

*Aktivitás-függő idegrendszeri plaszticitás fiziológiás és patológiai folyamatokban*

*Doktori (PhD) értekezés tézisei*

Papp Andrea Márta

**Biológia Doktori Iskola**

Iskolavezető: Prof. Erdei Anna

tanszékvezető egyetemi tanár

**Molekuláris Sejt- és Neurobiológia Doktori Program**

Programvezető: Prof. Sass Miklós

tanszékvezető egyetemi tanár

**Témavezető:**

Prof. Juhász Gábor

Tudományos tanácsadó, az MTA doktora

Eötvös Loránd Tudományegyetem Természettudományi Kar, Biológiai Intézet,

Proteomikai Kutatócsoport

Budapest, 2007

## **BEVEZETÉS**

A központi idegrendszer (CNS) rendkívüli komplexitása a tanulmányozhatóság egyszerűsítése szempontjából különböző felosztásoknak ad teret, melyek egyike a három kompartmentes modell (neuronok, gliasejtek és extracelluláris tér). Élettani és patológiás folyamatokban párhuzamos és koordinált változások zajlanak mindhárom kompartmentben, melyek biztosítják az idegrendszer funkcionális stabilitását és adaptív vagy kóros plaszticitását. Jelen disszertáció a fokozott neuronális aktivitással összefüggésbe hozható, de az extracelluláris térben tapasztalható változások bizonyos aspektusait követi nyomon.

Az extracelluláris kompartment egy, a sejtek által előállított komplex mikrokörnyezet, melyet az extracelluláris folyadékba beágyazott mátrix makromolekulák hálózata alkot. Az extracelluláris mátrix (ECM) dinamikus, helyben és időben szabályozott lebontása (Dzwonek et al. 2004) alapvető fontosságú feladat, melyben a mátrix metalloproteinázok (MMP), köztük a zselatinázok (MMP-2 és MMP-9) bizonyítottan szerepet vállalnak. A zselatinázok részt vesznek a szöveti átrendeződésben az ontogenezis folyamán; a sejtek közötti kapcsolatok modulálásában; a sejt-maturáció, illetve migráció elősegítésében; biológiailag aktív molekulák funkcióinak szabályozásában (Vu & Werb, 2000; McCawley et al. 2001). Az MMP-2 alapszinten diffúzan kimutatható a szürkeállományban és főként az ECM turnoverben tulajdonítanak neki szerepet, míg MMP-9 csak bizonyos neuronokban (Vaillant et al 1999) konstitutív, de különböző behatásokra gyorsan és szignifikáns mértékben indukálható (van den Steen et al. 2002). Így, az MMP-9 indukció kimutatott ismerten sejtpusztulással járó kiterjedt szöveti átrendeződéssel kísért folyamatokban, mint például epilepsziában, szöveti traumában (Zhang et al. 1998; Wang et al. 2000), de újabban egyre több figyelem fordul szerepére az idegrendszer-specifikus adaptív plaszticitási folyamatokban is, mint a tanulás és memória kialakulása (Bozdagi et al., 2007; Meighan et al. 2006).

A szenzoros ingerlésre bekövetkező MMP-9 indukció kérdése a központi idegrendszerben alig tanulmányozott. Ugyanakkor a retina egy ismert CNS modell, és az MMP-9 indukcióját kimutatták a ganglion-sejt rétegben, az agyhoz hasonló excitotoxicitási modellekben (Zhang et al. 2004; Manabe et al. 2005). Másrészt a retinában a fehér fényinger paramétereinek változtatásával mechanikus szöveti károsítás nélkül indukálható és tanulmányozható a molekuláris szintű változások széles spektruma, az élettani adaptációtól a kiterjedt és szinkronizált fotoreceptor apoptózisig (Noell et al. 1966). Tehát, a különböző intenzitású fehér-fénnyel történő vizuális ingerlés alkalmas a zselatinázok indukciójának a tanulmányozására a retinában. Laboratóriumunkban korábban kifejlesztett módszert alkalmazva, mellyel szabadon-mozgó patkányokból krónikusan regisztrálható az ERG (Galambos et al. 2000), lehetőség nyílt

arra, hogy a retinában a zselatináz indukciót párhuzamosan tanulmányozzuk a rövid- és hosszú-távon bekövetkező funkcionális változásokkal.

