości móc poszukiwać nowych strategii i związków, które miałyby potencjalne zastosowanie w kontroli/modulacji/leczeniu AD.

### *Farmakoterapia AD*

Od wielu lat obserwowana jest nowatorska tendencja w dziedzinie poszukiwania nowych możliwości przeciwdziałania zaburzeniom funkcji poznawczych charakterystycznych dla AD, poprzez między innymi: modulację funkcjonowania układu cholinergicznego oraz modulację funkcjonowania układu endokannabinoidowego.

## **I. Modulacja układu cholinergicznego - strategia cholinergiczna wykorzystuje wpływ leków na układ cholinergiczny.**

### *Inhibitory acetylocholinesterazy (IAChE), ligandy wielofunkcyjne*

W przebiegu AD dochodzi do zmian w obrębie neuronów cholinergicznycch części podstawnej kresomózgowia, polegających na zmniejszeniu przekaźnictwa nerwowego. To właśnie spadek stężenia ACh jest najważniejszym punktem uchwytu farmakoterapii AD. Podstawowa strategia aktualnej farmakoterapii tej choroby opiera się na podwyższeniu poziomu ACh w mózgu, przez blokowanie acetylocholinoesterazy (AChE), enzymu rozkładającego ACh w szczelinie synaptycznej. Inhibicja tego enzymu, poprzez specyficzne związki tzw. leki z grupy inhibitorów acetylocholinoesterazy (IAChE) skutkuje zwiększeniem stężenia ACh w szczelinie synaptycznej, a tym samym poprawę funkcji kognitywnych u chorych cierpiących z powodu AD [Knoppman, 2001; Sobow, 2010]. Jest to szczególnie pożądane, ponieważ indukowany przez IAChE wzrost stężenia ACh, nie tylko sprzyja sprawności funkcji kognitywnych, ale hamuje powstawanie neurotoksycznego  $\beta$ A [Vetulani, 2010]. Niestety, stosowanie IAChE nie normalizuje stanu emocjonalnego pacjenta, a więc nie łagodzi objawów nie związanych z procesami kognitywnymi, występującymi często w przebiegu AD [Zubenko, 2000]. Co więcej, wykazano, że wiele IAChE, poprzez zwiększanie poziomu ACh w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), powoduje również depresję u

pacjenta, jako efekt uboczny terapii zasadniczej AD [Janowsky i Overstreet, 1995; Zlatař i wsp., 2017].

### IACHÉ

*Takryna* - pierwszym lekiem dopuszczonym w 1993 roku do leczenia AD (jednak nie w Polsce), należącym do grupy IACHÉ, była takryna. Takryna stosowana była w umiarkowanym i zaawansowanym stadium AD i powodowała poprawę procesów zapamiętywania i sprawności ogólnej. Niestety u ponad 30 % pacjentów leczonych tym lekiem, zaobserwowano ponad trzykrotny wzrost stężenia aminotransferaz wątrobowych, co świadczyło o dużej hepatotoksyczności leku i spowodowało wycofanie takryny z lecznictwa. Obecnie, do najczęściej stosowanych klinicznych IACHÉ należą: *donepezil*, *riwastygmin* i *galantamina*. Warto zauważyć, że leki te są nie tylko selektywnymi inhibitorami AChE, ale również mają inne korzystne właściwości. Riwastygmina hamuje także butyrylocholinoesterazę (BuChE), drugi enzym hydrolizujący ACh. Galantamina ma złożony profil działania - jest odwracalnym kompetycyjnym inhibitorem AChE, ale także jest allosterycznym modulatorem receptorów nikotynowych. Donepezil selektywnie hamuje AChE, jest także umiarkowanym inhibitorem  $\beta$ -amyloidu oraz enzymu odpowiedzialnego za syntezę  $\beta$ -amyloidu:  $\beta$ -sekreazy (BACE1). Dodatkowo lek ten oddziałuje także z receptorami sigma-1 ( $\sigma$ -1), co dodatkowo może hamować/regulować procesy związane z amnezją. Kolejne badania są lub będą skoncentrowane w przyszłości na poznaniu mechanizmów działania IACHÉ i ich wpływu na: przemianę fizjologicznego białka prekursorowego amyloidu (APP) w toksyczny  $\beta$ -amyloid; cytotoksyczność indukowaną  $\beta$ -amyloidem oraz promowanie działania enzymu warunkującego powstanie APP -  $\alpha$ -sekreazy.

