

## Inhibitory Effects of EGCG on the Dopaminergic Neurons

Tag-Heo<sup>2</sup>, Sujeong Jang<sup>1</sup>, Song-Hee Kim<sup>1</sup>, Han-Seong Jeong<sup>1</sup> and Jong-Seong Park<sup>1,†</sup>

Departments of <sup>1</sup>Physiology and <sup>2</sup>Emergency Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju 501-746, Korea

This study was designed to investigate the effects of high concentration of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on the neuronal activity of rat substantia nigra dopaminergic neurons. Sprague-Dawley rats aged 14 to 16 days were decapitated under ether anesthesia. After treatment with pronase and thermolysin, the dissociated dopaminergic neurons were transferred into a chamber on an inverted microscope. Spontaneous action potentials and potassium currents were recorded by standard patch-clamp techniques under current and voltage-clamp modes respectively. 18 dopaminergic neurons (80%) revealed inhibitory responses to 40 and 100 μM of EGCG and 4 neurons (20%) did not respond to EGCG. The spike frequency and resting membrane potential of these cells were decreased by EGCG. The amplitude of afterhyperpolarization was increased by EGCG. Whole potassium currents of dopaminergic neurons were increased by EGCG (n=10). These experimental results suggest that high concentration EGCG decreases the neuronal activity of the dopaminergic neurons by altering the resting membrane potential and afterhyperpolarization.

**Key Words:** (-)-epigallocatechin-3-gallate, Dopaminergic neuron, Action potential, Afterhyperpolarization

### 서 론

요즘 많이 이용되는 음료 중 하나인 녹차의 생물학적 효과 및 약리학적 효과에 관한 연구는 녹차의 생체 내에서 항산화, 항암, 항염증 작용, 뇌허혈 동물 모델이나 세포 배양 모델에서 신경세포 보호 작용 등에 관하여 초점이 맞추어 광범위하게 이루어져 왔다 (Levites et al., 2001; Blum et al., 2001). 이와 같은 녹차의 효과는 녹차 내에 존재하는 (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epicatechin와 같은 catechin 등에 의하여 일어나는 것으로 알려져 있다 (Graham, 1992; Pan et al., 2000). 지금까지 녹차 catechin의 효과에 관한 연구들은 주로 위에 언급한 녹차 catechin의 기능에 관하여 이루어져 왔으나, 녹차 catechin의 신경세포의 기능 조절에 관한 연구, 특히 신경세포 활성화 조절에 관한 연구는 많지 않은 편이다 (Homma et al., 2001; Jeong et al., 2005).

EGCG의 신경세포 활성화 조절에 관한 연구는 말초신경계 신경세포를 대상으로 시작되었다. Homma 등은 처음으로 EGCG가 guinea pig 소장에 있는 근장신경을 농도 의존적으로 탈분극 시킴을 보고하였으며, Katayama 등은 같은 뉴런에서 EGCG가 콜린성 신호전달을 촉진시킴을 보고한 바 있다 (Homma et al., 2001; Katayama et al., 2002). 마우스와 쥐를 대상으로 한 실험에서 EGCG는 뇌혈관 장벽을 통과함으로써 중추신경계에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다 (Nakagawa and Miyazawa, 1997; Saganuma et al., 1998). Jeong 등은 이에 착안하여 중추신경계 신경세포인 내측 전정핵 뉴런을 대상으로 EGCG가 이들 뉴런의 자발적 발화율을 감소시키며 이들 뉴런을 과분극시킴으로 신경세포의 활성을 억제함을 보고하였다 (Jeong et al., 2005).

EGCG에 의한 생물학적 활성화는 농도에 따라 다른 것으로 알려져 있다. 일반적으로 저농도의 EGCG는 세포 보호 작용이 있는 반면에 고농도의 EGCG는 세포 독성 효과가 있다. 최근 Jeong 등은 뇌간에 위치하며 도파민을 분비하는 흑질 신경세포에서 5 μM과 10 μM의 EGCG가 자발적 발화를 증가시킴으로써 이 신경세포를 흥분시키는 효과가 있음을 보고한 바 있다 (Jeong et al., 2007). 본 연구는 patch-clamp 방법을 이용하여 Jeong 등이 관찰한 EGCG보다 고농도의 EGCG를 처치하여 흑질 신경세

