

Nöroprotektif tedavide yeni bir ilaç hedefi: İkinci jenerasyon tetrasiklinler

İsmail Yılmaz

İzmir Eğitim ve Uygulama Hastanesi, Bozyaka\ İzmir

Özet

Minosiklin ve doksisisiklin yüksek lipofilik özellikli ikinci jenerasyon tetrasiklinlerdir ve her iki ilaç da kan-beyin engelini kolayca geçebilir. Bu ilaçların antimikrobiyal özelliklerinden tamamen ayrı bir şekilde anti-inflamatuar özelliklerinin de bulunduğu belirlenmiştir. Yakın zaman önce yapılan çalışmalar minosiklinde daha belirgin olmak üzere ikinci jenerasyon tetrasiklinlerin global ve fokal beyin iskemisinde, Huntington hastalığında, amyotrofik lateral sklerozda, Parkinson hastalığında, multiple sklerozda, travmatik beyin hasarı ve medulla spinalis zedelenmesinde nöroprotektif etkileri olduğunu ortaya koymuştur. Nöroprotektif özellikte başta mikrogliyal aktivasyonun inhibisyonu olmak üzere anti-apoptotik ve anti-inflamatuar etkinliğin önemli rolü vardır. Bu bilgilerin daha fazla sayıda deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenmesi, nöronal ölümle giden bir çok serebral hastalıkta başta minosiklin olmak üzere bu ilaçların güvenli bir şekilde kullanımına ışık tutacaktır.

Anahtar kelimeler: Minosiklin, doksisisiklin, nöroprotektif tedavi

Abstract

Second generation tetracyclines: A novel drug target for the neuroprotective therapy

Minocycline and doxycycline are second generation tetracyclines that have high lipophilic properties and degree of access to brain. These drugs have antiinflammatory properties independent of their antimicrobial activities. Recently, it has been shown that these drugs (especially minocycline) display neuroprotective activity in animal models of global and focal cerebral ischemia, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease, multiple sclerosis, traumatic brain injury and spinal cord injury. Mainly microglial activation's inhibition, then, antiapoptotic activity and antiinflammatory activity play an important role on neuroprotection's features. To support these information by more clinical and experimental studies light the way for second generation tetracyclines, especially minocycline in cerebral diseases with neuronal death.

Key words: Minocycline, doxycycline, neuroprotection

Giriş

Tetrasiklinler, geniş etki spektrumlu bakteriyostatik antibiyotiklerdir ve bakteri ribozomunun 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Doksisisiklin ve minosiklin yarı sentetik ikinci jenerasyon tetrasiklinlerdendir ve günümüzde güvenilir birer antibiyotik olarak sıkça kullanılırlar. Kimyasal yapıları yönüyle orjinal tetrasiklinlerden bazı farklılıkları vardır. Bu durum onlara antibakteriyel açıdan fazla bir özellik kazandırmazken, farmakokinetik açıdan bazı avantajlar sağlar. Özellikle lipofilisiteleri önemli oranda değişir. Minosiklin oldukça yüksek bir lipid/su partiyon katsayısına

sahipken doksisisiklinde bu değer daha düşüktür. Buna rağmen iki ilaç da tüm tetrasiklinler içinde en yüksek partiyon katsayısına sahip ilaçlardır. Minosiklinde daha belirgin olmak üzere, lipofilisitelerinin yüksek olması biyolojik membranlardan (özellikle kan-beyin engeli) kolayca geçmelerini, dolayısıyla dokulara daha iyi penetre olmalarını sağlar (1). Çalışmalar bu iki ilacın antimikrobiyal etkilerinden tamamen ayrı olarak anti-inflamatuar etkilere de sahip olduklarını ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra yakın zaman önce yapılan çalışmalarda özellikle minosiklin global (2) ve fokal beyin iskemisinde (3), Huntington hastalığında (4), amyotrofik lateral skleroz (ALS)'da (5), Parkinson hastalığında (6), multiple skleroz (MS)'da (7), travmatik beyin hasarı (TBH) (8) ve medulla spinalis zedelenmesinde (9) belirgin nöroprotektif etkinlik göstermiştir.

