

A pituiter adenilát cikláz aktiváló polipeptid és a vazoaktív intesztinális pepptid
cerebrovaszkuláris hatásai újszülött malacban

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Lenti Laura



Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Élettani Intézet

Szeged

2009

Bevezetés

Az agy perinatális időszakban létrejövő hipoxiás, illetve iszkémiás károsodása olyan jelentős klinikai probléma, mely újszülöttek millióit érinti világszerte, komoly terhet róva ezzel mind az egészségügyre, mind a beteg gyerekeket gondozó családokra. Mivel egyelőre nem áll rendelkezésre specifikus, hatékony és biztonsággal alkalmazható terápia az idegrendszeri károsodás kezelésére, ezért új neuroprotektív stratégiák kifejlesztése és tesztelése a mai napig célját képezi az idegrendszerrel foglalkozó kutatásoknak.

Az agyi iszkémia/reperfúzió (I/R) nem csak a neuronok funkciózavarát, illetve pusztulását idézi elő, hanem kisebb vagy nagyobb mértékben az úgynevezett neurovaszkuláris egység minden elemét károsítja. Neurovaszkuláris egységnek az idegsejtek, asztrociták, és az agyi mikrovaszkuláris sejtípusok olyan funkcionális és morfológiai egységét nevezzük, amely biztosítja az az agyi metabolizmus és véráramlás közötti szoros csatolást. I/R-t követően a neurovaszkuláris egység funkciózavara az agyi erek fiziológiás reaktivitásának sérülésében is jelentkezik. Ez a folyamat tovább súlyosbítja a már meglévő idegsejtkárosodást és hozzájárul az agyi infarktus kialakulásához. A sejtpusztulást eredményező folyamatokkal párhuzamosan azonban az iszkémiás károsodást mérséklő endogén neuroprotektív mediátorok, pl. a pituiter adenilát cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) és a vazóaktív intesztinális peptid (VIP) is felszabadulhatnak a neurovaszkuláris egység elemeiből. A PACAP és a VIP az emlős szervezet széles, egymással részben átfedő hatásspektrummal rendelkező hírvivő molekulái. A központi idegrendszerben hatásos értágítók, neuroprotektív hatásuk pedig számos inzultussal szemben, így az agyi infarktus különböző modelljeiben is bizonyított.

Mivel ezeknek a peptideknek az agyi vérkeringésre kifejtett hatása, különösképpen pedig az újszülött agyi keringés szabályozásában betöltött szerepe egyelőre még tisztázatlan, elsődleges célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a két, az emberi szervezetben is előforduló, biológiailag aktív PACAP izoformának (PACAP38 és PACAP27), illetve a VIP-nek az újszülött agy ereire gyakorolt hatását. Elemezni kívántuk ezen neuropeptidek vazóaktív hatásának mechanizmusát is különböző enzimbénítók, illetve rövid, mesterséges PACAP fragmentumok segítségével. Kísérleteinkben az újszülött malac modellt alkalmaztuk, mivel ez a modell jól reprezentálja a humán újszülött központi idegrendszerének fejlettségi fokát, metabolikus és hemodinamikai paramétereit.

Második kísérletsorozatunkban arra kerestünk választ, vajon a PACAP illetve a VIP előkezeléssel mérsékelhetők-e az I/R által súlyosan károsított agyi érreakciók. Korábbi eredmények utalnak arra, hogy mind az N-metil-D-aszpartát (NMDA) által, mind a hiperkapnia által létrehozott vazodilatáció mértéke jelentősen csökken I/R-t követően. Ugyanakkor az említett stimulusokra bekövetkező értágulat mechanizmusai alapjaikban véve különböznek egymástól. A hiperkapnia nem csak *in vivo*, hanem izolált ereken is potens vazodilatátor, a hatás kialakulása azonban az endotélium roncsolásával megakadályozható. Ezzel szemben az NMDA kizárólag *in vivo* okoz értágulatot, úgy, hogy kérgi idegsejtek közbeiktatásával végső soron olyan neuronokat aktivál, melyekből az ér simaizom relaxációját előidéző nitrogén monoxid (NO) szabadul fel. A hiperkapniára adott agyi értágulat hiánya tehát az endotélium funkcionális károsodásának, míg a glutamát-receptor agonista NMDA-val kiváltott vazodilatáció a neuronális–vaszkuláris csatolás zavarának érzékeny indikátora, így alkalmasak a PACAP és a VIP által kifejtett lehetséges neuronális-vaszkuláris protektív hatás különböző aspektusainak vizsgálatára.