Az extracelluláris kompartment másik komponensében, az extracelluláris folyadékban (ECF) ionok, kis molekulák (monaminok, aminosavak, nukleozidok és metabolitjaik stb.), peptidok és szolubilis fehérjék sokasága van jelen, és az idegrendszert ért behatásokra ezek az oldott komponensek mennyiségi és minőségi változásokat mutatnak, hiszen a sejtek aktivitásából származnak és aktuális szintjeik a sejtek általi felvételük és leadásuk egyensúlyi folyamatait tükrözik.

A központi idegrendszer normális működésének alapfeltétele a neuronális hálózatokban zajló serkentő és gátló folyamatok kiegyensúlyozottsága, ezért általánosan elfogadott az a nézet, hogy az epilepsziás rohamok hátterében ennek az egyensúlynak a felborulása áll, a serkentő folyamatok javára (Mody et al. 1992; Bradford 1995). Mivel az epilepszia egy rendkívül heterogén szindróma, a rohamszerű aktivitás tanulmányozására kísérleti állatmodellek sokaságát fejlesztették ki az idők folyamán (genetikailag epilepsiára hajlamos fajok vagy törzsek, elektromos ingerléssel vagy kémiai indukált rohamok) (Fisher 1989). Minden egyes modell, nem az epilepsziás megbetegedés, hanem annak bizonyos típusának a tanulmányozására alkalmas, de lehetővé teszik új gyógyszeres kezelések kifejlesztését és a patomechanizmus pontosabb megértését (Smolders & Michotte 2007). Környezeti toxinok pl. klórozott szénhidrogén származékok, mint a Lindán, stabil, zsírolékony tulajdonságaik miatt potenciálisan feldúsulhatnak az élelem-láncban ezért számolni kell subklinikai vagy viselkedési-szintű neurotoxikus hatásaikkal ezért érdeklődésre tarthat számot hatásmechanizmusuk pontos megismerése.

Két ismert nem-kompetitív GABA antagonist (Metrazol és Picrotoxin), melyek maguk is epileptogének, szignifikánsan csökkentették a Lindán görcskeltő küszöbét (Sunol et al. 1989) és mindhárom vegyület, hasonló mintázatú központi idegrendszeri c-fos expressziót indukált (Vendrell et al. 1992), ezért a Lindán hatásmechanizmusaként megalapozottnak tűnik a GABA<sub>A</sub>erg antagonizmus feltételezése. Mivel a GABA<sub>A</sub>erg rendszeren kívül, egyre nyilvánvalóbb az extracelluláris nukleozidok és metabolitjaik gátló szerepe epilepsziában (Zimmermann 1996), mikrodialízis technikával tanulmányozható koncentrációváltozásaik különböző ingerekre kiváltott epileptiform aktivitás folyamán *in vivo* érdekes információkkal szolgálhatnak.