Yazışma Adresi: Uz. Dr. İsmail Yılmaz
İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Bozyaka/İzmir
Tel: 0 232 250 50 50 Faks: 0 232 614 44 44
E-posta: driyilmaz@yahoo.com

İkinci Jenerasyon Tetrasiklinlerin İnflamasyon Üzerine Etkileri:

Profilaktik doksisisiklin tedavisi köpeklerde deneysel osteoartritin şiddetlenmesini engellerken, minosiklin insanlarda ağır bir inflamatuvar hastalık olan romatoid artrit tedavisinde dikkat çekici olumlu etkiler göstermiştir (10). Ayrıca bu ilaçlar *in vitro* ortamda insan indüklenebilir osteoartritik-nitrik oksit sentaz (OA-NOS; osteoartritik kıkırdak dokuda saptanır) ve kemirgenlerde makrofaj indüklenebilir nitrik oksit sentaz (i-NOS) aktivitesini de inhibe ederler (11). Doksisisiklin ve minosiklin patojenik doku yıkımıyla yakından ilişkili olan matriks metaloproteaz (MMP; geniş bir proteaz ailesi) inhibisyonu da yaparlar (10,12). Bunların yanı sıra polimorfnüveli lökositler (PMNL)'den serbest oksijen radikalleri salınımını ve lökosit aktivitesini azaltırlar (12,13). Minosiklin bir çok deneysel serebral hastalık modelinde mikroglial aktivasyonu da belirgin şekilde inhibe etmektedir (2,3,6,14-18). Nörotoksitesiteyle yakın ilişkisi bulunan mikroglial aktivasyon sonucu ortama pro-inflamatuvar sitokinler (TNF, MMP gibi), oksidanlar (NO gibi) ve yakın çevredeki nöronlardan glutamat salınımı olduğu düşünülürse minosiklinin bu özelliğinin önemi daha iyi anlaşılabilir (19). Minosiklin, nöronal ve mikroglial kültürlerde siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonu ve prostoglandin E₂ salınımı (3,20) yanı sıra eksitotoksinlere bağlı olarak artan IL-1 düzeyini de azaltmaktadır (14).

İkinci Jenerasyon Tetrasiklinlerin Nöronal Eksitotoksitesiteye Etkileri:

Minosiklin nöronal eksitotoksitesitenin önemli bir mediyatörü olan glutamatın toksik etkilerini azaltırken (3,14,21) ikinci jenerasyon tetrasiklinler NMDA (N-metil-D-aspartat; bir glutamat reseptörü) reseptörleriyle direkt ya da indirekt olarak etkileşime girerler. Her iki ilaç da fensiklidin'in (NMDA antagonisti) doz-yanıt eğrisini sola kaydırırken dizosilpin'in (NMDA kanal blokörü) doz-yanıt eğrisini sadece minosiklin sola kaydırmaktadır (22). Öte yandan minosiklin, *in vitro* ortamda NMDA'nın indüklediği mikroglial proliferasyonu ve p38 MAPK (p38 Mitojen Aktive edici Protein Kinaz) aktivasyonunu inhibe ederek (15) NMDA'ya bağlı hücre ölümünü engeller (5). Serebellar granüler nöron hücre kültüründe glutamatın eksitotoksik ajan olarak kullanıldığı bir çalışmada da, nöroprotektif etkinlikte NMDA reseptörlerinin ya da glutamata bağlı kalsiyum artışının engellenmesinin değil, p38 aktivitesindeki

inhibisyonun rolü olduğu vurgulanmaktadır (23). Minosiklin farelerde ibotemat'ın (bir NMDA analogu) intraserebral uygulanmasına bağlı oluşan serebral zedelenmeyi (24) ve *in vitro* ortamda H₂O₂ veya thapsigargin uygulanan nöroblastoma hücrelerinin ölümünü ise anti-apoptotik mekanizmalarla önlemiştir (5). Farelerin bazal ön beyin kolinerjik nöronlarında mu p75-saporin (yeni bir immünotoksik ajan) injeksiyonu ile oluşturulan lezyonda minosiklin tedavisi kolinerjik hücre kaybını azaltarak bellek fonksiyonlarını korumaktadır (25).