Bár az NMDA által létrehozott vazodilatáció mechanizmusát vizsgáló irodalom igen terjedelmes és mélyreható, mégis, csak a közelmúltban derült fény arra, hogy az NMDA egyes felnőtt állatmodellekben (egérben és patkányban) agykérgi kúszó depolarizációt (cortical spreading depression [CSD]) és egyidejű karakterisztikus kortikális véráramlás (cortical blood flow [CoBF])-növekedést hoz létre. Mivel sem malacokban, sem más újszülöttek modellben eddig még nem vizsgálták a CSD lehetséges szerepét az NMDA-függő hiperémia hátterében, ezért kiegészítő kísérleteink ennek a kérdésnek a megválaszolására irányultak.

Anyagok és módszerek

Műtéti eljárás

Kísérleteinket újszülött malacokon végeztük (1-3 napos, 1-3 kg, n=305), a Szegedi Tudományegyetem Állatetikai Bizottságának engedélyével. Az altatást nátrium-tiopentállal (40 mg/kg ip.) és α -kloralózzal (40 mg/kg iv.) indukáltuk, a későbbiekben pedig további α -kloralóz injekció (2-7 mg/kg/h iv.) adására került sor az egyenletes mélységű anesztézia fenntartásának érdekében. Az állatok jobb femorális artériáját és vénáját megkanuláltuk, ami lehetőséget nyújtott az artériás középnyomás és az artériás vérgáz-paraméterek monitorizálására,

illetve intravénás folyadék- és gyógyszerbevitelre. Az állatokat a légsővön ejtett metszésen keresztül intubáltuk, és szobalevegővel lélegeztettük. Az állatok maghőmérsékletét melegítópárna segítségével tartottuk 37 °C körüli hőmérsékleten, amelyet rektális szonda segítségével ellenőriztünk. A kísérleteket iv. alkalmazott koncentrált KCl oldat beadásával termináltuk.

A zárt koponyaablak

Az állatokat a bal fali lebeny fölé helyezett zárt koponyaablakkal láttuk el. A műtét során az állatok fejét sztereotaxiás készülékbe rögzítettük. A skalp eltávolítását követően a falcsonton körkörös kraniotómiát készítettünk, majd a dura matert eltávolítottuk. Az ablakot, mely egy rozsdamentes acélgyűrűbe helyezett üveg fedőlemezről állt, ebbe a nyílásba helyeztük, és orvosi cementtel rögzítettük. Az acélgyűrűn található 3 furatba illesztett szondák tették lehetővé az ablak átmosását, és a stimulusként szolgáló peptidek, illetve NMDA agyfelszínre juttatását. A műtétet követően az ablakot mesterséges cerebrospinális folyadékkal (CSF) töltöttük fel.

A piális arteriolák átmérőjét intravitális mikroszkópia segítségével határoztuk meg. Minden kísérletben egy hozzávetőlegesen 100 µm átmérőjű arteriolát választottunk ki, melynek kaliberváltozásait a későbbiekben folyamatosan figyelemmel kísértük. A műtétet követően megvártuk, hogy az arteriola átmérője stabilizálódjon, majd ezt követően kontroll stimulusként az agyfelszínre CSF-fel mostuk át. A hiperkapniát 5, illetve 10%-os CO₂ tartalmú gázkeverék belélegeztetésével hoztuk létre. A vizsgálandó anyagokat CSF-ben oldva, közvetlenül az agyfelszínre applikáltuk. Minden stimulus minden egyes dózisát 5-5 percre alkalmaztuk kumulatív módon, miközben a piális arteriola átmérőjét félpercenként mértük. A stimulusokat követően az agyfelszínre ismételtén CSF-fel mostuk át.

Globális agyi iszkémia

A globális agyi iszkémiát az intrakraniális nyomásnak az artériás középnyomás fölé emelésével hoztuk létre úgy, hogy az ablaktól rostrálisan elhelyezett bemeneten keresztül CSF infúziót juttattunk az intrakraniális térbe. Az iszkémia kialakulását az intravitális mikroszkóp segítségével ellenőriztük. Az artériás középnyomás értékét vérlebcátással ill. retranszfúzióval tartottuk az élettani tartományban. A 10 perces iszkémiát 60 perc reperfúzió követte.