\*논문 접수: 2009년 4월 7일

수정재접수: 2009년 6월 1일

†교신저자: 박종성, (우) 501-746 광주광역시 동구 학동 501-190,

전남대학교 의과대학 생리학교실

Tel: +82 62-220-4264, Fax: +82 62-232-1242

e-mail: Parkjs@chonnam.ac.kr

포의 활성화에 미치는 효과를 관찰함으로써 농도에 따라 상반된 반응을 유발하는 EGCG의 특성이 신경세포 활성 조절에도 적용되는지를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 흑질 신경세포의 분리

생후 14~16일 사이의 Sprague-Dawley 흰쥐에서 Kay와 Wong의 방법에 의하여 흑질 신경세포를 분리하였다 (Kay and Wong, 1986). 흰쥐를 ether로 마취한 후, 두피 및 두개골을 제거하고 흑질이 위치하는 뇌간 부위를 적출하였다. 적출한 조직은 95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>로 포화된 인공 뇌척수액 (4°C)에 보관하고, 뇌조직 절편기 (Vibroslice, WPI, USA)를 사용하여 400 μm의 두께로 관상면으로 절단하여 내측 전정핵이 포함된 뇌절편을 만들었다. 뇌절편은 실온의 배양 용액에서 1시간 이상 배양한 다음 단백질 분해효소인 pronase (Sigma, USA)와 thermolysin (Sigma)을 이용하여 각각 0.2 mg/ml 농도에서 효소처리 과정을 거쳤다. 효소처리가 끝난 절편은 다시 실온의 배양액 속에서 배양하면서 흑질 부위는 흰쥐 뇌지도를 참조하여 21G 주사침으로 천공하여 얻었고 이를 도립현미경 위의 실험 용기에 옮긴 후 작은 피펫을 이용하여 단일 세포로 분리하였다. 분리된 세포는 용기의 바닥에 가라앉아 안정화된 다음에 세포전류를 기록하였다.

### 2. 용액의 조성 및 시약

배양액의 조성 (mM)은 124 NaCl, 5 KCl, 1.2 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.3 MgSO<sub>4</sub>, 2.4 CaCl<sub>2</sub>, 10 Glucose, 24 NaHCO<sub>3</sub> 등으로 구성되었으며, 세포외 용액 (mM)은 3 KCl, 140 Choline-Cl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 2 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES (N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]), 30 Glucose, pH 7.4로 하였고, 세포내 용액 (단위; mM)은 140 KCl, 2 MgCl<sub>2</sub>, 0.1 CaCl<sub>2</sub>, 10 HEPES, 0.1 EGTA (ethylene glycol-bis(β-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid), 2 Mg-ATP이며 pH는 7.3으로 하였다. 세포에 대한 약물 투여는 중력을 이용한 관류장치를 이용하여 용기내 용액을 순환시켰다. 본 실험에서 사용한 약물은 Sigma사 (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

### 3. 이온 전류의 기록

분리 흑질 신경세포에서 Hamill 등의 whole-cell patch clamp 방법을 이용하여 자발적 활동전위를 기록하였다. 기록용 전극은 미세 유리 전극 제조기 (Narishige, Japan)

와 microforge (Narishige, Japan)를 이용하여 저항이 3~5 MΩ이 되도록 제작하였다. 막전압 고정과 전류의 측정은 Axopatch 200B patch clamp 증폭기 (Axon, USA)를 이용하여 Digidata 1200B (Axon, USA) interface를 통하여 컴퓨터와 연결하였다. 막전압 조절과 실험결과 얻어진 포타슘 전류의 기록 및 자료 분석은 pCLAMP 7.0 software (Axon, USA)를 사용하였으며, oscilloscope를 사용하여 전류의 변화를 동시에 관찰하였다.

### 4. 실험결과 분석

기록된 자료는 pCLAMP 7.0 및 Microcal Origin 4.1 (Microcal software Inc., USA) 프로그램으로 분석하였다. 실험측정치는 변량 분석 (ANOVA)과 Bonferroni 사후검정을 시행하여  $P < 0.05$ 를 유의성의 기준으로 삼았으며 평균 ± 표준오차로 표시하였다.