### Ligandy wielofunkcyjne

Stosowanie selektywnych leków tzn. skierowanych na jeden cel biologiczny w leczeniu schorzeń o złożonym patomechanizmie, np. AD, okazuje się często nieskuteczne. W związku z tym, projektuje się cząsteczki zdolne do oddziaływania z kilkoma wybranymi celami biologicznymi, tzw. ligandy wielofunkcyjne. Koncepcja ligandów wielofunkcyjnych cieszy się szczególnym zainteresowaniem wśród badaczy poszukujących leków na AD. Wielokierunkowe działanie takich leków pozwoliłoby na skuteczną kontrolę nie tylko objawów, ale także i przyczyn tego złożonego schorzenia. Większość ligandów wielofunkcyjnych, które mogą być stosowane w AD to połączenia farmakoforów IACHÉ z

fragmentami odpowiedzialnymi za hamowanie  $\beta$ -sekreazy, zapobieganie agregacji  $\beta$ -amyloidu lub działającymi jako przeciwutleniacze.

*Ladostigl* - cząsteczka ladostigilu (TV-3326), zaprojektowana jako potencjalny lek na otępienie i depresję towarzyszące chorobom neurodegeneracyjnym, jest dwufunkcyjnym ligandem: występują podstawowe dla aktywności elementy strukturalne riwastygminy - znanego leku typu IChE stosowanego w terapii AD oraz razagiliny - nowego leku stosowanego w leczeniu choroby Parkinsona, który nieodwracalnie blokuje monoaminoooksydazę (MAO) typu B i działa neuroprotekcynie. Powstały ligand dwufunkcyjny łączy w sobie aktywność charakterystyczną dla rywastygminy i razagiliny: hamuje cholinoesterazy, działa neuroprotekcynie i ma właściwości przeciwdepresyjne.

*Dimery takryny* – jak już wspomniano takryna była pierwszym lekiem stosowanym w AD, a obecnie pomimo, iż już niestosowana, ze względu na swoje właściwości jest obiektem zainteresowania w projektowaniu ligandów wielokierunkowych. Wśród zsyntetyzowanych pochodnych takryny o działaniu wielocelowym można wymienić m.in. związki o budowie homo- i heterodimerycznej.

*Pochodne donepezilu* - w literaturze znajduje się wiele przykładów ligandów wielofunkcyjnych opartych na strukturze stosowanego obecnie w terapii AD donepezilu. Donepezil jest IChE, a dodatkowo ma również słabe działanie zapobiegające agregacji  $\beta$ -amyloidu wywołanej przez AChE [Wichur i Malawska, 2015].

#### Agoniści receptora nikotynowego

Jak już wspomniano, w przebiegu AD stwierdzono znaczny spadek gęstości podjednostek  $\alpha 7$  oraz  $\alpha 4\beta 2$  nAChRs [Buckingham i wsp., 2009; Hefco i wsp., 2003; Liu i wsp., 2009; Sanders i wsp., 2010; Wicklund i wsp., 2010]. Kolejne badania kliniczne udowodniły, że związki stymulujące aktywność receptorów nAChRs poprzez całkowity bądź częściowy agonizm, mogą wykazywać działanie prokognitywne - poprawiające pamięć [Akkurt i wsp., 2010; Hefco i wsp., 2003; Husain i Mehta, 2011; Levin i wsp., 2006; Mansvelder i wsp., 2009], podczas gdy antagoniści tych receptorów upośledzają procesy zapamiętywania i uczenia się [Agrawal i wsp., 2009; Buccafusco, 2009; Harrison i wsp., 2009; Power i wsp., 2008; Voss i wsp., 2009]. W kontekście poszukiwania nowych punktów uchwytu leczenia AD, istotne więc wydają się być dane literaturowe opisujące badania skupiające się na ocenie wpływu na procesy kognitywne agonistów nAChRs, między innymi nikotyny [Ciobica i wsp., 2012; Corringer i wsp., 2000; Rezvani i Levin, 2001].



## *Nikotyna*

Mechanizm działania nikotyny opiera się na stymulacji postsynaptycznie zlokalizowanych nAChRs, co skutkuje występowaniem określonych efektów, zarówno obwodowych i ośrodkowych. Wykazano, że nikotyna, działając pobudzająco na OUN, polepsza koncentrację oraz zdolność uczenia się i zapamiętywania. Dane literaturowe potwierdzają korzystny wpływ nikotyny na procesy kognitywne [Hefco i wsp., 2003; Hiramatsu i wsp., 2002; Levin i Rezvani, 2000; Rezvani i Levin, 2001], zarówno w badaniach przedklinicznych [Akkurt i wsp., 2010], jak i klinicznych [Rezvani i Levin, 2001]. Z drugiej jednak strony istnieją odrębne dane literaturowe opisujące upośledzający wpływ nikotyny na procesy pamięci [Dunnet i Martel, 1990] lub nie wywiera żadnego wpływu [Decker i wsp., 1990, Dunnet i Martel, 1990].