CoBF és agykérgi egyenáramú (direct current, DC) potenciálmérés

Hogy az NMDA alkalmazása során esetlegesen kialakuló CSD jelenlétét detektálni tudjuk, a korábban részletezett kísérleti elrendezést 5 állat esetében módosítottuk. 2 csatornás lézer-Doppler áramlásmérővel a kérgi vérátáramlást; egy Ag-AgCl aktív, és egy platina referencia elektródához csatlakoztatott erősítő használatával pedig az agykérgi DC potenciál változásait detektáltuk másodpercről másodpercre. Ezeket az állatokat pentobarbitállal altattuk (50-60 mg/kg ip.), amit szükség szerint (2 állat esetében) α -kloralózzal (5-10 mg/kg iv.) egészítettünk ki. A koponyaablak behelyezése a korábbiakhoz hasonló módon történt, azonban a szokásos üveg fedőlemez helyett az ablak zárására Parafilm[®] használtunk. Ezen keresztül lehetőségünk nyílt arra, hogy eszközeinket, az első Doppler szondát és a DC elektródát, az agyfelszínre jutassuk. Az ablaktól rostrálisan, az első szondától ~9-13 mm távolságra helyeztük el a második Doppler szondát az agy felszínén.

Kísérleti protokoll

Első kísérletsorozatunkban a PACAP38-ra, a PACAP27-re, illetve VIP-re (10^{-8} - 10^{-6} M) adott érválaszokat értékeltük ki vivőanyag (fiziológiás sóoldat, illetve 5 mg/ml dimetil szulfoxid oldat), a NO szintetáz (NOS) gátló N- ω -nitro-L-arginin metil észter (L-NAME 15 mg/kg iv.), a nem szelektív ciklooxygenáz (COX)-bénító indometacin (5 mg/kg iv.), a szelektív COX-1 illetve a szelektív COX-2 gátló SC-560 (1 mg/kg iv.) és NS-398 (1 mg/kg iv.) kezelést megelőzően, majd 20 perccel azt követően. Külön csoportban hasonlítottuk össze a PACAP38 és PACAP27 hatásosságát. A piális arteriolák PACAP38-ra adott válaszát a szekretoros foszfolipáz A₂ gátló PX-18 lokális alkalmazása (10^{-5} M, 20 perc) előtt és után szintén megmértük. Hasonló módon teszteltük egyes PACAP fragmentumok (PACAP6-38, 6-27, 1-15, 6-15 vagy 20-31; 10^{-5} M) hatását is a PACAP és a VIP (10^{-6} M) által kiváltott vazodilatációra. A rövid fragmentumok (10^{-8} - 10^{-6} M) vazoaktivitását külön megvizsgáltuk.

Második kísérletsorozatunkban a hiperkapnia és a helyileg alkalmazott NMDA (10^{-4} M) által kiváltott vazodilatáció nagyságát értékeltük I/R előtt és után, majd a kísérletsorozatot 30 percig tartó lokális, nem vazoaktív dózisú PACAP, illetve VIP előkezelés mellett is megismételtük.

A harmadik kísérlet során az NMDA (10^{-4} M, 10^{-3} M) által kiváltott CoBF választ regisztráltuk, kérgi DC potenciálmérés mellett. A kísérletek végén mechanikai stimulussal (1-2 mm mély tűszúrás, 26 G-s tű) kíséreltünk meg CSD-t kiváltani ezekben az állatokban.