## 결 과

### 1. 흑질 도파민성 신경세포의 자발적 흥분 발화에 미치는 EGCG의 효과

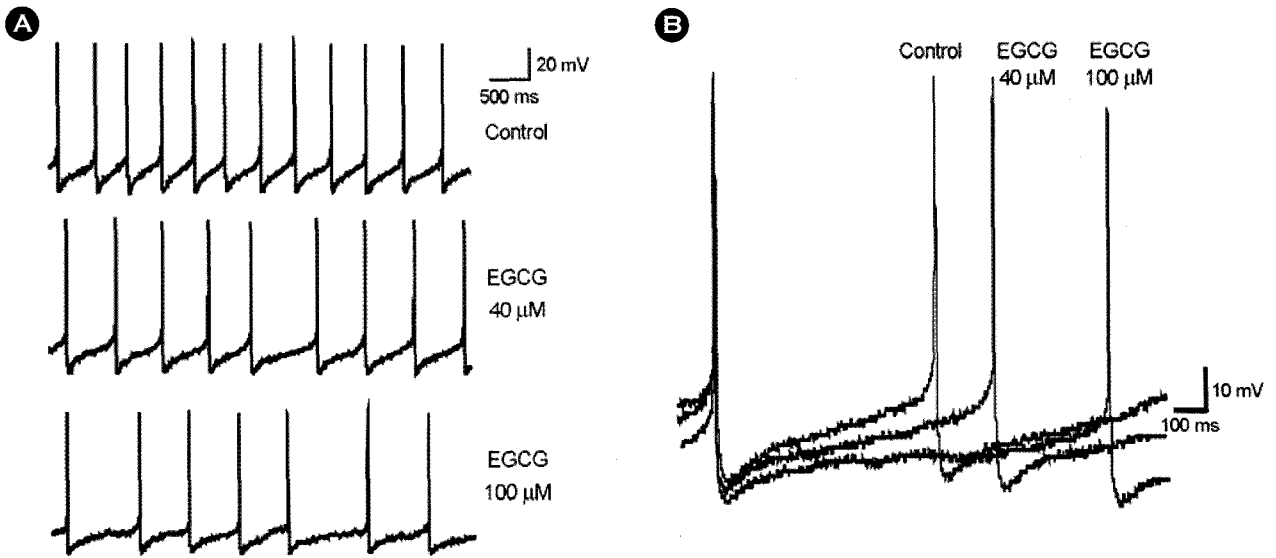
EGCG가 흑질 도파민성 신경세포의 흥분성에 미치는 직접적인 효과를 whole-cell patch clamp recording의 전류 고정법으로 관찰하였다. 전류를 0 nA로 고정하였을 때 흑질 도파민성 신경세포는 자발적 활동전위를 나타내었다. EGCG에 의하여 총 22개의 신경세포 중 18개의 세포에서 반응을 보였으며 4개의 신경세포는 반응을 보이지 않았다. 반응을 보이는 18개의 신경세포는 모두 동일한 반응을 나타내었으며 이들은 40 μM과 100 μM의 EGCG에 의하여 흥분성이 억제되는 반응을 나타내었다 (Fig. 1).

#### 1) EGCG가 흑질 도파민성 신경세포 발화에 미치는 효과

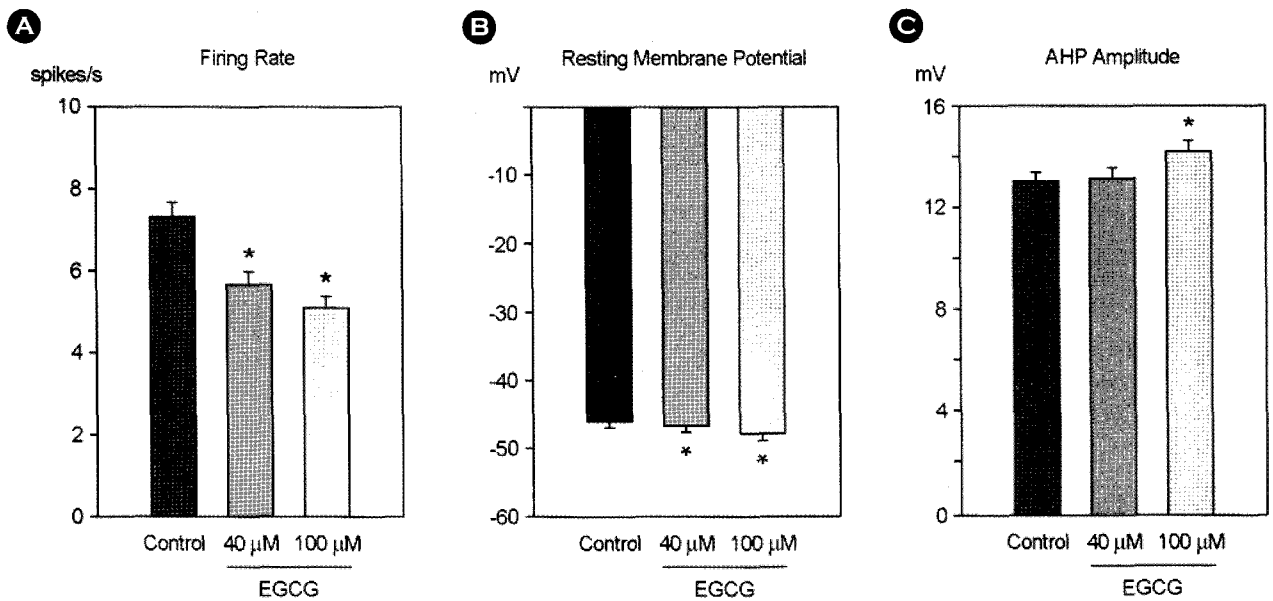
흑질 도파민성 신경세포의 발화율은 21.90±1.17 spikes/sec에서 40, 100 μM EGCG에 의하여 각각 16.92±0.95 spikes/sec ( $P < 0.05$ ), 15.30±0.77 spikes/sec ( $P < 0.05$ )으로 통계적으로 유의하게 감소하였다 (Fig. 2A).

