



A PERIFÉRIÁS IDEGSÉRÜLÉST KÖVETŐ IMMUNREAKCIÓ MODULÁLÁSA

Ph.D. Tézis

Nógrádi Bernát M.D.

Témavezetők:

Siklós László Ph.D., D.Sc.

Patai Roland Ph.D.

Neuronális Plaszticitás Kutatócsoport, Molekuláris Neurobiológia
Kutatóegység, Biofizikai Intézet, Szegedi Biológiai Kutatóközpont, Szeged,
Magyarország

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola, Szegedi Tudományegyetem,
Szeged, Magyarország

Neurológiai Klinika, Szegedi Tudományegyetem, Szeged, Magyarország

Szeged

2022

Bevezetés

A perifériás idegrendszer akut sérülései relatíve gyakoriak, az incidenciája 3,69-13,9/100 000 közé tehető és elsősorban fiatal egyéneket érint. Bár a perifériás idegrendszer sérülése a legtöbb esetben nem életet veszélyeztető állapot, ezen sérülések az életszínvonal jelentős romlásához vezethetnek, főleg amennyiben az izmok reinnervációja elnyúlik, ami izomatrofíához és az izomerő hosszútávú csökkenését eredményezheti. Jelenleg a legszélesebb körben elfogadott klinikai terápiának a sebészi rekonstrukciót tekintik, azonban ezen beavatkozások sikerét számos különböző faktor limitálja. Bár a sérülés-indukálta gyulladási folyamatok mind pro-regeneratív, mind pedig destruktív jellegűek is lehetnek, az akut sérüléseket kísérő pro-inflammatorikus jelutak túlzott mértékű aktivációja negatív irányba befolyásolja a regeneráció kimenetelét. A *nucleotide-binding oligomerization domain-, leucine-rich repeat- and ryrin domain-containing protein* (NLRP3) egy mintázatfelismerő receptor, melynek aktivációja az interleukin-1 β (IL-1 β) és az IL-18 pro-inflammatorikus citokinek felszabadulásához vezet. Kezdetekben az NLRP3 inflammaszómát autoimmun betegségeken vizsgálták, mint potenciális gyógyszeres támadáspontot, azonban az években számos vizsgálat igazolta az NLRP3 aktiváció szerepét különböző betegségek patomechanizmusában, mint például 2-es típusú diabetes mellitus, illetve neurodegeneratív betegségek esetén. Ezt követően az NLRP3 inflammaszóma, valamint a gyulladási jelút egyéb kezdeti elemeit (pl. P2X4 purinerg receptor) célzó inhibitoros molekulák kerültek felfedezésre. Ezen túlmenően a diazoxid (DZX) – egy K_{ATP} csatorna-nyitó hatóanyag – esetén is igazolták, hogy iszkémia/reperfúziós károsodás esetén képes csökkenteni az NLRP3 aktivációt mitoprotektív hatásán keresztül. Ez alapján a DZX is az inflammaszóma jelút egy potenciális modulátora lehet.

Célkitűzéseink

Kísérleteink során az NLRP3 inflammaszóma aktivációját, valamint potenciális gyógyszeres modulálását vizsgáltuk akut idegsérülést követően. Konkrét célkitűzéseink az alábbiak voltak:

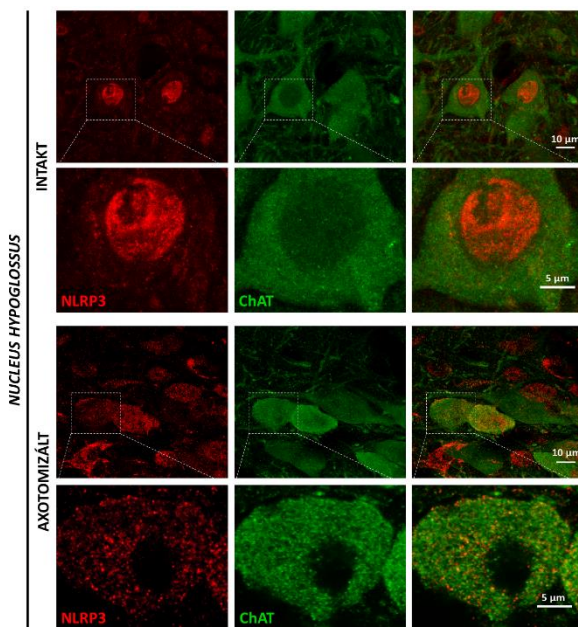
- az NLRP3 expressziójának és aktivációjának vizsgálata akut perifériás idegsérülést követően
- az NLRP3 inflammaszóma gátlásának hatása a regeneráció kimenetelére *nervus ischiadicus* sérülése után
- az ATP-P2X4-NLRP3 jelút vizsgálata a P2X4 receptor gátlásán keresztül *nervus ischiadicus* sérülést követően
- a DZX NLRP3 inflammaszómára, valamint mikroglia aktivációra kifejtett hatásának vizsgálata

Eredményeink

Az NLRP3 expresszió a *nucleus hypoglossus*-ban, valamint a *nucleus oculomotorius*-ban axotómiát követően

Az NLRP3 expressziójának változását a *nucleus oculomotorius* és a *nucleus hypoglossus* területén vizsgáltuk 4 nappal szemgolyó enukleációt, illetve hypoglossus axotómiát követően Balb/c egérben. Intakt körülmények között gyenge NLRP3 festést észleltünk mindkét vizsgált agyi mag területén. Az oculomotorius axotómia az NLRP3 expresszió emelkedéséhez vezetett a kontrollként szolgáló kontralaterális oldalhoz képest. Hasonló változásokat tapasztaltunk a *nucleus hypoglossus* területén is, azonban az észlelt reakció nagyobb mértékű volt. Az NLRP3-pozitív sejtek nagy része NeuN- és ChAT-pozitív volt, mely motoneuronális NLRP3 kifejeződésre utal. További sejttypusok vizsgálata céljából Iba1 és GFAP kettős jelöléseket végeztünk el. 4 nappal a sérülést követően érdekes módon a mikroglia sejtek döntő többsége

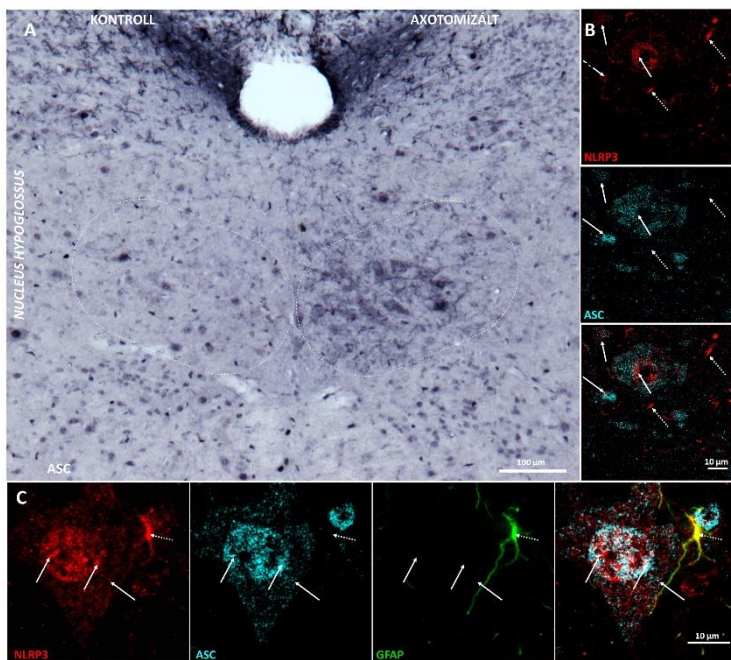
NLRP3-negatív volt, csupán elszórtan volt NLRP3-pozitív mikroglia megfigyelhető. Hasonlóképpen, csupán az asztrociták kis hányada mutatott NLRP3-pozitivitást. Az aquaporin-4-gyel jelölt asztrocita végtalpak nem mutattak átfedést az NLRP3 jelöléssel. Az NLRP3 expresszió kvantitatív analízise az axotómiát követően mind a *nucleus oculomotorius*, mind a *nucleus hypoglossus* területén szignifikáns emelkedést igazolt a kontroll oldalhoz képest. Továbbá, az NLRP3 emelkedés szignifikánsan alacsonyabb volt a *nucleus oculomotorius*-ban a *nucleus hypoglossus*-hoz képest.