Statisztikai módszerek

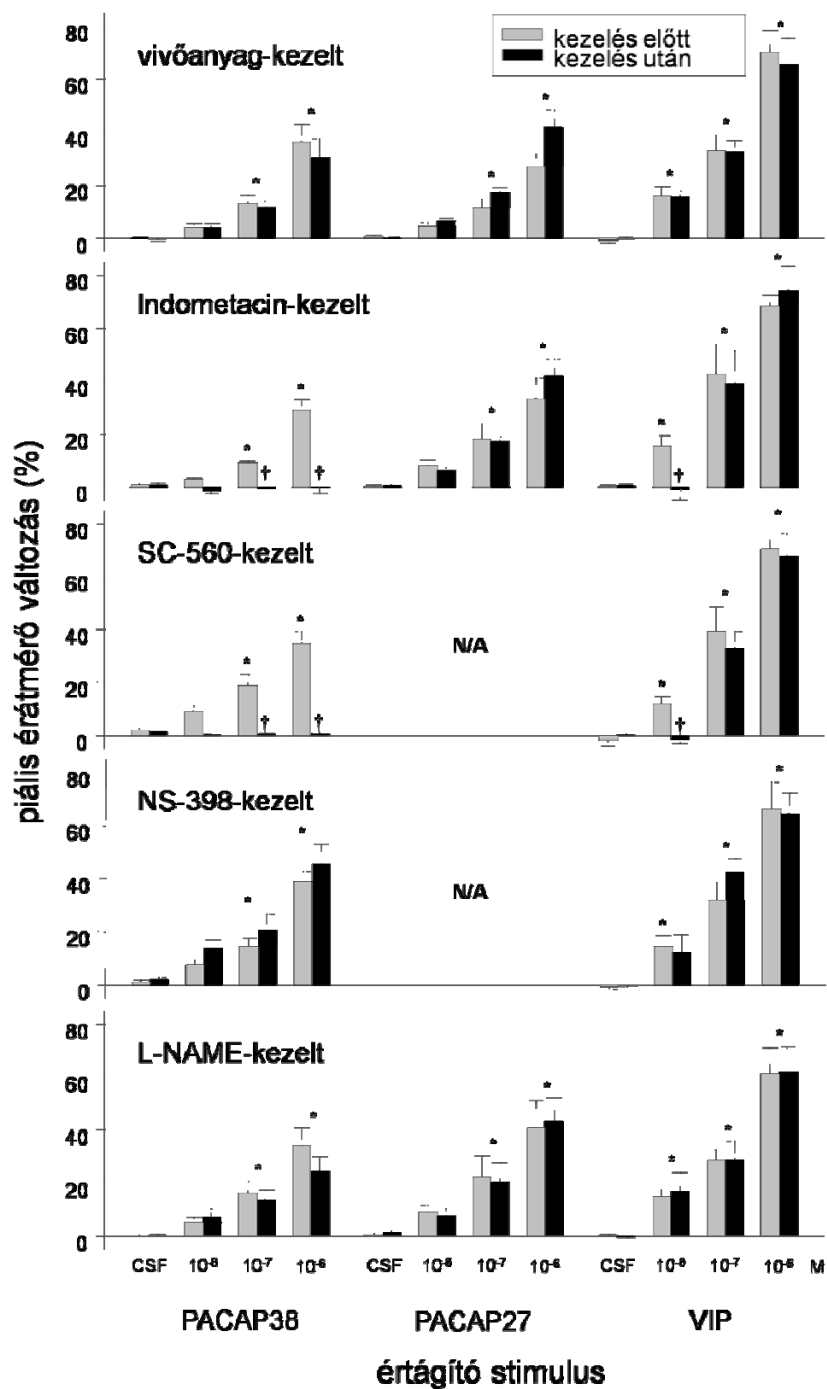
A piális erek maximális kaliberváltozásait az alap érátmérő százalékában fejeztük ki. A CoBF változásait szintén százalékban, a stimulus adását megelőző 5 percben mért áramlás átlagára normalizálva adtuk meg. A CoBF változásait percenként átlagoltuk, és a maximális áramlási értékeket használtuk a továbbiakban statisztikai analízishez. Eredményeink statisztikai értékeléséhez egyszempontos ismételt méréses varianciaanalízist (ANOVA), majd Tukey *post hoc* tesztet végeztünk. A $p < 0.05$ értéket tekintettük szignifikánsnak. Eredményeinket átlag \pm SEM formában mutatjuk be.

Eredmények

Az állatok vitális paraméterei a kísérletek során mindvégig a normál, fiziológias tartományban mozogtak, és az egyes állatcsoportok között sem volt ebben a tekintetben különbség.

A PACAP38, a PACAP27 és a VIP által létrehozott értágulat jellemzése

A PACAP38, a PACAP27 és a VIP egyaránt reprodukálható, dózisfüggő értágulatot hozott létre (1. ábra). A PACAP izoformák hatásossága között nem volt különbség, a 10^{-6} M PACAP38 $43 \pm 7\%$, a 10^{-6} M PACAP27 pedig $36 \pm 5\%$ vazodilatációt okozott. A VIP ezzel szemben potensebb értágítónak bizonyult, hiszen már 10^{-8} M koncentrációban szignifikáns mértékben növelte a piális arteriolák átmérőjét, míg a PACAP38 és a PACAP27 csak magasabb, 10^{-7} M koncentrációkban voltak vazoaktívak (1. ábra). A PACAP38 által létrehozott értágulat COX-1 dependensnek bizonyult, ellenben a PACAP27-indukált vazodilatáció a COX enzim gátlásától függetlenül létrejött. A lokális PX-18 kezelés szintén csökkentette ($67 \pm 11\%$ -ról $24 \pm 6\%$ -ra) a PACAP38 vazoaktív hatását. A VIP alacsony, 10^{-8} M koncentrációban COX-1 függő, míg magasabb (10^{-7} - 10^{-6} M) dózisokban COX-független útvonalon hozta létre érhatását. A COX-2 illetve a NOS enzim gátlása egyik esetben sem befolyásolta a vazodilatáció létrejöttét (1. ábra).



1. ábra A PACAP38, a PACAP27 és a VIP által létrehozott vazodilatáció jellemzése.