### **Felhasznált irodalom:**

- Bozdagi, O. Nagy, V., Kwei, K.T., Huntley, G.W. (2007). In vivo roles for matrix metalloproteinase-9 in mature hippocampal synaptic physiology and plasticity. *J. Neurophysiol.* 98: 334-344.
- Bradford, H. F. (1995). Glutamate, GABA and epilepsy. *Prog. Neurobiol.* 47: 477-511
- Dzwonek, J., Rylski, M., Kaczmarek, L. (2004). Matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors in neuronal physiology of the adult brain. *FEBS Lett.* 567: 129-135.
- Galambos, R., Szabó-Salfay, O., Barabás, P., Pálhalmi, J., Szilágyi, N., Juhász, G. (2000). Temporal distribution of ganglion cell volleys in the normal rat optic nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 13454-13459.
- Fisher, R.S. (1989). Animal models of epilepsies. *Brain Res. Rev.* 14: 245-278.
- Manabe, S., Gu, Z., Lipton, S. A. (2005). Activation of matrix metalloproteinase-9 via neuronal nitric oxide synthase contributes to NMDA-induced retinal ganglion cell death. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46,(12): 4747-4753.
- McCawley, L.J. & Matrisian, L.M. (2001). Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr. Opin. Cell Biol.* 13: 534-540.
- Meighan, S.E., Meighan, P.C., Choudhury, P., Davis, C.J., Olson, M.L., Zornes, P.A., Wright, J.W., Harding, J.W. (2006). Effects of extracellular matrix-degrading proteases matrix metalloproteinase 3 and 9 on spatial learning and synaptic plasticity. *J. Neurochem.* 96, 1227-1241.
- Mody, I., Otis, T.S., Staley, K.J., Kohr, G. (1992). The balance between excitation and inhibition in dentate granule cells and its role in epilepsy. *Epilepsy Res.* 9: 331-339 (Suppl.)
- Noell, W.K., Walker, V.S., Kang, B.S., Berman, S. (1966). Retinal damage by light in rats. *Invest. Ophthalmol.* 5: 450-473.
- Smolders, I. & Michotte, Y. (2007). The use of microdialysis for the study of neurological disorders. pp. 435-453. In: *Handbook of microdialysis*. Vol. 16. (szerk. Westerink, B.H.C. & Cremers, T.I.F.H., Elsevier, Academic Press, Amsterdam, 2007.
- Suñol, C., Tussell, J.M., Gelpí, E., Rodríguez-Farré, E. (1989). GABAergic modulation of lindane (gamma-hexachlorocyclohexane)-induced seizures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 100(1): 1-8.
- Vendrell, M., Tusell, J.M., Serratosa, J. (1992). c-fos expression as a model for studying the action of hexachlorocyclohexane isomers in the CNS. *J. Neurochem.* 58(3): 862-869.
- Vaillant, C., Didier-Bazès, M., Hutter, A., Belin, M.-F., Thomasset, N. (1999). Spatiotemporal expression patterns of metalloproteinases and their inhibitors in the postnatal developing rat cerebellum. *J. Neurosci.* 19(12): 4994-5004.

- Van den Steen, P.E., Dubois, B., Nelissen, I., Rudd, P.M., Dwek, R.A., Opendakker, G. (2002). Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 37(6): 375-536.
- Vu, T.H. & Werb, Z. (2000). Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev.* 14: 2123-2133.
- Wang, X., Jung, J., Asahi, M., Chwang, W., Russo, L., Moskowitz, M.A., Dixon, C.E., Fini, M.E., Lo, E.H. (2000). Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on morphological and motor outcomes after traumatic brain injury. *J. Neurosci.* 20, 7037-7042.
- Zhang, J.W., Deb, S., Gottshall, P.E. (1998). Regional and differential expression of gelatinases in rat brain after systemic kainic acid or bicuculline administration. *Eur. J. Neurosci.*, 10, 3358-3368.
- Zhang, X., Cheng, M. and Chintala, S.K. (2004) Kainic-acid mediated upregulation of matrix metalloproteinase-9 promotes retinal degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 45, 2374-2383.
- Zimmermann, H. (1996). Extracellular purine metabolism. *Drug Development Res.* 39: 337–352.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

A központi idegrendszerben a mátrix metalloproteinázok - de főként a zselatináz MMP-9 - indukcióját bizonyították erős ingerekre bekövetkező sejtpusztulással kísért szöveti átrendeződésekben. Másrészt, a retinában, mely az agy általánosan alkalmazott modellje, ismert, hogy hosszan tartó erős fehér fény hatására kiterjedt fotoreceptor degeneráció következhet be. E két megfigyelésből kiindulva, első kísérleti modellünkben a következő kérdésekre kerestünk választ:

1. A fehér fény - mint természetes szenzoros inger - képes-e zselatináz indukciót kiváltani a retinában?
2. Ha zselatináz indukció kimutatható, mértéke függ-e az inger intenzitásától?
3. Kimutatható-e összefüggés a zselatináz indukció és irreverzibilis funkcióvesztés avagy kiterjedt sejtpusztulás között?
4. A zselatinázok gátlásával befolyásolható-e az erős fehér fény expozíciót követő funkcionális működés?
5. A fehér fényrel összefüggésben kimutatható-e zselatináz szint változás a retinán kívül, a szem más struktúráiban?