1. ábra Az NLRP3 fehérje nukleo-citoplazmikus transzlokációja a sérült mozgató idegsejtekben axotómiát követően.

Az intakt *nucleus hypoglossus*-ban, valamint axotómiát követően a *nucleus hypoglossus* kontralaterális oldalán az NLRP3 festés jelentős része az idegsejtek sejtmagjában volt észlelhető. A *nervus hypoglossus* teljes átvágásának hatására a jelölés megjelent a citoplazmával, mellyel párhuzamosan a magi festés intenzitása gyengült, ami a fehérje nukleo-citoplazmikus transzlokációjára utal (1. ábra). A transzlokáció kvantitatív

analízise alapján a citoplazmikus NLRP3 festést mutató idegsejtek aránya szignifikáns mértékben megnőtt a sérült oldalon axotómiát követően. Az inflammaszóma aktiváció része egy több fehérjéből álló komplexum létrejötte, ami magába foglalja az NLRP3 kötődést az ASC adaptor fehérjéhez. Az NLRP3-hoz hasonló az ASC expressziója is megemelkedett a *nucleus hypoglossus*-ban axotómiát követően (2A ábra). Az NLRP3, valamint ASC immunfestés alapján a két jelölés jelentős átfedést mutatott, főképp neuronokban (2B ábra). Meglepő módon a kettős jelölés átfedése a neuronális sejtmagokban is kimutatható volt. Bár az NLRP3 asztrocitákban is kimutatható volt, ezen sejtekben ASC-vel nem észleltünk átfedést (2C ábra), ami neuron-specifikus inflammaszóma aktivációra utal.



2.ábra Az inflammaszóma komponensek kolokalizációja és expressziós változása a *nucleus hypoglossus* területén. (A) ASC jelölés a *nucleus hypoglossus* területén axotómiát követően. (B) NLRP3 és ASC kettős jelölés a *nucleus hypoglossus* területén idegátvágást követően. A tömör nyilak az NLRP3 és az ASC jelölés kolokalizációját mutatják. A szaggatott nyilak NLRP3 festést jelölnek ASC-vel való átfedés nélkül. (C) NLRP3, ASC és GFAP jelölés a *nucleus hypoglossus* területén axotómiát követően. A tömör nyilak az NLRP3 és az ASC fehérjék kolokalizációját jelölik a sejtek magjában és citoplazmájában. A szaggatott nyilak az NLRP3 és GFAP kolokalizációját mutatják, ASC jelölés nélkül.

Az NLRP3 inflammaszóma aktivációjának további vizsgálata céljából az IL-1 β és az IL-18 fehérjék szintjének változását is meghatároztuk a *nucleus hypoglossus*-ban axotómiát követően western blot technikával. Az idegsérülés 1,507-es emelkedést eredményezett a pro-IL-1 β szintben, mely az inflammaszóma aktiváció kezdeti lépéseként történő „priming” lépést igazolja. Az aktív IL-1 β fehérje szintjét vizsgálva 1,873-es emelkedés igazolódott a sérült *nucleus hypoglossus*-ban a kontroll oldalhoz viszonyítva. Hasonlóképpen, az IL-18 tekintetében 1,893-es emelkedést tapasztaltunk az axotómiát követően.