Wpływ nikotyny na procesy pamięci i uczenia się jest złożony, obejmuje wiele mechanizmów, między innymi mechanizm cholinergiczny, nikotyna jest specyficznym agonistą nAChRs zlokalizowanych presynaptycznie i postsynaptycznie. Stymulacja presynaptycznie zlokalizowanych receptorów powoduje napływ jonów wapniowych ( $Ca^{2+}$ ) do komórki, co aktywuje przepływ jonów chlorkowych ( $Cl^-$ ), a to w konsekwencji prowadzi do uwolnienia szeregu neuroprzekaźników: ACh, kwasu glutaminianowego (Glu), dopaminy (DA), noradrenaliny (NA), serotoniny (5-HT), kwasu  $\gamma$ -aminomasłowego (GABA) czy endogennych peptydów, które są bezpośrednio lub pośrednio zaangażowane w procesy pamięciowe i czynności poznawcze [Pietras i Górski, 2004; Tanda i Goldberg, 2003]. Tłumacząc mechanizm działania nikotyny, w kontekście procesów kognitywnych, należy wskazać także na działanie stymulujące nikotyny wobec postsynaptycznie zlokalizowanych receptorów nikotynowych. Dowiedziono, że podanie nikotyny powoduje wzrost aktywności podtypu  $\alpha 7$  oraz  $\alpha 4\beta 2$  nAChRs w obszarze hipokampa [Buccafusco, 2004; Picciotto i wsp., 2000]. Stymulacja tych podtypów nAChRs zwiększa częstość wyładowań, co skutkuje uwolnieniem zmagazynowanych  $Ca^{2+}$  i wygenerowaniem impulsu nerwowego oraz wzmacnia połączenia między neuronami, a tym samym poprawia procesy uczenia i zapamiętywania [Levin, 2002; Levin i Rezvani, 2000; Levin i wsp., 2006]. Udowodniono również, że spadek gęstości nAChRs w obszarze hipokampa oraz w kolejnej strukturze odpowiedzialnej za efekty kognitywne nikotyny: ciele migdałowatym, jest powiązany z wyraźnym pogorszeniem pamięci [Levin i wsp., 2006].

Duże dawki nikotyny powodują jednak działanie depresyjne na OUN z objawami splątania, zaburzenia koncentracji i pamięci [Staniak i Biała, 2008; Zaniewska i wsp., 2009]. Trwają więc badania, mające na celu opracowywanie nowych możliwości zastosowania innych

ligandów nAChRs, które oprócz zachowanego komponentu działania prokognitywnego, pozbawione byłyby działań ubocznych nikotyny

#### *Inni agoniści receptora nikotynowego*

Wśród związków naśladowujących efekty działania nikotyny na szczególną uwagę zasługują następujące: A-582941, ABT-107, ABT-418, AZD0328, AR-R17779, cholina, EVP-6124, GTS-21 (DMXB-A), JN403, PNU-282987, RG3487 (MEM3454), S24795, SEN12333/WAY-317538, SSR180711, TC-5619, Tropisetron. Niestety, należy zauważyć, że na zmniejszenie efektywności terapeutycznej agonistów nAChRs- $\alpha 7$ , wpływ ma szybka desensytyzacja receptora [Frątczak i wsp., 2013].

#### *Pozytywne allosteryczne modulatory receptora nikotynowego (PAMs)*

Ostatnio duży potencjał badawczy i terapeutyczny dostrzega się w wyjątkowej grupie ligandów receptorów nikotynowych: pozytywnych allosterycznych modulatorach (positive allosteric modulators - PAMs). PAMs funkcjonują tylko w obecności endogennego agonisty (lub egzogennego w warunkach doświadczalnych) zachowując jednocześnie czasową i przestrzenną integralność neurotransmisji. W przeciwieństwie do agonisty nie wywołują przedłużającej się desensytyzacji, która redukuje funkcję receptora. W 2007 roku opisano dwa typy PAMs: I i II. Oba wykazują potencjał agonistyczny, jednak w nieco inny sposób oddziałują na receptor nikotynowy. Substancje typu I, (na przykład NS1738, charakteryzujące się dobrym potencjałem i selektywnością), nasilają odpowiedź receptora mając minimalny wpływ na desensytyzację receptora  $\alpha 7$  lub nie mają go wcale. Substancje typu II (między innymi PNU-120596, A-867744) w dużym stopniu redukują lub znoszą indukowaną przez agonistę desensytyzację tego receptora. Do tej pory odkryto już wiele (około 20) takich modulatorów o różnych właściwościach farmakologicznych [Gill i wsp., 2012; Williams i wsp., 2011].

#### ***Modulacja funkcjonowania układu cholinergicznego – badania własne***

Wśród szeregu wykonanych badań doświadczalnych na myszach dokonano oceny: wpływu ligandów receptorów cholinergicznym (nikotyna, skopolamina, bupropion, mekamyamina, wardeniklina) na procesy formowania się szlaków akwizycji i konsolidacji pamięci krótko- i długotrwałej oceniane w różnych doświadczalnych modelach pamięci; wpływu ligandów receptorów cholinergicznym (bupropion, mekamyamina, wardeniklina) na deficyty pamięci wywołane skopolaminą oraz wpływu ligandów receptorów cholinergicznym (bupropion, mekamyamina, wardeniklina) na efekty pro-kognitywne indukowane nikotyną. Jako model zwierzęcy do oceny procesów kognitywnych wybrano zmodyfikowany test

podniesionego labiryntu krzyżowego (modified elevated plus maze (mEPM) test) [Kruk i wsp. 2012] oraz test rozpoznawania nowego obiektu (novel object recognition (NOR) [Kruk-Słomka i wsp., 2014].