A második kísérleti modellünkben, egy környezeti felhalmozódási potenciállal rendelkező klórozott szénhidrogén származék (Lindán,  $\gamma$ -hexaklórciklohexán) központi idegrendszeri hatásaival kapcsolatban a következő kísérleti célokat tűztük ki:

1. Referenciaként, egy ismert  $\text{GABA}_A$  klorid csatorna blokkoló vegyület (Picrotoxin) által kiváltott epileptiform aktivitás folyamán *in vivo* - az excitatorikus aminosavak (glutaminsav, aszparaginsav), valamint nukleozidok és metabolitjaik extracelluláris szintjében bekövetkező - változások jellemzése.
2. A Lindán ismerten görcskeltő hatásait karakterizálni a Picrotoxin indukált rohamok elektrofiziológiai és neurokémiai jellemzéséhez hasonló módon, annak érdekében, hogy az így leírt változások összehasonlításából választ találjunk arra a kérdésre, hogy a Lindán központi idegrendszeri hatásai magyarázhatóak kizárólagosan a  $\text{GABA}_A$  receptor gátlásával.

## **ALKALMAZOTT MÓDSZEREK**

Kísérleti modellek:

- Fotostressz modell (patkány, 5.500 lux fehér fény, 3 órán át, 16 órás sötét-adaptáció után)
- Fényadaptáció (patkány, 500 lux fehér fény, 12 órán át, 10 napos sötét-adaptáció után)
- Kémiaileg indukált epilepszia (Picrotoxin 5 mg/kg ip. illetve Lindán 10; 20 és 60 mg/kg ip.)

A fehér-fény különböző szemstruktúrákra gyakorolt hatásainak a tanulmányozásában alkalmazott módszerek:

- Electoretinográfia (ERG)
- Morfológia, TUNEL-festés
- Zselatin-zimográfia
- RT-PCR
- Western blot

A kémiaileg indukált epileptiform aktivitás tanulmányozásában alkalmazott módszerek:

- Akut mikrodialízis Halothan-altatásban
- Elektroencefalográfia (EEG)
- Aminosav koncentrációk meghatározása (HPLC-elválasztás, fluoreszcens detektálás)
- Nukleozid koncentrációk meghatározása (HPLC-elválasztás, diódasoros detektálás)

## **EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK**

Kísérleteink, melyek a fehér fényingerléssel összefüggésben kimutatható zselatináz expresszió változások tanulmányozását célozták a szemben, de főként a retinában, a következő eredményekhez vezettek:

1. Az erős (5.500 lux) fehér fénynek 3 órán keresztül kitett patkányszemből preparált retina homogenizátumban időfüggő MMP-9 indukció volt kimutatható. Szignifikáns MMP-9 mRNS indukció jött létre a foto-stresszt követő első 24 órában. A pro-MMP-9 (92-100 kDa) fehérje szintű expresszió változásait zselatin-zimográfiaival követtük nyomon. A kontroll, sötét-adaptált retina mintákhoz viszonyítva, melyekben a pro-MMP-9 a kimutathatósági szint alatt maradt, foto-stressz végét követően 3 órával a zselatin-emésztő csík kimutathatóvá vált, 6 óránál elérte a csúcsertékét, és 72 óránál visszatért a kezdeti, kimutathatósági alatti értékekre.

2. A foto-stressz modellben (fehér fény, 5.500 lux, 3 óra), a retina mintákban pro-MMP-9 fehérje szintű indukciója volt kimutatható mind a Triton X-100 szolúbilis (főként citoplazmatikus), mind az inszolúbilis (extracelluláris mátrixhoz kötött) frakcióban, ami a foto-stressz után bekövetkezett megnövekedett fehérjeszintézisre, de egyúttal megnövekedett szekrécióra utal. A retinához hasonló időbeli lefutású pro-MMP-9 indukció tapasztalható a retinával metabolikusan kapcsolt struktúrában is (üvegtestben és a „sclera” mintában tartalmazott pigmenthámiban) foto-stresszt követően. Ettől eltérően, egy hosszantartó sötét-adaptációt követő szokásos állatházi fény-ciklus (fehér fény, 500 lux, 12 óra – 12 óra sötét) végén, a pro-MMP-9-nek megfelelően zselatinbontó csík csak a retina Triton X-100-inszolúbilis frakciójában mutatható ki. Ezeknek az eredményeknek az alapján, a retinális MMP-9 expresszió eltérő mértékű - a lokalizált extracelluláris változástól, a strukturálisan is kiterjedtebb intra- és extracelluláris változásig - a fehér fényinger intenzitásától függően.