#### 2) EGCG가 흑질 도파민성 신경세포 안정막 전압에 미치는 효과

흑질 도파민성 신경세포의 안정막 전압은 -46.54±0.84 mV이었으며, 이는 40 μM EGCG에 의하여 -47.13±0.89 mV로 증가하였으며 ( $P < 0.05$ ), 100 μM EGCG에 의하여 -48.36±0.87 mV로 통계적으로 유의하게 ( $P < 0.05$ ) 과분극되었다 (Fig. 2B).



**Fig. 1.** Inhibitory effects of EGCG on spontaneous activity of rat substantia nigra dopaminergic neurons. (A) effects of 40 and 100  $\mu\text{M}$  EGCG respectively, (B) comparison of EGCG effects in different concentrations on the shape of action potentials.



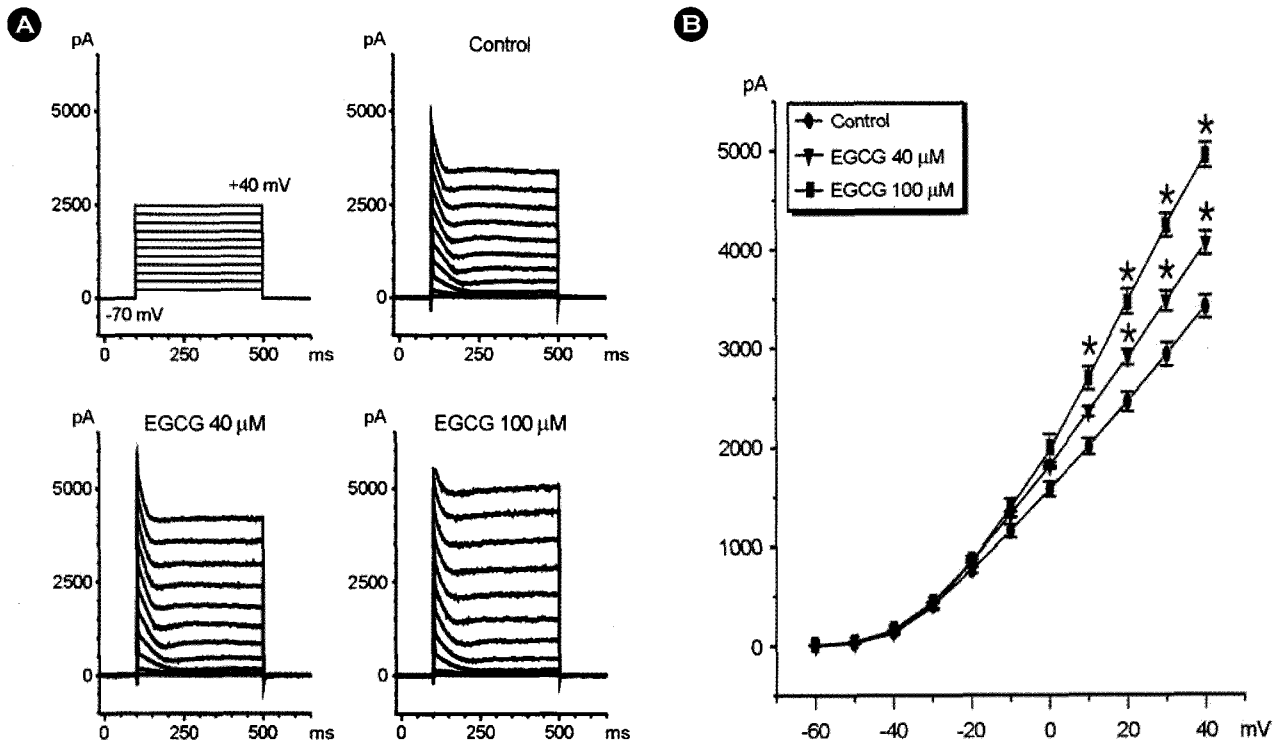
**Fig. 2.** Effects of EGCG on the firing rate (A), resting membrane potential (B), afterhyperpolarization (C) of substantia nigra dopaminergic neurons ( $n=18$ , \*significantly different from the control with  $P<0.05$ ).