A rövid PACAP fragmentumok önmagukban nem okoztak sem vazokonstriktációt sem vazodilatációt. A PACAP6-38 kezelés egyaránt csökkentette a PACAP38, a PACAP27 és a VIP hatását, míg a PACAP6-27 csak a PACAP izoformák esetében volt effektív. A többi fragmentum minden esetben hatástalannak bizonyult.

A PACAP38, a PACAP27 és a VIP protektív hatása az I/R szenzitív vaszkuláris reakciókra

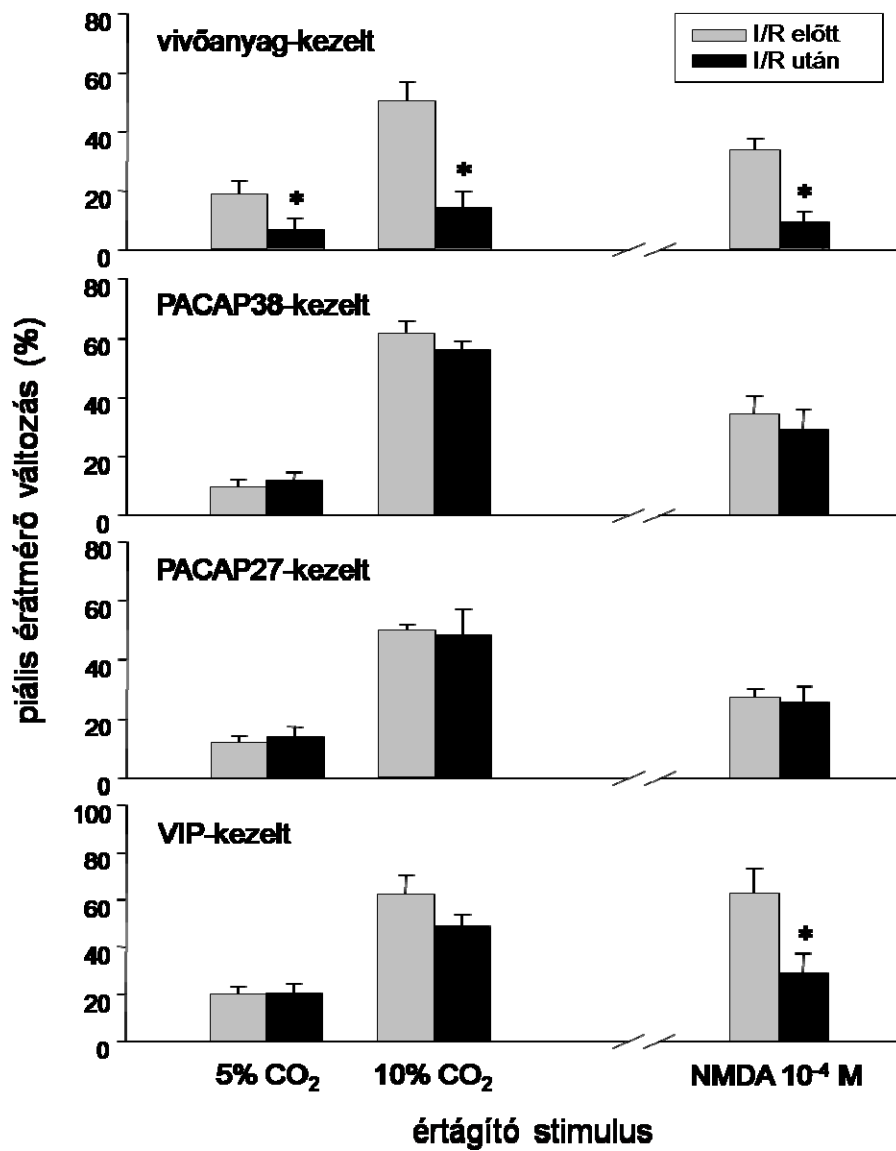
Az I/R jelentős mértékben csökkentette az erek hiperkapniára, illetve NMDA-ra adott válaszát. A lokális PACAP38, PACAP27 és VIP kezelés hatására elmaradt a hiperkapnia által indukált vazodilatáció károsodása, ezzel szemben kizárólag a PACAP izoformák jelentettek védelmet az NMDA által kiváltott értágulat I/R-t követő károsodásával szemben (2. ábra). A PACAP és a VIP kezelés I/R nélkül önmagában nem befolyásolta az erek reaktivitását.