İkinci Jenerasyon Tetrasiklinlerin Nitrik Oksit Üzerine Etkileri:

Doksisisiklin ve minosiklinin iNOS mRNA düzeyini azalttığı ve iNOS aktivitesini inhibe ettiği kemirgen makrofaj hücreleri ve mikroglial hücrelerde yapılan *in vitro* çalışmalarla ortaya konmuş ve bu etkinin minosiklinde daha belirgin olduğu bulunmuştur (11,20). İkinci jenerasyon tetrasiklinler, global beyin iskemili sıçanlarda da iNOS mRNA indüksiyonunu azaltmış ve NOS protein ekspresyonunu engellemişlerdir (2). Minosiklin *in vitro* olarak, glial iNOS ekspresyonunu dolaylı ve/veya NO aracılı nörotoksitesiteyi direkt olarak inhibe ederek Parkinson's hastalığının MPTP (1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) modelinde nigrostriatal dopaminerjik nöron dejenerasyonunu önlemiştir (26). MPTP'li bir başka Parkinson modelinde de nitrotirozin (nitratif modifikasyon belirteci) düzeylerini düşürmüş, serbest oksijen radikalleri ve NO üretimiyle ilişkili enzimlerden olan NADPH-oksidad (İndirgenmiş Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat-oksidad) aktivasyonunu ve iNOS upregülasyonunu azaltmıştır (27). Huntington's hastalığının transgenik fare modelinde yapısal NOS düzeyine herhangi bir etki göstermezken, iNOS aktivitesini düşürerek hastalığın yavaş seyretmesini sağlamıştır (4). Minosiklin, spinal kord kültüründe eksitotoksinlere (glutamat ve kainat) bağlı olarak artan NO metabolitlerinin salınımını doğrudan engellerken (14), serebellar granüler nöron kültüründe p38 MAPK inhibisyonu yaparak NO sentezini bloke eder (28).

İkinci Jenerasyon Tetrasiklinlerin Apoptotik Sürece Etkileri

Doksisisiklin ve minosiklin, primer nöron kültüründe düşük doz iyonize radyasyonla oluşturulan oksidatif stres aracılı apoptotik süreçte, nöronları apoptozisten koruyarak radyasyon sonrası artan mikroglial hücre sayısını azaltırlar (16). Minosiklinin yaptığı apoptotik

inhibisyonda özellikle bu sürecin temel mediyatörlerinden olan kaspaz-1 (3,4,8,26), kaspaz-3 (4,5,21,24,29) ve kaspaz-9 (5) ekspresyonunu azaltmasının önemli rolü vardır. Bunun yanı sıra mitokondriyal sitokrom-c (mitokondriden sitoplazmaya salınımı, kaspaz-3 ve 9 aktivasyonu için güçlü bir uyarandır) salınımını engellemesi de bu sürecin bloke edilmesine katkı sağlar (5,30). Minosiklin nöronal hücre kültürü çalışmalarında da eksitotoksinlerin neden olduğu apoptotik süreci p38 MAPK inhibisyonu yapmak suretiyle önlemiştir (15,23).

İskemik ve Hemorajik İnme Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

Doksisiklin tavşanlarda serebral hava embolisine bağlı oluşan elektrofizyolojik ve nörolojik anormallikleri lökosit aktivitesinde yaptığı olası inhibisyonla azaltmıştır (31). Global beyin iskemili kobaylarda, iskemiden 30 dakika sonra yüksek dozda doksisiklin ve minosiklin verilen bir çalışmada bu iki ilacın hippocampal nöronlarda nöroprotektif etki gösterdiği bulunmuştur. Özellikle minosiklin iskemi sonrası mikroglial aktivasyonu önlerken astrogliazisi etkilememekte, IL-1-dönüştürücü enzim (kaspaz-1) mRNA indüksiyonunu da azaltmaktadır (2). Aynı grup, bir başka çalışmada fokal beyin iskemili sıçanlara daha düşük dozda minosiklin vererek, iskemi öncesi ve sonrasında minosiklin uygulanan hayvanlarda infarkt alanında anlamlı bir küçülme olduğunu saptamıştır (3). Serebral iskeminin fokal embolik modelinde minosiklin ve orta derecede hipotermi kombine edildiği çalışmada, kombinasyon tedavisi daha fazla etkinlik göstermiş ve infarkt hacmini diğer gruplara göre anlamlı derecede azaltmıştır (32). Rodentlerde neonatal hipoksik-iskemik beyin hasarı öncesi ya da sonrasında minosiklin uygulanmasıyla da tama yakın bir nöroprotektif etkinlik sağlanmıştır. Bu etkinin özellikle kaspaz-3 ve kalpain (eksitotoksik/nekrotik hücre ölümüyle ilişkili bir proteaz) aktivasyonundaki azalmayla ilişkili olduğu vurgulanmıştır (29). Sıçanların aksine ilginç bir şekilde minosiklin tedavisinin neonatal farelerde hipoksi-iskemi sonrası serebral hasarı artırdığı ifade edilmektedir (33). Minosiklin sıçanlarda deneysel intraserebral kanama sonrası artan MMP-12 düzeyini ve monositik hücre aktivasyonunu da azaltarak kanamaya bağlı oluşan serebral hasarlanmayı azaltır (34).