3) EGCG가 흑질 도파민성 신경세포 후과분극 크기에 미치는 효과

흑질 도파민성 신경세포의 후과분극은  $12.98 \pm 0.32$  mV에서 40  $\mu\text{M}$  EGCG에 의하여  $13.08 \pm 0.45$  mV로 증가하였으며, 100  $\mu\text{M}$  EGCG에 의하여  $13.08 \pm 0.44$  mV로 ( $P<0.05$ ) 증가하였다 (Fig. 2C).

2. EGCG가 흑질 도파민성 신경세포 포타슘 전류에 미치는 효과

EGCG가 흑질 도파민성 신경세포의 포타슘 전류에 미치는 영향을 확인하고자 voltage-clamp mode 하에서 포타슘 전류를 기록한 후 EGCG의 효과를 관찰하였다. 유지 전압을 -70 mV로 하고 10 mV 간격으로 -60 mV에서 +40 mV까지 단계적으로 탈분극 펄스를 매 10초 마다 400



**Fig. 3.** Effects of EGCG on the outward potassium currents in dopaminergic neurons. In each panel, the cell was held at -70 mV and test depolarization with duration of 400 ms were applied from -60 mV to +40 mV in 10 mV increments. **(A)** effects of 40 μM and 100 μM EGCG, **(B)** current-voltage relationships for the potassium currents. \*Significantly different from control ( $P < 0.05$ ).

ms 동안 자극하였다. 총 16예에서 도파민성 신경세포의 포타슘 전류는 40 μM EGCG에 의하여  $3482 \pm 121$  pA에서  $4311 \pm 342$  pA로 증가하였으며 ( $P < 0.05$ ), 100 μM EGCG에 의하여서는  $5020 \pm 232$  pA로 ( $P < 0.05$ ) 증가하는 반응을 나타내었다 (Fig. 3).

## 고찰

뇌간에 위치하는 흑질 (substantia nigra)은 주로 도파민성 신경세포로 구성되어 있으며, 기저핵으로 투사되어 운동 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Kaplan and Miller, 1997). 이들 흑질 신경세포들은 신경독소에 의하여 손상되면 도파민 분비가 감소하고, 이 도파민 결핍에 따른 운동 장애가 발생하는 파킨슨씨병이 유발된다 (Blum et al., 2001). 전기생리학적으로 흑질에 있는 도파민성 신경세포는 외부의 자극이 없어도 스스로 활동전위를 발생시키는 자동 발화능이 있다. 흑질 신경세포의 신경 활동성은 이 신경세포에서 분비되는 도파민의 분비와 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는데, 활동전위의 자발적 발화가 burst 형태로 전환되면 도파민의 분비가 증가하는 것으로 보고되어 있다 (Overton and Clark, 1997; Prisco et

al., 2002).