Az NMDA CSD kiváltása nélkül okoz véráramlás-növekedést újszülött malacban

Az NMDA dóziszfüggő CoBF növekedést ($24 \pm 2.58 \pm 7\%$ növekedés 10^{-4} illetve 10^{-3} M NMDA esetén) hozott létre a stimulus alkalmazásának helyén, ellenben a CSD-re jellemző DC potenciálváltozást nem figyeltünk meg. A folyamat nem terjedt át az ablakon kívüli regisztráló helyre, a második Doppler szonda által rögzített CoBF mindvégig, egészen a stimulus eltávolítását követő 20. percreg állandó maradt. CSD-re jellemző változásokat a mechanikai stimuláció során sem észleltünk.

Összefoglalás és megbeszélés

A PACAP38, a PACAP27 és a VIP modellünkben potens vazodilatátornak bizonyultak. Az általunk vizsgált neuropeptidok fiziológiás szerepe feltételezhető az újszülött agy keringésének szabályozásában, bár az agyi erek peptiderg beidegzésének és regulációjának vizsgálatából származó tudásunk elsősorban felnőtt speciosekből származik. A PACAP és a VIP megtalálható az agyi ereket beidegző autonóm és szenzoros idegvégződésekben, illetve bizonyos, az agyi keringés szabályozásában résztvevő kortikális és agytörzsi neuronpopulációkban is. A PACAP és a VIP hatása sok tekintetben átfedő, hiszen receptoraik részben közösek. A VPAC₁ illetve VPAC₂ típusú receptorok egyforma mértékben kötik a PACAP izoformákat és a VIP-et, míg a PAC₁ csoportba tartozó receptorok magasabb PACAP affinitással rendelkeznek. A különböző



2. ábra A PACAP38, a PACAP27 és a VIP hatása az I/R érzékeny érreakciókra.

receptorok éren belüli lokalizációja fajonként kisebb-nagyobb eltéréseket mutat, az újszülött malacból pedig egyelőre nem áll rendelkezésre erre vonatkozó adat. Az említett receptorok jelentős részének aktivációja a cAMP szintjének emelkedésével jár, mely az érfali simaizomzat esetén már önmagában is elegendő lenne a relaxáció létrehozásához. Ezzel szemben számos egyéb jelátviteli mechanizmus is lehetséges, mely kisebb-nagyobb mértékben hozzájárulhat a vazóaktív hatás kialakulásához.

Jelen kísérleteinkben a PACAP38 által létrehozott értágulat extrém mértékben COX-1 függőnek bizonyult, szemben a PACAP27 által kiváltott értágulattal. A VIP hatása kis dózisban a PACAP38, nagyobb dózisokban a PACAP27 hatását utánozta. Érdekes módon a NO szerepe alárendeltnek tűnik annak ellenére, hogy számos más, felnőtt állatokon végzett kísérletben találtak kapcsolatot a PACAP/VIP hatás és a NOS aktivitás között. Ennek lehetséges magyarázata az újszülöttkori és felnőttkori agyi keringésszabályozás különbsége. A COX enzim kifejeződésének állandósága mellett mind a NOS enzim expressziója, mind aktivitása növekszik az életkor előrehaladtával, s ezáltal megfigyelhető egy átrendeződés a vaszkuláris szabályozó-mechanismusok egymáshoz viszonyított hangsúlyosságában. Mindezen túlmenően a COX-1 enzim kiemelt szerepe a PACAP38 által indukált értágulatban egyedülálló, tekintve, hogy az újszülött malacból származó és agyi keringésszabályozásra vonatkozó adatok mindezülig a COX-2 enzim dominanciáját támasztották alá.

Az általunk alkalmazott rövid PACAP fragmentumok egy része feltételezett PACAP/VIP receptor blokkoló (PACAP6-38 és PACAP6-27), másik része mindössze a PACAP/VIP hatás részletes feltérképezése céljából került felhasználásra. A PACAP6-27 mely a fenti receptorok aspecifikus gátlószerekeit ismert, az emlős szervezetben is keletkezik a PACAP27 lebontása során, s ezáltal szerepe lehet egy negatív visszacsatolás létrejöttében. A PACAP6-38 korábban mint specifikus PAC₁ receptor blokkoló vált elterjedtté, azonban későbbi kutatások a PACAP6-27-hez hasonló nem-specifikus gátló hatását igazolták. Jelen eredményeink szintén ezt az elképzelést támasztják alá, hiszen a PACAP6-38 mind a PACAP izoformák, mint a VIP dilatátor hatását kivédte. A PACAP6-27 ellenben a VIP esetében nem volt hatásos, melynek magyarázata feltehetően egyszerűen a PACAP6-38 potensebb volta, generalizáltan nagyobb receptor-affinitása.