Parkinson Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

Farelerde ipsilateral substantia nigra pars compacta (SNpc) içerisine 6-hidroksidopamin (6-OHDA) verilerek oluşturulan Parkinson's hastalığı modelinde, minosiklin mikroglial aktivasyonu belirgin şekilde inhibe etmiş ve dopaminerjik nöronlar üzerine koruyucu bir etkinlik göstermiştir (6). Yine MPTP / MPP⁺ (1-Metil-4-fenilpiridin) ile oluşturulan Parkinson modellerinde de NO aracılı nörotoksisiteyi inhibe ederek nigrostriatal dopaminerjik nörodejenerasyonu önlemiştir. Bu etkide kaspaz-1 üretimi ve p38 MAPK fosforilasyonunu inhibe etmesinin (26) yanı sıra mikroglial aktivasyonu önlemesi ve matür IL-1 oluşumunu azaltmasının da payı olduğu düşünülmektedir (27). Minosiklinin, her ne kadar mikroglial aktivasyonu inhibe etse de dopaminerjik nöronların MPTP aracılı hasarlanmasını artırdığı da iddia edilmektedir. Buna striatal veziküller içerisine dopamin ve MPP⁺ geri alımını inhibe etmesinin neden olduğu düşünülmüştür (35).

Travmatik Beyin Hasarı Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

Deneysel travmatik beyin hasarı oluşturulan farelerde, TBH'dan önce ve sonra minosiklin verilen gruplarda TBH aracılı kaspaz-1 aktivasyonu, doku hasarı ve nörolojik disfonksiyon azalmıştır (8). Minosiklin, spinal kord hasarlı (SKH) hayvanlarda da hasar sonrası görülen reaktif astrogliazis ve sitokrom-c salınımını inhibe eder. Böylece aksonal bütünlüğü ve nöronal doku hasarını önleyerek SKH'ya bağlı fonksiyonel yetersizliği azaltır (9,30). Oligodentrositik apoptozisi ve mikroglial aktivasyonu azaltmasının da bu olumlu etkilerde payı bulunmaktadır (36).

ALS Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

ALS'nin genetik modelinde minosiklin, kreatin ve bu iki ilacın kombine olarak verildiği gruplarda rotarod aktivitelerinin uzadığı saptanmıştır. Özellikle kombine tedavi, motor performansı ve yaşam süresini daha belirgin ölçüde uzatır (37). Yine tek başına minosiklin ya da riluzol (glutamat antagonisti) ve nimodipin'in (kalsiyum kanal blokörü) eklendiği üçlü kombinasyon tedavisi ALS başlangıcını geciktirmiş ve kas gücündeki azalmayı yavaşlatarak, ortalama ömrü uzatmıştır (38,39). Minosiklinin buradaki olumlu etkileri özellikle mikroglial aktivasyonu inhibe etmesiyle açıklanırken benzer bir çalışmada da sitokrom-c salınımını azaltıcı etkisi üzerinde durulmuştur (5). ALS'li hastalarda minosiklinin

kullanımına yönelik klinik çalışmalara da başlanmıştır (40).