Jeong 등 (2007)은 흑질 도파민성 신경세포의 활동성에 미치는 저농도 EGCG의 효과를 관찰한 바 있다. 이들은 5 μM과 10 μM의 EGCG는 흑질 도파민성 신경세포의 자발적 발화율을 증가시켰으며, 안정막 전압을 탈분극시켰으며, 후과분극 크기를 감소시킴으로써 흥분성을 증가시켰다고 보고하였으며 이와 같이 흑질 신경세포의 흥분성이 증가하는 것은 이들 신경세포에서의 도파민 분비를 증가시키는 요인으로 작용할거라고 추론하였다. 본 연구에서는 Jeong 등이 실험한 EGCG보다는 고농도인 40 μM과 100 μM의 EGCG를 이용하여 이들이 미치는 효과를 관찰하였다. 고농도의 EGCG는 저농도의 경우와는 반대로 흑질 신경세포의 자발적 발화율을 감소시켰으며, 세포를 과분극시키며 후과분극 크기를 증가시켰다. 이러한 반응은 흑질 신경세포의 흥분성을 감소시키는 것으로서 흑질 신경세포에서의 도파민 분비를 억제시키는 요인으로 작용할 수 있을 것으로 추론된다.

본 연구결과와 Jeong 등의 결과를 종합하면 EGCG는 신경세포 활동성 조절에서 농도에 따라 상반된 효과를 유발함을 알 수 있다. 이와 같이 EGCG가 농도에 따라 다른 반응을 보이는 것은 EGCG의 항암 작용이나 신경세

포 보호 작용과 같이 세포 생존에 미치는 효과를 규명한 연구에서도 확인할 수 있다. EGCG는 항산화 작용, 혈관 신생억제, 암세포 고사 촉진 등의 기전을 통하여 항암 작용을 하는 것으로 알려져 있으며, 이 때 작용하는 EGCG는 비교적 고농도이다 (Mandel et al., 2004; Zaveri, 2006). 신경계 세포주인 SH-SY5Y에서 cDNA microarray 기법이나 real-time PCR을 이용한 연구에서 EGCG는 50  $\mu\text{M}$  이상의 농도에서는 세포에 독성 효과를 갖는 것으로 보고되어 있으나, 본 실험에서와 같이 일차 분리 배양한 신경세포를 대상으로 독성 효과를 규명한 연구는 아직 없다 (Mandel et al., 2004). 본 실험에서 비교적 고농도의 EGCG에 대하여 반응을 보이는 세포는 장시간 기록 조건에서도 세포의 활성이 사라지지 않고 유지되는 것으로 보아 EGCG의 세포 활성에 미치는 영향은 세포 의존적인 것으로 보인다. 이에 비하여 저농도의 EGCG는 신경 퇴행성 질환 모델에서 다양한 외부 자극 요건에서 신경세포의 고사를 억제하는 세포 보호 작용을 가지고 있다.

신경세포의 활동성에 영향을 미치는 것은 이온 채널의 전기적 활성이다. EGCG는 신경세포에서 다양한 이온 채널을 조절하는 것으로 알려져 있다 (Johnston et al., 1994). Kim 등은 EGCG가 쥐의 척수후근절 신경세포에서 소듐 전류를 억제함을 보고하였고, Deng 등은 해마의 신경세포에서 EGCG가 소듐 전류를 억제함을 보고하였다 (Kim et al., 2009; Deng et al., 2008). 그리고 Campos-Toimil과 Orallo는 EGCG가 혈관 평활근세포의 전압 의존성 칼슘 전류를 억제한다고 하였으며, Bae 등은 해마 신경세포에서 EGCG가 AMPA에 의하여 유도된 칼슘 증가를 억제함으로써 AMPA 수용체와 연결된 이온채널의 조절에 관여한다고 하였다 (Campos-Toimil and Orallo, 2007; Bae et al., 2002).

흥분성 세포에서 포타슘 전류는 세포의 막전압이나 활동전위 모양변화, 그리고 흥분 발사의 조정 등을 통하여 세포의 흥분성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 포타슘 채널이 열리게 되면 세포는 과분극되어 흥분성이 억제되고, 닫히게 되면 탈분극되어 흥분성이 증가하게 된다 (Johnston et al., 1994; Kaplan and Miller, 2000). 본 실험에서 voltage-clamp 방법에 의하여 EGCG는 전체 포타슘 전류를 증가시켰음을 관찰하였으며, current-clamp 방법에 의하면 EGCG가 후과분극의 크기를 증가시켰음을 관찰하였다. 신경세포 활동전위에서 재분극 후에는 나타나는 후과분극은 주로 칼슘 의존성 포타슘 전류 (calcium-dependent potassium current)에 의하여 형성되는 것으로 알

려져 있다 (Sah and Faber, 2002). 이를 종합하면 EGCG는 후과분극의 크기를 증가시키고, 그 결과 이 세포의 흥분성을 억제시키는 것으로 생각할 수 있다.