A PACAP izoformák és a VIP számos, az idegrendszert károsító inzultussal szemben nyújtanak védelmet. Általánosságban elmondható azonban, hogy a PACAP hatásosabb és

szélesebb körben vizsgált neuroprotektív peptid, mint a VIP. Iszkémia, illetve egyéb neuronkárosodással járó folyamatok során is megfigyelték a PACAP szint, illetve a PAC₁ receptor expresszió megemelkedését a központi idegrendszerben, mely folyamat részét képezheti az endogén védekező mechanizmusoknak. Ezek csökkenthetik a I/R által okozott idegsejtpusztulás mértékét. A protektív effektus hátterében feltételezhetően antioxidáns, anti-apoptotikus, neurotrofikus és gyulladásgátló mechanizmusok is állnak, de a vaszkuláris reaktivitás I/R utáni megőrzése szintén egy fontos összetevője lehet az iszkémiával szemben kialakuló *in vivo* védelemnek.

Kísérleteinkben az agyfelszínére juttatott PACAP38, PACAP27 és VIP hatására elmaradt az I/R szenzitív hiperkapnia által indukált vazodilatáció károsodása. Mivel a hiperkapnia izolált éren is vazodilatációt okoz, feltételezhető, hogy az ideg- illetve gliasejtek szerepe a folyamatban alárendelt. Az endotélium károsodása a vazodilatációt jelentős mértékben csökkenti, ép érbelhártya, illetve az itt termelődött prosztanoidok szükségesek a hiperkapnia által kiváltott vazodilatáció létrehozásához. Az itt felsorolt okok miatt a hiperkapnia által indukált vazodilatáció az ép endotél-funkció megbízható indikátora. A PACAP38, a PACAP27 és a VIP tehát megőrizték az endotélsejtek funkcióját I/R után, azonban a pontos hatásmechanizmus megismeréséhez további kísérletek elvégzése szükséges.

A hiperkapniával ellentétben az NMDA által kiváltott értágulat I/R-t követő károsodásával szemben a VIP nem, csak a PACAP izoformák jelentettek védelmet. Az NMDA által kiváltott vazodilatáció egy neuron-dependens, NO által mediált folyamat, mely nem jön létre izolált ereken, kialakulása tetrodotoxinnal és NOS gátlókkal felfüggeszthető. I/R hatására feltehetően a neuronális komponens károsodik, hiszen a NO I/R után is képes a vaszkuláris simaizomzat relaxálására. Általánosan elfogadott nézet, hogy az I/R során keletkező szabadgyökök magát az NMDA receptort károsítják, az érhatás elmaradása pedig ennek a károsodásnak a következménye. A PACAP protektív hatása ebben az esetben magyarázható a polipeptid ismert antioxidáns tulajdonságával, mely tulajdonság a VIP esetében nem bizonyított. Ezen túlmenően természetesen számos más olyan magyarázata is lehetséges a PACAP és VIP hatások közti különbségnek, mint az eltérő receptorspecifititás, s a receptorok eltérő denzitása azokon a sejteken, melyek az általunk vizsgált folyamatban kiemelt jelentőségűek.

Az NMDA által kiváltott vaszkuláris változásokat egy újabb aspektusból vizsgálva azt találtuk, hogy ellentétben a felnőtt egerekben és patkányokban leírt megfigyelésekkel,

modellünkben nem járult hozzá CSD kialakulása az áramlásfokozódás létrejöttéhez. Az áramlásfokozódás dóziszfüggő volt, alátámasztva ezzel korábbi, a piális arteriolák átmérőjének mérésével kapott eredményeket. Az újszülött malacok illetve felnőtt rágcsálók közti jelentős különbség legvalószínűbben az idegrendszer fejlettségi fokában rejlő különbségekkel magyarázható. Az újszülött malac esetében sem NMDA-val, sem olyan hagyományosan alkalmazott stimulusokkal, mint a tűszúrás (jelen kísérleteinkben), vagy a tömény KCl (korábbi kísérletekben) nem sikerült CSD-t kiváltani. A CSD generálás képessége bizonyos stimulusokra adott válaszként nyulakban és patkányokban is csak a posztnatális fejlődés egy későbbi periódusában jelenik meg. Feltehetőleg az egér/patkány és a malac agy közötti egyéb különbségek, mint például az agykéreg giráltsága a malacban, ebben az esetben nem bírnak jelentőséggel, hiszen felnőtt sertésben létrehozható CSD.