Huntington Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

Minosiklin, Huntington's hastalığının transgenik fare modelinde, kaspaz-1 ve 3 mRNA ekspresyonunu azaltarak, iNOS aktivitesini düşürmüş ve hastalığın daha yavaş seyretmesini sağlamıştır (4). Bunun aksine minosiklin ve doksisisiklin tedavisinin rotarod performansına ya da huntingtin birikimine belirgin bir olumlu etkisi olmadığına yönelik çalışmalar bulunsada (41), minosiklin Huntington'lu hastalarda denenmiş ve gayet iyi tolere edilmiştir (42). Hastalarda iki yıllık tedavi sonrası motor ve bellek fonksiyonlarında stabilite, psikiyatrik semptomlarda ise düzelme gözlenerek umut vaat eden sonuçlar alınmıştır (43).

MS Modellerinde İkinci Jenerasyon Tetrasiklinler:

Minosiklin, sıçan MS modelinde hastalığın kliniğini inflamasyon, mikroglial aktivasyon ve demiyelinizasyon gibi histopatolojik belirtileri inhibe ederek dramatik şekilde suprese eder. Bunu periferde Th-1'e karşı Th-2 benzeri immün yanıtı artırarak ve santral sinir sisteminde inflamatuvar kaskadı (özellikle mikroglial aktivasyon ve MMP-2) inhibe ederek gerçekleştirir. Ayrıca IL-10 sentezini artırır, TNF- α üretimi azaltırken IFN- γ sentezini ise fazla değiştirmez (7). Yine deneysel bir MS modeli olan otoimmün ensefalomyelitte MMP miktarını, MMP aktivasyonunu ve lökosit transmigasyonunu azaltarak MS için iyi bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermiştir (12). Minosiklin ve glatiramer asetat (immünomodülatör bir ajan) kombinasyonu da inflamasyonun neden olduğu aksonal kaybı ve demiyelinizasyonu engelleyerek hastalığın şiddetini anlamlı ölçüde azaltmıştır (44). Yine MS'li hastalarda yapılan küçük çaplı klinik araştırmalarda da minosiklin lehine olumlu sonuçlar alınmıştır (18).

Sonuç:

İkinci jenerasyon tetrasiklinler, yıllardır güvenli bir şekilde kullanılan ve yan etkileri rahat tolere edilebilen ilaçlardır. Yapılan çalışmalar ışığında, başta minosiklin olmak üzere bir çok serebral patolojide nöroprotektif birer ajan olarak kullanılabilme potansiyeline sahip oldukları söylenebilir. Özellikle minosiklinin yüksek lipofilik özelliğinden dolayı beyne geçişinin de iyi olması onu daha avantajlı kılmaktadır. Minosiklinin nöroprotektif etkinliğinde özellikle mikroglial hücre reaktivasyonunu azaltması, anti-apoptotik ve anti-

inflamatuvar etkileri üzerinde durulmaktadır. Ancak bu etkilerin daha moleküler düzeyde incelenmesi ve çok daha fazla sayıda yeni deneysel ve klinik çalışmanın yapılmasına da gereksinim olduğu akıldan çıkarılmamalıdır.

Kaynaklar

1. Saivin S, Houin G. Clinical pharmacokinetics of doxycycline and minocycline. *Clinical Pharmacokinetics* 1988;15:355-66.
2. Yrjanheikki J, Keinanen R, Pellikka M, Hokfelt T, Koistinaho J. Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(26):15769-74.
3. Yrjanheikki J, Tikka T, Keinanen R, Goldsteins G, Chan PH, Koistinaho J. A tetracycline derivative, minocycline, reduces inflammation and protects against focal cerebral ischemia with a wide therapeutic window. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(23):13496-500.
4. Chen M, Ona VO, Li M, Ferrante RJ, Fink KB, Zhu S et al. Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Nat Med* 2000; 6(7):797-801.
5. Zhu S, Stavrovskaya IG, Drozda M, Kim BY, Ona V, Li M et al. Minocycline inhibits cytochrome-c release and delays progression of amyotrophic lateral sclerosis in mice. *Nature* 2002; 417(6884):74-8.
6. He Y, Appel S, Le W. Minocycline inhibits microglial activation and protects nigral cells after 6-hydroxydopamine injection into mouse striatum. *Brain Res* 2001; 909(1-2):187-93.
7. Popovic N, Schubart A, Goetz BD, Zhang SC, Linington C, Duncan ID. Inhibition of autoimmune encephalomyelitis by a tetracycline. *Ann Neurol* 2002; 51(2):215-23.
8. Sanchez Mejia RO, Ona VO, Li M, Friedlander RM. Minocycline reduces traumatic brain injury-mediated caspase-1 activation, tissue damage, and neurological dysfunction. *Neurosurgery* 2001; 48(6):1393-9.
9. Wells EAJ, Hulbert RJ, Fehlings MG, Yong VW. Neuroprotection by minocycline facilitates significant recovery from spinal cord injury in mice. *Brain* 2003; 126:1628-37.
10. Patel RN, Attur MG, Dave MN, Patel IV, Stuchin SA, Abramson SB et al. A novel mechanism of action of chemically modified tetracyclines: inhibition of COX-2-mediated prostaglandin E2 production. *The Journal of Immunology* 1999; 163: 3459-67.
11. Amin AR, Attur MG, Thakker GD, Patel PD, Vyas PR, Patel RN et al. A novel mechanism of action of tetracyclines: Effects on nitric oxide synthases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1996; 93:14014-9.
12. Brundula V, Rewcastle NB, Metz LM, Bernard CC, Yong VW. Targeting leukocyte MMPs and