본 실험에서와 같이 후과분극 신경세포에서 칼슘 의존성 포타슘 전류를 조절함으로써 이 세포의 흥분양상이 변화된다는 보고들이 많이 있다. Prisco 등은 후과분극 신경세포에서 group I metabotropic glutamate 수용체와 NMDA ionotropic 수용체가 동시에 활성화되고 칼슘 의존성 포타슘 전류가 차단되면 burst 형태의 활동전위가 유발됨을 보고한 바 있으며, Johnson과 Seutin은 칼슘 의존성 포타슘 전류의 선택적 차단제인 apamin에 의하여 이 전류가 차단되면 활동전위가 pacemaker 형태에서 multiple spike burst 형태로 전환된다고 보고한 바 있다 (Prisco et al., 2002; Johnson and Seutin, 1997).

뇌간에 위치하는 내측 전정핵 신경세포는 후과분극의 도파민성 신경세포와 마찬가지로 외부의 자극이 없어도 활동전위를 유발하는 자발적 발화를 하고 있다 (Johnston et al., 1994). Jeong 등은 저농도인 0.5  $\mu\text{M}$ 과 1  $\mu\text{M}$ 의 EGCG가 내측 전정핵 신경세포의 흥분성에 미치는 효과를 발표한 바 있다. 이들에 의하면 EGCG는 내측 전정핵 신경세포의 자발적 발화율을 감소시켰으며 세포를 탈분극시켰다. 내측 전정핵 신경세포에서는 후과분극 신경세포에서와 달리 EGCG가 후과분극의 크기에는 영향을 미치지 않았다 (Jeong et al., 2005). 이는 내측 전정핵 신경세포에서 EGCG가 칼슘 의존성 포타슘 전류에는 영향을 미치지 않고 다른 이온통로에 영향을 미침으로써 이 신경세포의 활성을 조절하는 것으로 생각된다. 그리고 EGCG가 신경세포의 흥분성에 미치는 영향을 보면 EGCG는 비슷한 농도에서도 세포에 따라 다른 반응을 나타낸다. 저 농도의 EGCG가 내측 전정핵 신경세포에서는 흥분성을 억제하는 반응을 유발하는 반면 Jeong 등의 실험에서와 같이 후과분극 신경세포의 흥분성을 증가시키는 반응을 유발하는 것은 EGCG에 의하여 세포내에서 이차적으로 동원되는 시스템의 차이에서 기인하는 것으로 여겨진다.

---

#### 감사의 글

본 연구는 2005년도 전남대학교학술연구비 지원에 의하여 이루어졌습니다.