Összefoglalva, újszülött malacokban a PACAP38, a PACAP27 és a VIP mind potens tágítói a piális arterioláknak. Az értágulat hátterében különböző mechanizmusok állnak: egy COX aktivitástól függő és egy attól független útvonal is lehetséges. Lokális PACAP kezelés hatására sem a neuronális-vaszkuláris csatolás sem az endotél-függő érreakciók nem károsodnak I/R után, míg a VIP hatása kizárólag a hiperkapnia által kiváltott vazodilatáció megőrzésére korlátozódik. A PACAP és a VIP általunk tapasztalt hatásai feltehetőleg hozzájárulnak a reperfüzió későbbi szakában a normális agyi vérellátás helyreállításához, ezáltal alkalmazásuk új neuroprotektív stratégiák alapját képezheti.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Prof. Bari Ferencnek a laboratóriumában PhD hallgatóként eltöltött évek során nyújtott rengeteg türelméért, támogatásáért és biztatásáért, valamint hogy lehetővé tette számomra a tudományos kutatómunka végzését. Köszönet illeti Dr. Domoki Ferencet, aki mentorként és barátként segített hallgató koromtól kezdve, megtanította a kísérleti módszereket, segítette tudományos gondolkodásom fejlődését és sokat segített a kéziratok elkészítésében is. Köszönöm továbbá mindkettőjüknek a tézis elkészítéséhez nyújtott sok segítséget. Köszönöm Prof. David W Busija-nak, hogy egy év három hónapot tölthettem az ő általa vezetett laboratóriumban az Egyesült Államokban, a Wake Forest Egyetem Élettani és Farmakológiai Intézetében. Szeretném megköszönni az Élettani Intézet dolgozóinak,

különösen a cerebrovaszkuláris laboratórium tagjainak a vidám pillanatok és a hétköznapi problémákban nyújtott segítségét. Köszönet illeti Prof. Tóth Gábort, hogy biztosította számunkra a kísérletekhez felhasznált peptidek nagy részét. Végül, köszönetet szeretnék mondani családomnak és barátaimnak, akik mindig támogattak engem.

A disszertáció alapját képező közlemények

1. Lenti L, Domoki F, Kis D, Hegyi O, Toth GK, Busija DW, Bari F. (2007) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide induces pial arteriolar vasodilation through cyclooxygenase-dependent and independent mechanisms in newborn pigs. *Brain Res.* 1165:81-8. IF: 2.341
2. Lenti L, Zimmermann A, Kis D, Oláh O, Tóth GK, Hegyi O, Busija DW, Bari F, Domoki F. (2009) PACAP and VIP differentially preserve neurovascular reactivity after global cerebral ischemia in newborn pigs. *Brain Res.* 1283:50-7. IF: 2.494
3. Lenti L, Domoki F, Gaspar T, Snipes JA, Bari F, Busija DW. (2009) N-Methyl-D-Aspartate Induces Cortical Hyperemia through Cortical Spreading Depression-Dependent and -Independent Mechanisms in Rats. *Microcirculation.* Aug 4:1-11. [Epub ahead of print] IF: 2.464
4. Domoki F, Zimmermann A, Lenti L, Tóth-Szuki V, Pardeike J, Müller RH, Bari F. (2009) Secretory phospholipase A2 inhibitor PX-18 preserves microvascular reactivity after cerebral ischemia in piglets. *Microvasc Res.* 78(2):212-7. IF: 3.000

Egyéb közlemények:

1. Sztriha LK., Sas K., Seres E., Boda K., Lenti L., Csifcsak G., Kovacs N., Vecsei L. (2008) Optical platelet aggregometry does not appear useful as a means of assessing the risk of recurrent vascular events in aspirin-treated patients. *Acta Neurol Scand.* 117(4):250-4. IF: 2.317

2. Sary G., Koteles K., Kaposvari P., Lenti L., Csifcsak G., Franko E., Benedek G., Tompa T. (2008) The representation of Kanizsa illusory contours in the monkey inferior temporal cortex. *Eur. J. Neurosci.* 28: 2137-2146. IF: 3.385
3. Gáspár T., Domoki F., Lenti L., Institóris Á., Snipes J. A., Bari F., Busija D. W. (2009) Neuroprotective effect of adenoviral catalase gene transfer in cortical neuronal cultures. *Brain Res.* 1270:1-9. IF: 2.494
4. Gáspár T, Domoki F, Lenti L, Katakam PV, Snipes JA, Bari F, Busija DW. (2009) Immediate neuronal preconditioning by NS1619. *Brain Res.* 1285:196-207. IF: 2.494
5. Katakam P., Domoki F., Lenti L., Gáspár T., Snipes J. A., Busija D. W. (2009) Cerebrovascular responses to insulin in rats. *J Cerebral Blood Flow and Metab.* [Epub ahead of print] IF: 5.741

A disszertáció alapját képező közlemények kumulatív impakt faktora: 10.299

Az összes közlemény kumulatív impakt faktora: 26.73