A DZX hatása az NLRP3 expressziójára és mikroglia aktivációra *hypoglossus* axotómiát követően

A neuroprotektív DZX NLRP3 expresszióra kifejtett hatását a sérülést követően 3 napig alkalmazott DZX kezelést követően vizsgáltuk. A DZX szignifikáns mértékben csökkentette az NLRP3 expresszióját az oldószerral (dimetil szulfoxid, DMSO) kezelt kontroll csoporthoz képest axotómiát követően a *nucleus hypoglossus* területén. A DZX mikroglia aktivációra kifejtett hatását a 7. posztoperatív napon vizsgáltuk a *nucleus hypoglossus*-ban. Axotómiát követően erőteljes mikroglia aktivációt észleltünk a sérült oldalon, melynek mértékében a DZX kezelés hatására tendenciózus csökkenést észleltünk, ez azonban nem ért el szignifikáns szintet. A DZX

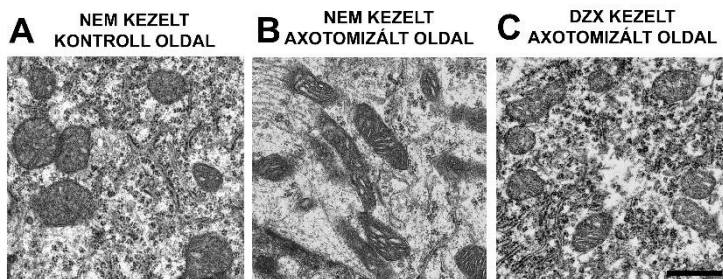
mikroglia aktiváció kifejtett hatásának pontosabb megértése céljából a mikroglia sejtek finom morfometriai analízisét végeztük el a *nucleus hypoglossus* területén. Ennek eredménye alapján a mikroglia sejteket morfológia alapján két jól elkülöníthető csoportban tudunk sorolni: elágazó („A” klaszter) és sűrű, rövid nyúlványokkal rendelkező („B” klaszter) morfológiát mutató sejtekre. Kontroll körülmények között a *nucleus hypoglossus* területén a vizsgált mikroglia sejtek 92,5%-a az „A” klaszterbe volt sorolható. Ez drasztikus mértékben megváltozott a sérült oldalon, ahol az összes vizsgált mikroglia a „B” klaszterbe volt sorolható. Hasonló változást láttunk DMSO (oldószer) kezelés mellett, ahol a sejtek 90%-a a „B” klaszterbe tartozott. A DZX kezelés mellett nem észleltünk a „B” klaszter fenotípus irányába történő eltolódást.

A DZX hatása a motoneuron túlélésre és a mitokondriális morfológiára

A DZX mozgató idegsejtek túlélésére kifejtett hatását sejtszámolással határoztuk meg a *nucleus hypoglossus*-ban 7 nappal az axotómiát követően. Ebben az időpontban nem észleltünk szignifikáns mértékű sejtszám csökkenést a sérült oldalon a kontroll oldalhoz képest. A DMSO és DZX kezelés nem befolyásolta a sejtszámot. Mivel a DZX mitokondrium funkcióra kifejtett hatását korábban már dokumentálták, a mitokondriumok ultrastrukturális analízisét végeztük el a *nucleus hypoglossus* területén 4 nappal axotómiát követően. A kontroll oldalon a mitokondriumok alakja a mozgató idegsejtekben kerekded volt (3A ábra), a sérült oldalon azonban elongált, ellipszoid alakú mitokondriumokat észleltünk, megnövekedett Feret átmérővel (3B ábra). A DZX kezelés hatására a kontroll oldalnak megfelelő mitokondrium morfológiát és Feret átmérőt észleltünk (3C ábra). A mitokondriális Feret átmérő aránya (sérült/kontroll oldal) megemelkedett a sérülés hatására a motoneuronokban, ami megnövekedett oxidatív stresszre utal. Ezt az emelkedést a DZX kezelés szignifikáns mértékben csökkentette.

A mikroglia sejtek esetén a mitokondrium analízise során nem tapasztaltunk szignifikáns mértékű változást.