#### W badaniach przy użyciu testu mEPM:

- potwierdzono, że skopolamina jest jednym z lepszych farmakologicznych, zwierzęcych modeli amnestycznych
- potwierdzono, że układ cholinergiczny odgrywa jedną z kluczowych ról w procesach formowania się szlaków pamięciowych oraz wskazano po raz pierwszy na zaangażowanie w procesy pamięci różnych typów i podtypów AChRs:
- jednorazowe podanie nikotyny (prawdopodobnie poprzez aktywację nAChRs, głównie podtypu  $\alpha 4\beta 2$ ; słabiej  $\alpha 7$ ) powoduje poprawę pamięci u myszy; zaś jednorazowe podanie skopolaminy (prawdopodobnie poprzez głównie blokadę mAChRs; słabiej nAChRs) osłabia procesy kognitywne, zarówno w fazie akwizycji, jak i konsolidacji śladów pamięciowych, oceniane w teście mEPM u myszy
- jednorazowe podanie ligandów nAChRs: mekamylaminy (nieselektywnego antagonisty nAChRs) lub wardenikliny (częściowego agonisty podtypu  $\alpha 4\beta 2$  i całkowitego agonisty podtypu  $\alpha 7$  nAChRs) przed iniekcją nikotyny powoduje odwrócenie prokognitywnego działania nikotyny w fazie akwizycji i konsolidacji pamięci w teście mEPM u myszy
- jednorazowe podanie mekamylaminy lub wardenikliny przed iniekcją skopolaminy powoduje odwrócenie upośledzenia pamięci indukowanego skopolaminą w fazie akwizycji i konsolidacji pamięci w teście mEPM u myszy

#### W badaniach przy użyciu testu NOR:

- potwierdzono zaangażowanie układu cholinergicznego w różne rodzaje pamięci (pamięć krótko- i długotrwałą):
- jednorazowe podanie nikotyny powoduje poprawę, a jednorazowe podanie skopolaminy zaburzenie pamięci krótko- i długotrwałej u myszy w teście NOR
- oceniono i porównano po raz pierwszy rolę ligandów nAChRs w efektach kognitywnych indukowanych nikotyną lub skopolaminą w teście NOR u myszy:
- zarówno mekamylamina, jak i bupropion wpływają korzystnie na procesy pamięci długotrwałej

- jednorazowe podanie mekamlaminy lub bupropionu przed pojedynczą iniekcją nikotyny odwraca prokognitywny wpływ nikotyny, zarówno na pamięć krótko-, jak i długotrwałą
- jednorazowe podanie mekamlaminy lub bupropionu przed pojedynczą iniekcją skopolaminy odwraca upośledzające efekty skopolaminy na pamięć krótko- i długotrwałą

## **II. Modulacja układu endogenego układu kannabinoidowego – wykorzystuje wpływ leków na funkcjonowanie układu endokannabinoidowego**

Poprawa funkcji poznawczych w przebiegu AD nie jest jedynym pożądanym efektem terapeutycznym. Równie istotne dla skuteczności całej farmakoterapii AD jest by dostępna terapia nie tylko poprawiła funkcje kognitywne, ale i jednocześnie regulowała stan emocjonalny pacjenta. Duże nadzieje w kontekście takiego postępowania w leczeniu AD są związane z modulacją funkcjonowania endogenego układu kannabinoidowego, poprzez który działają aktywne związki określane jako kannabinoidy. Pochodne kannabinoidowe wiążą się ze specyficznymi receptorami kannabinoidowymi (CB: CB1 i CB2). Lokalizacja receptorów CB oraz ich aktywacja przez kannabinoidy jest ściśle związana z wywieranymi przez nie efektami. Receptory CB1 występują presynaptycznie na powierzchni neuronów ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, a w wyniku ich pobudzenia dochodzi do zahamowania uwalniania wielu neuroprzekaźników, między innymi ACh. Rozmieszczenie receptorów CB1 w mózgu jest zróżnicowane. Dużą gęstość tych receptorów stwierdzono w jądrach podstawy mózgu, mózdzku i korze czołowej, z czym wiąże się wpływ kannabinoidów na czynności ruchowe. Natomiast, znaczną ich liczbę w hipokampie i korze przedczołowej, może tłumaczyć udział endogenego układu kannabinoidowego w procesach zapamiętywania i uczenia się. Obecność receptorów CB1 w ciele migdałowatym i polu brzusznej nakrywki warunkuje ich rolę w mechanizmach wzmocnienia pozytywnego. Receptory CB1 występują ponadto w drogach przewodzenia bodźców bólowych w mózgu i rdzeniu kręgowym oraz w podwzgórzowych ośrodkach regulujących proces pobierania pokarmu. Mniej jest natomiast receptorów CB1 w tkankach obwodowych, takich jak: układ sercowo-naczyniowy, rozrodczy czy pokarmowy [Borgelt i wsp., 2013; Rutkowska i Jamontt, 2005]. Z kolei, receptory CB2 zlokalizowane są w większości na powierzchni komórek układu immunologicznego, zwłaszcza limfocytów typu B, makrofagów i monocytów oraz komórkach żernych; a także w śledzionie i migdałkach. Receptory te zaangażowane są w regulację proliferacji, różnicowania i śmierci