- transmigration: minocycline as a potential therapy for multiple sclerosis. *Brain* 2002;125 (6):1297-1308.
13. Clark WM, Calcagno FA, Gabler WL, Smith JR, Coull BM. Reduction of central nervous system reperfusion injury in rabbits using doxycycline treatment. *Stroke* 1994; 25(7):1411-15.
 14. Tikka T, Fiebich BL, Goldsteins G, Keinanen R, Koistinaho J. Minocycline, a tetracycline derivative, is neuroprotective against excitotoxicity by inhibiting activation and proliferation of microglia. *The Journal of Neuroscience* 2001; 21(8): 2580-88.
 15. Tikka TM, Koistinaho JE. Minocycline provides neuroprotection against N-methyl-D-aspartate neurotoxicity by inhibiting microglia. *The Journal of Immunol* 2001; 166(12):7527-33.
 16. Tikka T, Usenius T, Tenhunen M, Keinanen R, Koistinaho J. Tetracycline derivatives and ceftriaxone, a cephalosporin antibiotic, protect neurons against apoptosis induced by ionizing radiation. *J Neurochem* 2001; 78(6):1409-14.
 17. Zhang C, Lei B, Lam TT, Yang F, Sinha D, Tso MOM. Neuroprotection of photoreceptors by minocycline in light-induced retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45 (8): 2753-59.
 18. Yong VW, Wells J, Giuliani F, Casha S, Power C, Metz LM. The promise of minocycline in neurology. *Lancet Neurol.* 2004; 3(12):744-51.
 19. Gonzalez-Scarano F, Baltuch G. Microglia as mediators of inflammatory and degenerative diseases. *Annu Rev Neurosci* 1999; 22:201-40.
 20. Kim SS, Kong PJ, Kim BS, Sheen DH, Nam SY, Chun W. Inhibitory action of minocycline on lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide and prostaglandin E2 in BV2 microglial cells. *Arch Pharm Res* 2004; 27(3):314-8.
 21. Baptiste DC, Hartwick ATE, Jollimore CAB, Baldrige WH, Seigel GM, Kelly MEM. An investigation of the neuroprotective effects of tetracycline derivatives in experimental models of retinal cell death. *Molecular Pharmacology* 2004; 66 (5):1113-22.
 22. Munzar P, Li H, Nicholson KL, Wiley JL, Balster RL. Enhancement of the discriminative stimulus effects of phencyclidine by the tetracycline antibiotics doxycycline and minocycline in rats. *Psychopharmacology* 2002;160:331-6.
 23. Pi R, Li W, Lee NTK, Chan HHN, Pu Y, Chan LN et al. Minocycline prevents glutamate-induced apoptosis of cerebellar granule neurons by differential regulation of p38 and Akt pathways. *Journal of Neurochemistry* 2004; 91:1219-30.
 24. Dommergues MA, Plaisant F, Verney C, Gressens P. Early microglial activation following neonatal excitotoxic brain damage in mice: a potential target for neuroprotection. *Neuroscience* 2003; 121:619-28.
 25. Hunter CL, Quintero EM, Gilstrap L, Bhat NR, Granholm AC. Minocycline protects basal forebrain cholinergic neurons from mu p75-saporin immunotoxic lesioning. *European Journal of Neuroscience* 2004; 19:3305-16.26. Du Y, Ma Z, Lin S, Dodel RC, Gao F, Bales KR et al. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(25):14669-74.
 27. Wu DC, Jackson-Lewis V, Vila M, Tieu K, Teismann P, Vadseth C et al. Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson disease. *J Neurosci* 2002; 22(5):1763-71.
 28. Lin S, Zhang Y, Dodel R, Farlow MR, Paul SM, Du Y. Minocycline blocks nitric oxide-induced neurotoxicity by inhibition p38 MAP kinase in rat cerebellar granule neurons. *Neurosci Lett* 2001; 315(1-2):61-4.
 29. Arvin KL, Han BH, Du Y, Lin SZ, Paul SM, Holtzman DM. Minocycline markedly protects the neonatal brain against hypoxic-ischemic injury. *Ann Neurol* 2002; 52(1):54-61.
 30. Teng YD, Choi H, Onario RC, Zhu S, Desilets FC, Lan S et al. Minocycline inhibits contusion-triggered mitochondrial cytochrome-c release and mitigates functional deficits after spinal cord injury. *PNAS* 2004; 101(9): 3071-76.
 31. Reasoner DK, Hindman BJ, Dexter F, Subieta A, Cutkomp J, Smith T. Doxycycline reduces early neurologic impairment after cerebral arterial air embolism in the rabbit. *Anesthesiology* 1997; 87:569-76.
 32. Wang C, Yang T, Noor R, Shuaib A. Delayed minocycline but not delayed mild hypothermia protects against embolic stroke. *BMC Neurol* 2002; 2(1):1-4.
 33. Tsuji M, Wilson MA, Lange MS, Johnston MV. Minocycline worsens hypoxic-ischemic brain injury in a neonatal mouse model. *Experimental Neurology* 2004; 189:58-65.
 34. Power C, Henry S, Del Bigio MR, Larsen PH, Corbett D, Imai Y et al. Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinases. *Ann Neurol* 2003; 53:731-42.
 35. Yang L, Sugama S, Chirichigno JW, Gregorio J, Lorenz S, Shin DH et al. Minocycline enhances MPTP toxicity to dopaminergic neurons. *Journal of Neuroscience Research* 2003; 74:278-85.
 36. Stirling DP, Khodarahmi K, Liu J, McPhail LT, McBride CB, Steeves JD et al. Minocycline treatment reduces delayed oligodendrocyte death, attenuates axonal dieback, and improves functional outcome after spinal cord injury. *J Neurosci.* 2004; 24(9):2182-90.
 37. Zhang W, Narayanan M, Friedlander RM. Additive neuroprotective effects of minocycline with creatine in a mouse model of ALS. *Ann Neurol* 2003; 53:267-70.