NUCLEUS HYPOGLOSSUS



3. ábra A mozgató idegsejtekben található mitokondriumok morfológiai vizsgálata a nucleus hypoglossus területén 4 nappal axotómiát követően. (A) Elektronmikroszkópos felvételek a nucleus hypoglossus kontroll oldaláról. Kerekded, normális morfológiát mutató mitokondriumok láthatóak, alacsony Feret átmérővel. (B) Motoneuronális citoplazma a sérült oldalon. A mitokondriumok ellipszoid alakúak, a belső krisztaszervezet kitágult, valamint Feret átmérőjük megnövekedett. (C) A DZX-al kezelt csoport esetén a mitokondriumok a fiziológiás morfológiával megegyezőt mutatnak, Feret átmérőjük a kontrollal megegyező tartományban mozog.

NLRP3 expresszió a gerincvelőben *nervus ischiadicus* axotómiát követően

Következő lépésként az NLRP3 inflammaszóma aktivációját *nervus ischiadicus* axotómiát követően vizsgáltuk az L4-L5 gerincvelői szegmentumban. Az NLRP3 fehérje expresszió a sérülést követő 1., 3. és 7. napon is emelkedett volt. Az 1. és 3. posztoperatív napon az NLRP3 jelölés elsősorban a mozgató idegsejtekben (ChAT-pozitív sejtekben) volt megfigyelhető. Az NLRP3 jelölés vagy csak a sejtek citoplazmájában, vagy a citoplazmában és a sejtmagban is kimutatható volt a sérült oldalon, mely eredmények megegyeznek a korábban a *nucleus hypoglossus*-ban látottakkal. Az NLRP3 jelentős mértékű kolokalizációt mutatott az inflammaszóma adaptor fehérjeként funkcionáló ASC-vel mind a citoplazmában, valamint a

sejtmagban, ami inflammaszóma aktivációra utal. Míg a sérülést követő első 3 napon a NLRP3 szinte csak neuronokban volt kimutatható, a 7. posztoperatív napon az NLRP3 megjelent GFAP- és Iba1-pozitív sejtekben is, azonban itt ASC-vel való kolokalizációt nem észleltünk. Az NLRP3-pozitív mikrogliaák aktivált fenotípust mutattak. Az NLRP3 és ASC fehérjék expressziója nem csupán a gerincvelőben emelkedett meg, hanem a sérült *nervus ischiadicus* proximális végénél is a Schwann-sejtekben, valamint az Iba1-pozitív mikroglia/makrofág populációban is. Ezen felül a p75 és Iba1 expresszió esetén is növekedést tapasztaltunk. Ezen eredmények alapján az NLRP3 mind a sérült gerincvelői szakaszon, valamint az axotomizált idegcsomokban is megemelkedik, azonban különböző sejtípusok részvételével.

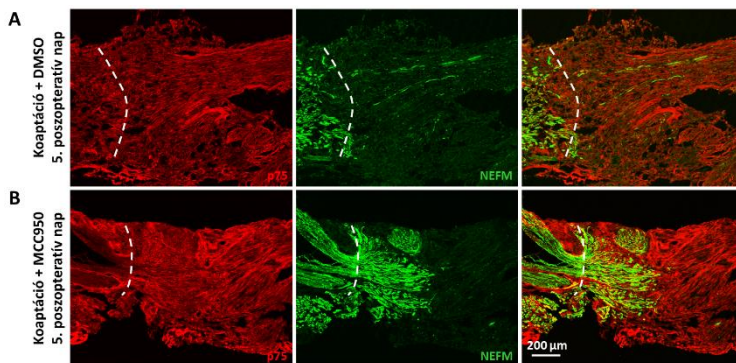
Az NLRP3 gátlásának hatása a mikroglia és asztroglia aktivációra a gerincvelőben axotómiát követően

A gerincvelő sérült oldalának ventrális szarvában kialakuló mikrogliózis a 3. posztoperatív napon már látványos emelkedést mutatott. Ezen időpontban a korábban megfigyelt inflammaszóma aktiváció még csak a mozgó idegsejtben volt jelen. A DMSO-vel kezelt kontroll csoporthoz képest az NLRP3 gátlószer MCC950 jelentősen csökkentette a mikroglia aktivációt. A sérülés-indukálta mikroglia reakció a 7. napon még nagyobb mértékű volt, melyet a 3. napig folytatott MCC950 kezelés szignifikáns mértékben csökkentett. Az asztroglia aktiváció kisebb mértékű volt, mint a mikrogliózis, azonban az MCC950 kezelés ezt is csökkentette mind a 3., mind a 7. posztoperatív napon. Továbbá, az MCC950 kezelés a 7. napon csökkentette az Iba1 és NLRP3 jelölés kolokalizációját (azaz a mikroglialis NLRP3 expressziót). A GFAP és NLRP3 kolokalizációja elhanyagolható mértékű volt, erre az MCC950 nem volt hatással.