komórek oraz, jak wskazują dane literaturowe, biorą udział w osłabieniu odpowiedzi zapalnej [Borgelt i wsp., 2013; Croxford, 2003]. Dodatkowo, w warunkach patologicznych następuje zwiększenie liczby oraz wrażliwości receptorów CB2, co być może jest częścią mechanizmu obronnego przed czynnikami zagrażającym [Kazula, 2009]. Natomiast w dużo mniejszym stopniu receptory CB2 są obecne w OUN, komórkach mikrogleju oraz neuronach [Borgelt i wsp., 2013].

Konsekwencją tak wielopłaszczyznowego rozmieszczenia receptorów CB w organizmie jest to, że związki modulujące funkcję tych receptorów wykazują wielokierunkowe, zarówno obwodowe, jak i ośrodkowe działanie na organizm ludzki. Uważa się, że ligandy receptorów CB, stosowane pod ścisłą kontrolą lekarską, mogą być cennymi preparatami modyfikujących przebieg/objawy wielu chorób, między innymi wielu chorób neurodegeneracyjnych [Carter i wsp., 2010; Tkaczyk i wsp., 2012; Wade i wsp., 2006]. Wiedza jednak na temat potencjalnych mechanizmów działań kannbinoidów, w kontekście ich zaangażowania w patomechanizmy i objawy AD wymaga wciąż wzbogacenia.

#### ***Modulacja funkcjonowania układu endokannabinoidowego – badania własne***

##### Wśród szeregu wykonanych badań doświadczalnych na myszach dokonano:

- oceny wpływu ligandów receptorów CB na procesy formowania się szlaków akwizycji, konsolidacji i odtwarzania pamięci krótko- i długotrwałej [Kruk-Słomka i Biała, 2016; Kruk-Słomka i wsp., 2016].
- oceny wpływu ligandów receptorów cholinergicznym i kannabinoidowym na efekty pro- i przeciwdepresyjne oraz ocena mechanizmów ich działania i możliwych interakcji [Kruk-Słomka i wsp., 2015]
- oceny wpływu ligandów receptorów kannabinoidowych na kognitywne oraz pozytywne objawy schizofrenii [Kruk-Słomka i wsp., 2016b; 2017].

##### W powyższych badaniach:

- potwierdzono modulujący wpływ układu cholinergicznego na zachowania depresyjne u myszy w teście wymuszonego pływania (forced swimming test, FST): jednorazowe podanie nikotyny lub skopolaminy wywołuje efekt przeciwdepresyjny u myszy oceniany w FST
- wskazano po raz pierwszy na istotne zaangażowanie układu endokannabinoidowego, poprzez obydwa podtypy receptorów CB, CB1 i CB2, w zachowania depresyjne u myszy w FST: jednorazowe podanie agonisty receptorów CB1, oleamidu indukuje

zachowania przeciwdepresyjne u myszy w FST, zaś jednorazowe podanie antagonisty receptorów CB1, AM 251 nie wywołuje żadnego wpływu na te zachowania; zarówno jednorazowe podanie agonisty receptorów CB2, JWH 133, jak i antagonisty receptorów CB2, AM 630 powoduje efekt przeciwdepresyjny u myszy w FST