## REFERENCES

- Bae JH, Mun KC, Park WK, Lee SR, Suh SI, Baek WK, Yim MB, Kwon TK, Song DK. EGCG attenuates AMPA-induced intracellular calcium increase in hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002. 290: 1506-1512.
- Blum D, Torch S, Lambeng N, Nissou M, Benabid AL, Sadoul R, Verna JM. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to the apoptotic theory in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*. 2001. 65: 135-172.
- Campos-Toimil M, Orallo F. Effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate in  $Ca^{2+}$ -permeable non-selective cation channels and voltage-operated  $Ca^{2+}$  channels in vascular smooth muscle cells *Life Sci*. 2007. 80: 2147-2153.
- Cordey M, Gundimeda U, Gopalakrishna R, Pike CJ. Estrogen activates protein kinase C in neurons: role in neuroprotection. *J Neurochem*. 2003. 84: 1340-1348.
- Deng HM, Yin ST, Yan D, Tang ML, Li CC, Chen JT, Wang M, Ruan DY. Effects of EGCG on voltage-gated sodium channels in primary cultures of rat hippocampal CA1 neurons. *Toxicology* 2008. 252: 1-8.
- Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med*. 1992. 21: 334-350.
- Gu X, Blatz AL, German DC. Subtypes of substantia nigra dopaminergic neurons revealed by apamin: autoradiographic and electrophysiological studies. *Brain Res Bull*. 1992. 28: 435-440.
- Homma T, Hirai K, Hara Y, Katayama Y. Tea catechin, (-)-epigallocatechin gallate, causes membrane depolarizations of myenteric neurons in the guinea-pig small intestine. *Neurosci Lett*. 2001. 309: 93-96.
- Jeong HS, Jang S, Jang MJ, Lee SG, Kim TS, Heo T, Lee JH, Jun JY, Park JS. Effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on the activity of substantia nigra dopaminergic neurons. *Brain Res*. 2007. 1130: 114-118.
- Jeong HS, Kim YS, Park JS. Modulation of neuronal activity by EGCG. *Brain Res*. 2005. 1047: 267-270.
- Johnson SW, Seutin V. Bicuculline methiodide potentiates NMDA-dependent burst firing in rat dopamine neurons by blocking apamin-sensitive  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  currents. *Neurosci Lett*. 1997. 231: 13-16.
- Johnston AR, MacLeod NK, Dutia MS. Ion conductances contributing to spike repolarization and afterpotential in rat medial vestibular nucleus neurons. *J Physiol*. 1994. 481: 61-77.
- Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*. 2000. 10: 381-391.
- Katayama Y, Homma T, Hara Y, Hirai K. Tea catechin, (-)-epigallocatechin gallate, facilitates cholinergic ganglion transmission in the myenteric plexus of the guinea-pig small intestine. *Neurosci Lett*. 2002. 319: 63-66.
- Kay AR, Wong RK. Isolation of neurons suitable for patch-clamping from adult mammalian central nervous systems. *J Neurosci Methods* 1986, 16: 227-238.
- Kim TH, Lim JM, Kim SS, Kim J, Park M, Song JH. Effects of (-) epigallocatechin-3-gallate on  $Na^+$  currents in rat dorsal root ganglion neurons. *Eur J Pharmacol*. 2009. 604: 20-26
- Lee JH, Song DK, Jung CH, Shin DH, Park JW, Kwon TK, Jang BC, Mun KC, Kim SP, Suh SI, Bae JH. (-)-Epigallocatechin gallate attenuates glutamate-induced cytotoxicity via intracellular  $Ca^{2+}$  modulation in PC12 cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004. 31: 530-536.
- Levites Y, Weinreb O, Maor G, Youdim MB, Mandel S. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced dopaminergic neurodegeneration. *J Neurochem*. 2001. 78: 1073-1082.
- Maher P. How protein kinase C activation protects nerve cells from oxidative stress-induced cell death. *J Neurosci*. 2001. 21: 2929-2938.
- Mandel S, Weinreb O, Amit T, Youdim, MB. Cell signaling pathways in the neuroprotective actions of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate: implications for neurodegenerative diseases. *J Neurochem*. 2004. 88: 1555-1569.
- Nakagawa K, Miyazawa T. Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat. *J Nutr Sci Vitaminol*. (Tokyo) 1997, 43: 679-684.
- Overton PG, Clark D. Burst firing in midbrain dopaminergic neurons. *Brain Res Brain Res Rev*. 1997. 25: 312-334.
- Pan MH, Lin-Shiau SY, Ho CT, Lin JH, Lin JK. Suppression of lipopolysaccharide-induced nuclear factor-kappaB activity by theaflavin-3,3'-digallate from black tea and other polyphenols through down-regulation of IkappaB kinase activity in macrophages. *Biochem Pharmacol*. 2000. 15: 357-367.
- Prisco S, Natoli S, Bernardi G, Mercuri NB. Group I metabotropic glutamate receptors activate burst firing in rat midbrain dopaminergic neurons. *Neuropharmacology* 2002. 42: 289-296.

- Sah P. Ca<sup>(2+)</sup>-activated K<sup>+</sup> currents in neurones: types, physiological roles and modulation. *Trends Neurosci.* 1996. 19:150-154.
- Sah P, Faber ES. Channels underlying neuronal calcium-activated potassium currents. *Prog Neurobiol.* 2002. 66: 345-353.
- Shepard PD, Bunney BS. Repetitive firing properties of putative dopamine-containing neurons in vitro: regulation by an apamin-sensitive Ca<sup>(2+)</sup>-activated K<sup>+</sup> conductance. *Exp Brain Res.* 1991. 86:141-150.
- Singer CA, Figueroa-Masot XA, Batchelor RH, Dorsa DM. The mitogen-activated protein kinase pathway mediates estrogen neuroprotection after glutamate toxicity in primary cortical neurons. *J Neurosci.* 1999. 19: 2455-2463.
- Suganuma M, Okabe S, Oniyama M, Tada Y, Ito H, Fujiki H. Wide distribution of [<sup>3</sup>H](–)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue. *Carcinogenesis* 1998. 19: 1771-1776.
- Zaveri NT. Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.* 2006. 78: 2073-2080.
-