3. Az elektoretinogram b-hullám amplitúdójának változásaival jellemeztük a foto-stresszt követő retinális funkció kiesést, mely egy átmeneti drasztikus csökkenést követően a fényexpozíció végén, majd az első 24 órában fokozatosan visszatért és stabilizálódott a sötét-adaptált kontrollértékektől szignifikánsan nem különböző amplitúdó értékeken. Az átmenetileg tapasztalt b-hullám amplitúdó csökkenés a funkciókiesés tranzienst váltára utal.

Az alkalmazott fényinger paraméterei, az alató-elegy, és a patkányok előzetes fényexpozíciójának kölcsönhatásából egy olyan foto-stressz modell jött létre, melyben MMP-9 indukció kimutatható mRNS és fehérje szinten úgy, hogy sem kiterjedt TUNEL-pozitív jelölés a fotoreceptor sejtek rétegében 20 órával a foto-stresszt követően, sem szignifikáns csökkenés a fotoreceptor sejtmagok

számában 10 nappal a fény-hatást követően nem volt tapasztalható. Természetesen dendritikus arborizáció, vagy szinaptikus disztribúció szintű változások nem zárhatók ki, de kiterjedt fotoreceptor degeneráció nem következett be.

4. A retrobulbaris térbe injektált széles spektrumú MMP-inhibitor GM6001 diffúzió útján eljutott a retinában, ahol bizonyítottan csökkentette a zselatinbontó aktivitást. Kontrollként használt DMSO előkezelést alkalmazva unilaterálisan a b-hullám amplitúdó gyors visszatérése következett be, a DMSO elektromos kiváltott válaszokra jellemző facilitáló hatásnak megfelelően. Ezzel szemben a DMSO-ban oldott GM6001 kezelés hatására a b-hullám amplitúdót kis meredekségű, lineáris visszatérés jellemezte, mely a kísérlet végére (5,3 óránál) a kezeletlen állatokéhoz hasonló mértékű visszatérést mutatott. Tehát, a GM6001 ellensúlyozta a DMSO facilitáló hatását, ezért tulajdonképpen levonható az a következtetés, hogy gátlólag hatott az ERG spontán visszatérésére foto-stresszt követően, ami az MMP-9 visszatérési folyamatokban játszott szerepére utal.

5. A foto-stresszt követően, különböző időbeli lefutással kiterjedt pro-MMP-9 indukció tapasztalható a szem más struktúráiban is (vitreus, sclera és cornea). Míg a vitreus és sclera minták esetében a zselatináz-szint változás retinális oki szerepe feltételezhető, addig a cornea esetében nem kizárható egy Xilazin-által kifejezett additív MMP-9 indukáló hatás sem.

Adataink elsőként mutattak ki MMP-9 indukciót természetes ingerek hatására egy szenzoros rendszerben, valamint további adatokkal támasztják alá azt a nézetet, hogy az MMP-9 indukció nem csak a sejt-pusztulással kísért folyamatokban vesz részt.

A kémiai indukált epileptiform aktivitás tanulmányozása a következő eredményekhez vezetett:

1. A Picrotoxin (5 mg/kg ip.) által kiváltott epileptiform aktivitást 4-5 Hz-es ritmikus aktivitás és követő 2-5 s időtartamú epileptiform kisülések jellemezték. A kísérlet 150 perces időtartama alatt az excitatorikus aminosavak (glutaminsav és aszparaginsav) koncentrációja szignifikáns csökkenést mutatott. A 0-50 perc és 100-150 perc mérésstartományokban a Picrotoxin nem változtatta meg a nukleozidok illetve metabolitjaik extracelluláris koncentrációit a hippocampusban, de szignifikáns növekedés volt kimutatható az 50-100 perces mintákban az uridin, inozin, hipoxantin és xantin szintekben.