- wskazano po raz pierwszy na interakcje pomiędzy układem cholinergicznym a endokannabinoidowym w kontekście efektów depresyjnych u myszy w FST: jednorazowe podanie ligandów receptora CB1 może modulować reakcje związane z efektami depresyjnymi indukowanymi nikotyną; jednorazowe podanie ligandów receptora CB1 i CB2 nasila przeciwdepresyjne efekty skopolaminy [Kruk-Słomka i wsp., 2015].
- wskazano po raz pierwszy na istotną rolę układu endokannabinoidowego, poprzez obydwa podtypy receptorów CB: CB1 i CB2 w procesy kognitywne u myszy w teście biernego unikania (passive avoidance, PA/IA): jednorazowa iniekcja antagonisty receptorów CB1, AM 251 poprawia procesy nabywania i konsolidacji pamięci długotrwałej u myszy w teście PA/IA, zaś jednorazowa iniekcja agonisty receptorów CB1/CB2, WIN 55,212-2 zaburza powyższe obydwie fazy procesów kognitywnych; jednorazowa iniekcja zarówno agonisty receptorów CB2, JWH 133, jak i antagonisty receptorów CB2, AM 630 poprawia procesy akwizycji i konsolidacji pamięci długotrwałej u myszy w teście PA/IA [Kruk-Słomka i wsp., 2016a].
- potwierdzono zaangażowanie receptorów CB1 w procesy formowania się szlaków pamięciowych pamięci krótko- i długotrwałej w różnych fazach pamięci: akwizycji, konsolidacji i odtwarzania u myszy w teście PA/IA: jednorazowa iniekcja agonisty receptorów CB1, oleamidu zaburza procesy kognitywne, zarówno pamięci krótko- jak i długotrwałej, we wszystkich trzech fazach pamięci; jednorazowa iniekcja antagonisty receptorów CB1, AM 251 poprawia procesy kognitywne zarówno pamięci krótko- jak i długotrwałej, we wszystkich trzech fazach pamięci; wykazano po raz pierwszy, że zaburzenie pamięci indukowane jednorazową iniekcją oleamidu jest odwracane jednorazową iniekcją AM 251, co potwierdza tym samym selektywność oleamidu wobec receptorów CB1 [Kruk-Słomka i Biała, 2016]
- wskazano po raz pierwszy na zaangażowanie układu endokannabinoidowego, poprzez receptory CB1 w pozytywne i kognitywne objawy schizofrenii u myszy wykorzystując farmakologiczny zwierzęcy model schizofrenii jakim jest MK-801: jednorazowa iniekcja oleamidu nie ma wpływu ani na hiperaktywność, ani na zaburzenia pamięci indukowane jednorazową iniekcją MK-801 u myszy; hiperaktywność oraz zaburzenia

pamięci u myszy prowokowane jednorazową iniekcją MK-801 są odwracane jednorazową iniekcją AM 251 [Kruk-Słomka i wsp., 2016b]

- wskazano po raz pierwszy na zaangażowanie układu endokannabinoidowego, poprzez receptory CB2 w pozytywne objawy schizofrenii u myszy: jednorazowa iniekcja zarówno JWH 133, jak i AM 630 nasilała hiperaktywność myszy indukowaną jednorazową iniekcją MK-801 [Kruk-Słomka i wsp., 2017].

### **Konkluzja:**

Przedstawione powyżej szeroko zakrojone badania behawioralne przybliżają rolę układu cholinergicznego i kannabinoidowego w procesach formowania się szlaków pamięciowych, jak i procesach emocjonalnych. Dają tym samym solidne podstawy do podjęcia nowych kierunków farmakoterapii AD. Takie badania są niezbędne, jeśli weźmiemy pod uwagę fakt, że podstawowa farmakoterapia AD skupia się przede wszystkim na polepszaniu procesów kognitywnych (strategia cholinergiczna), nie wpływając na stan emocjonalny pacjenta, jak lęki, depresje czy psychozy. Z drugiej strony sama farmakoterapia AD często niesie za sobą wiele działań niepożądanych, zwłaszcza natury emocjonalnej. Celowe jest więc by w kolejnych badaniach poszukiwać nowych strategii i związków (ligandy receptorów CB lub ligandy receptorów cholinergicznym), które, jednocześnie polepszałyby procesy poznawcze, jak i regulowały korzystnie stan emocjonalny pacjenta, zwiększając tym samym skuteczność całej terapii AD.

### **Literatura:**

1. **Agrawal R., Tyagi E., Saxena G. i wsp.:** Cholinergic influence on memory stages: A study on scopolamine amnesic mice. *Indian J Pharmacol*, 2009, 41(4), 192-196
2. **Akkurt D., Akay Y.M., Akay M.:** Investigating the synchronization of hippocampal neural network in response to acute nicotine exposure. *J Neuroeng Rehabil*, 2010, 7(31), 1-6
3. **Borgelt L.M., Franson K.L., Nussbaum A.M. i wsp.:** The pharmacologic and clinical effect of medical cannabis. *Pharmacotherapy*, 2013, 33 (2), 195-209
4. **Buccafusco J.J.:** Neuronal nicotinic receptor subtypes: Defining therapeutic targets. *Mol Interv*, 2004, 4, 285-295