38. Kriz J, Nguyen MD, Julien JP. Minocycline slows disease progression in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurobiology of Disease* 2002; 10:268-78.
39. Kriz J, Gowing G, Julien JP. Efficient three-drug cocktail for disease induced by mutant superoxide dismutase. *Ann Neurol* 2003; 53:429-36.
40. Gordon PH, Moore DH, Gelinas DF, Qualls C, Meister ME, Werner J et al. Placebo-controlled phase I/II studies of minocycline in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2004; 62 (10):1845-47.
41. Smith DL, Woodman B, Mahal A, Sathasivam K, Ghazi-Noori S, Lowden PAS, et al. Minocycline and doxycycline are not beneficial in a model of Huntington's disease. *Ann Neurol* 2003; 4:186-96.
42. Thomas M, Ashizawa T, Jankovic J. Minocycline in Huntington's disease: a pilot study. *Mov Disord*. 2004;19(6):692-5.
43. Bonelli RM, Hödl AK, Hofmann P, Kapfhammer HP. Neuroprotection in Huntington's disease: a 2-year study on minocycline. *Int Clin Psychopharmacol* 2004; 19:337-42.
44. Giuliani F, Metz LM, Wilson T, Fan Y, Bar-Or A, Yong VW. Additive effect of the combination of glatiramer acetate and minocycline in a model of MS. *J Neuroimmunol*. 2005; 158(1-2): 213-21.