2. A Lindán neurotoxikus és epileptogén tulajdonságainak a Picrotoxinhoz hasonló jellemzése folyamán az elektroencefalogramot egy a Picrotoxinéhoz hasonló 10-30 s szakaszokban jelentkező 4-5 Hz-es ritmikus aktivitás jellemzett, melyhez a 20 mg/kg dózis esetében éles negatív hullámok társultak. A 4-5 Hz-es aktivitás inicializálása dózisfüggően korábban következett be, és a 60 mg/kg dózis esetében folyamatossá vált. Az extracelluláris excitatorikus aminosavak koncentrációiban a 60 mg/kg dózisonál a 100-150 perces mintában szignifikáns csökkenés volt kimutatható. A 20 mg/kg Lindán dózis nem csökkentette sem az aszparaginsav, sem a glutaminsav szinteket, ezáltal szignifikánsan különbözött a Picrotoxin-által kiváltott hatástól minden időintervallumban. A nukleozid szintek esetében, kizárólag a 10 mg/kg Lindán növelte szignifikánsan az adenozin metabolitok - inozin és hipoxantin extracelluláris koncentrációit.

Jelen adatok alátámasztják és kibővítik azon előző eredményeket, melyek kimutatták hogy az epileptikus kisülések és az extracelluláris glutaminsav és aszparaginsav szintek változásai egymástól függetlenül is bekövetkezhetnek. Más kémiailag indukált epilepszia modellekhez (kainsav, bicuculline, pentilentetrazol) hasonlóan megnövekedett inozin és hipoxantin szintek mutathatók ki Picrotoxin és Lindán hatására is.

Elmondható, tehát, hogy Lindán illetve Picrotoxin beadását követően mért extracelluláris serkentő aminosavak illetve nukleozidok koncentrációváltozásainak különbsége, valamint a tapasztalt eltérések a regisztrált elektromos oszcillatorikus mintázatok között, arra utalnak, hogy a viselkedés szintű hasonlatosságok ellenére, a Lindán illetve Picrotoxin által aktivált központi idegrendszeri folyamatok nem teljesen egyezők.

## **PUBLIKÁCIÓK**

### ***Az tézisek alapjául szolgáló közlemények:***

Nyitrai, G., Kékesi, A.K., Szilágyi, N., **Papp, A.**, Juhász, G., Kardos, J. (2002). Neurotoxicity of Lindane and Picrotoxin: neurochemical and electrophysiological correlates in the rat hippocampus *in vivo*. *Neurochem. Res.* 27(1): 139-145. (IF: 1,672)

**Papp, A.M.**, Nyilas, R., Szepesi, Zs., Lőrincz, M.L., Takács, E., Ábrahám, I., Szilágyi, N., Tóth, J., Medveczky, P., Szilágyi, L., Juhász, G., Juhász, G. (2007). Visible light induces matrix metalloproteinase-9 expression in rat eye. *J. Neurochem.* 103: 2224-2233. (IF: 4,604)

### ***Egyéb közlemények:***

Pálhalmi, J., Szikra, T., Kékesi, A.K., **Papp, A.**, Juhász, G. (2001). An *in vivo* eyecup preparation for the rat. *J. Neurosci. Meth.* 105: 167-174. (IF: 1,659)

Ribeiro, M.J., Serfőző, Z., **Papp, A.**, Kemenes, I., O'Shea, M., Yin, J.C.P., Benjamin, P., Kemenes, G. (2003). Cyclic AMP response-element binding (CREB)-like proteins in a moluscan brain: cellular localization and learning-induced phosphorylation. *Eur. J. Neurosci.* 18: 1223-1234. (IF: 3,872)

Slézia, A., Kékesi, A.K., Szikra, T., **Papp, A.M.**, Nagy, K., Szente, M., Maglóczky, Zs., Freund, T., Juhász, G. (2004). Uridine release during aminopyridine-induced epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 16: 490-499. (IF: 4,782)

Kemenes, G., Kemenes, I., Michel, M., **Papp, A.**, Müller, U. (2006). Phase-dependent molecular requirements for memory reconsolidation: differential roles for protein synthesis and protein kinase A activity. *J. Neurosci.* 26(23): 6298-6302. (IF: 7,506)