5. **Buccafusco J.J.:** The revival of scopolamine reversal for the assessment of cognition-enhancing drugs. W: Buccafusco J.J. (red.): Methods of behavior analysis in neuroscience, 2nd edition. CRC Press, 2009, 329-341
6. **Buckingham S.D., Jones A.K., Brown L.A. i wsp.:** Nicotinic acetylcholine receptor signalling: roles in Alzheimer's disease and amyloid neuroprotection. *Pharmacol Rev*, 2009, 61(1), 39-61
7. **Carter G.T., Abood M.E., Aggarwal S.K. i wsp.:** Cannabis and amyotrophic lateral sclerosis: hypothetical and practical applications, and a call for clinical trials. *Am J Hospice Palliative Med*, 2010, 27, 347
8. **Ciobica A., Padurariu M., Hritcu L.:** The effects of short-term nicotine administration on behavioral and oxidative stress deficiencies induced in a rat model of Parkinson's disease. *Psychiatr Danub*, 2012, 24(2), 194-205
9. **Corringer P.J., Le N.N., Changeux J.P.:** Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2000, 40, 431-458
10. **Croxford J.L.:** Therapeutic potential of cannabinoids in CNS disease. *CNS Drugs*. 2003, 17(3), 179-202
11. **Decker M.W., Brioni J.D., Bannon A.W. i wsp.:** Diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: Lessons from behavior and implications for CNS therapeutics minireview. *Life Sci*, 1990, 56, 545-570
12. **Dunnet S.B., Martel L.:** Proactive interference effects on short-term memory in rats: I. Basic parameters and drug effects. *Behav Neurosci*, 1990, 104 (5), 655-665
13. **Frączak A., Kula K., Rabe-Jabłońska J. i wsp.:** Modulowanie funkcji układu cholinergicznego w leczeniu schizofrenii – dziś i jutro. *Psychiatria i Psychologia Kliniczna*, 2013, 13(2), 108-115
14. **Gill J.K., Dhankher P., Sheppard T.D. i wsp.:** A series of  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor allosteric modulators with close chemical similarity but diverse pharmacological properties. *Mol Pharmacol*, 2012; 81, 710-718
15. **Harrison F.E., Hosseini A.H., Dawes S.M. i wsp.:** Ascorbic acid attenuates scopolamine-induced spatial learning deficits in the water maze. *Behav Brain Res*, 2009, 205(2), 550-558



16. **Hefco V., Yamada K., Hefco A. i wsp.:** Effects of nicotine on memory impairment induced by blockade of muscarinic, nicotinic and dopamine D2 receptors in rats. *Eur J Pharmacol*, 2003, 474, 227-232
17. **Hiramatsu M., Yamatsu T., Kameyama T. i wsp.:** Effects of repeated administration of (-) nicotine on AF64A-induced learning and memory impairment in rats. *J Neural Transm*, 2002, 109, 361-375
18. **Husain M., Mehta M.A.:** Cognitive enhancement by drugs in health and disease. *Trends Cogn Sci*, 2011, 15(1), 28-36
19. **Janowsky D.S., Overstreet D.H.:** The role of acetylcholine mechanisms in affective disorders. W: Kupfer D.J. (red.) *Psychopharmacology the fourth generation of progress*. Raven, Nowy Jork, 1995, 25-53
20. **Kazula A.:** Zastosowanie naturalnych kannabinoidów i endokannabinoidów w terapii. *Post Farmakoter*, 2009, 65(2), 147-160
21. **Knoppman D.:** Pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2001, 1, 428-432
22. **Kopf S., Buchholzer M., Hilgert M. i wsp.:** Glucose plus choline improves passive avoidance behavior and increases hippocampal acetylcholine release in mice. *J Neurosci*, 2001, 103(2), 365-371
23. **Kruk-Słomka M, Budzyńska B, Biała G.** Involvement of cholinergic receptors in the different stages of memory measured in the modified elevated plus maze test in mice. *Pharmacol Rep*, 2012, 64(5), 1066-1080
24. **Kruk-Słomka M, Michalak A, Budzyńska B, Biała G.** A comparison of mecamylamine and bupropion effects on memory-related responses induced by nicotine and scopolamine in the novel object recognition test in mice. *Pharmacol Rep*, 2014, 66(4), 638-646
25. **Kruk-Słomka M, Michalak A, Biała G.** Antidepressant-like effects of the cannabinoid receptor ligands in the forced swimming test in mice: Mechanism of action and possible interactions with cholinergic system. *Behav Brain Res*, 2015, 284, 24-36
26. **Kruk-Słomka M, Boguszewska-Czubara A, Słomka T, Budzyńska B, Biała G.** Correlations between the memory-related behavior and the level of oxidative stress biomarkers in the mice brain, provoked by an acute administration of CB receptor ligands. *Neural Plast* 1-15, 2016a, DOI: 10.1155/2016/9815092

27. **Kruk-Słomka M, Biała G.** CB1 receptors in the formation of the different phases of memory-related processes in the inhibitory avoidance test in mice. *Behav Brain Res*, 2016, 301, 84-95
28. **Kruk-Słomka M, Budzyńska B, Słomka T, Banaszekiewicz I, Biała G.** The influence of the CB1 receptor ligands on the schizophrenia-like effects in mice induced by MK-801. *Neurotox Res* 30(4), 2016b, 658-676
29. **Kruk-Słomka M, Banaszekiewicz I, Biała G.** The impact of CB2 receptor ligands on the MK-801-induced hyperactivity in mice. 2017, *Neurotox Res*, 2017, 31(3), 410-420
30. **Kulkarni K.S., Kasture S.B., Mengi S.A.:** Efficacy study of Prunus amygdalus (almond) nuts in scopolamine-induced amnesia in rats. *Indian J Pharmacol*, 2010, 42(3), 168-173
31. **Levin E. D., Rezvani A. H.:** Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *Eur J Pharmacol*, 2000, 393, 141-146
32. **Levin E.D., McClernon F.J., Rezvani A.H.:** Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology*, 2006, 184(3-4), 523-539
33. **Levin E.D.:** Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. *J Neurobiol*, 2002, 53, 633-640
34. **Liu J., Rasul I., Sun Y. i wsp.:** GRK5 Deficiency Leads to Reduced Hippocampal Acetylcholine Level via Impaired Presynaptic M2/M4 Autoreceptor Desensitization. *J Biol Chem*, 2009, 284(29), 19564-19571
35. **Mansvelder H.D., Mertz M., Role L.W.:** Nicotinic modulation of synaptic transmission and plasticity in cortico-limbic circuits. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20(4), 432-440
36. **Picciotto M.R., Caldarone B.J., King S.I. i wsp.:** Nicotinic receptors in the brain. Links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacol*, 2000, 22(5), 451-465
37. **Pietras T., Górski P.:** Biologiczne mechanizmy zespołu uzależnienia od nikotyny. *Postępy Psychiatr Neurol*, 2004, 13(1), 51-60
38. **Power A.E., Vazdarjanova A., McGaugh J.L.:** Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem*, 2008, 80(3), 178-193

39. **Rezvani A.H., Levin E.D.:** Cognitive effects of nicotine. *Biol Psychiatry*, 2001, 49, 258-267
40. **Rutkowska M., Jamontt J.:** Rola układu kannabinoidowego w fizjologii i patofizjologii ośrodkowego układu nerwowego. *Adv Clin Exp Med*, 2005, 14(6), 1243-1252
41. **Sanders D., Simkiss D., Braddy D. i wsp.:** Nicotinic receptors in the habenula: importance for memory. *Neuroscience*, 2010, 166(2), 386-390
42. **Sobow T.:** Combination treatments in Alzheimer's disease: Risks and benefits. *Exp Rev Neuro*, 2010, 10(5), 693-702
43. **Stahl S.M.:** Podstawy psychofarmakologii. Tom 1, Via Medica, Gdańsk 2010a, 212-213
44. **Stahl S.M.:** Podstawy psychofarmakologii. Tom 4, Via Medica, Gdańsk 2010b: 155
45. **Staniak N., Biała G.:** Pharmacotherapy of nicotine addiction. *Ann UMCS Sect. DDD*, 2008, 21(2), 103-109
46. **Tanda G., Goldberg S.R.:** Cannabinoids: reward dependence and underlying neurochemical mechanisms-a review a recent preclinical data. *Psychopharmacology*, 2003, 169(2), 115-134
47. **Tkaczyk M., Florek E., Piekoszewski W.:** Marihuana i kanabinoidy jako leki. *Przeg Lek*, 2012, 69(10), 1095-1097
48. **Vetulani J.:** Leki nootropowe i prokognitywne, *Farmakoterapia choroby Alzheimer'a*. Kostowski W., Herman Z.S. (red.): *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii*. PZWL, t. II, Warszawa 2010, 154-169
49. **Voss B., Thienel R., Reske M. i wsp.:** Cognitive performance and cholinergic transmission: Influence of muscarinic and nicotinic receptor blockade. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2009, 260(2), 106-110
50. **Wade D.T., Makela P.M., House H. i wsp.:** Long-term use of cannabis-based medicine in of treatment of spasticity and other symptoms of multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2006, 12, 639
51. **Wichur T., Malawska B.:** Ligandy wielofunkcyjne – nowa strategia poszukiwania leku w terapii chorób o złożonej etiologii. *Postepy Hig Med Dosw*, 2015, 69, 1423-1434

52. **Wicklund L., Leão R.N., Strömberg A.M. i wsp.:** B-amyloid 1-42 oligomers impair function of human embryonic stem cell-derived forebrain cholinergic neurons. *PLoS One*, 2010, 5(12), e15600
53. **Williams D.K., Wang J., Papke R.L.:** Positive allosteric modulators as an approach to nicotinic acetylcholine receptor-targeted therapeutics: advantages and limitations. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82, 915-930
54. **Zaniewska M., Przegaliński E., Filip M.:** Nicotine dependence - human and animal studies, current pharmacotherapies and future perspectives. *Pharmacol Rep*, 2009, 61(6), 957-965
55. **Zlatar Z.Z., Muniz M., Galasko D.:** Subjective Cognitive Decline Correlates With Depression Symptoms and Not With Concurrent Objective Cognition in a Clinic-Based Sample of Older Adults. 2017, doi: 10.1093/geronb/gbw207
56. **Zubenko G.S.:** Neurobiology of major depression in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*, 2000, 10, 129-141