Az inflammaszóma aktiváció gátlása javítja a neuronális regenerációt

A *nervus ischiadicus* axotómiát követő regeneráció funkcionális elemeinek vizsgálata céljából a sérült idegvégeket összeillesztettük, majd epineuriális varratokkal rögzítettük. Hipotézisünk alapján az NLRP3 aktiváció – részlegesen – az extracelluláris ATP – purinerg receptor útvonalon történik, így a P2X4 receptor-specifikus gátlószer, az 5-BDBD hatását is vizsgáltuk az MCC950 mellett. Az állatok izomfunkciójának javulását a „*sciatic functional index*” (SFI) technikával mértük, melyet a sérülést követő 8. hétig regisztráltunk. Az állatok 5-BDBD és MCC950 kezelést a sérülést követő első 3 napon kaptak. A kezeletlen és oldószerrel kezelt csoportok esetén az SFI érték lassú, de egyenletes emelkedését észleltük. Az 5-BDBD és MCC950 kezelés hatására a 3. posztoperatív naptól meredek emelkedést láttunk az SFI értékben, melynek üteme később lassult, de folyamatos maradt. A sérüléstől számított 2. héttől a kontroll és kezelt csoportok SFI értékében szignifikáns különbség mutatkozott. A kezelt csoportok között nem volt különbség, azaz az 5-BDBD és az MCC950 kezelés hasonló mértékben javított a regenerációt. A reinnerváló motoneuronok számszerűsítése céljából a *nervus ischiadicus*-on a sérüléstől disztálisan retrográd jelölést hajtottunk végre „*Fast Blue*” (FB) jelölőanyaggal. A FB jelentősen kevesebb motoneuront jelölt a gerinevelő sérült oldalán a 8. héten a kontroll oldalhoz képest, az 5-BDBD és MCC950 kezelés azonban növelte a reinnerváló motoneuronok számát. Korábbi tanulmányoknak megfelelően a *nervus ischiadicus*-t beidegző motoneuronok 80 %-a reinnerválta a disztális idegvéget a kezeletlen és oldószerrel kezelt csoportban, míg a kezelt csoportokban a motoneuron populáció közel 100%-a túlnőtt a koaptációs zónán. Az axotómia csekély mértékben csökkentette a ChAT-pozitív mozgató idegsejtek számát (90-95 %-ra), melyet az 5-BDBD és az MCC950 kezelés is képes volt kivédeni, bár ez a különbség nem ért el szignifikáns szintet. A regeneráció korai elemeinek tanulmányozása céljából megvizsgáltuk a regenerálódó axonok számának és hosszának váltázását a *nervus ischiadicus* koaptációs zónájában 5 nappal a sérülést követően. Az

oldószerrel (DMSO) kezelt kontroll állatokban kevés, vegyes hosszúságú axon nőtt át a koaptációs zónán (4A ábra). Az MCC950 kezelés hatására a regenerálódó axonok hossza és száma is emelkedett (4B ábra). Ezen eredmények támogatják azon várakozásunkat, miszerint a morfológiai változások megelőzik a funkcionális javulást. A regenerálódó axonok számának és hosszának kvantifikációja alapján csaknem kétszeres javulást tapasztaltunk az MCC950-el kezelt csoportban a kontroll csoporthoz képest. Eredményeink alapján az NLRP3 aktiváció gátlása a lumbális motoneuronokban nem csupán csökkenti a mikrogliózist, de elősegíti az axonális növekedést is axotómiát követően.



4. ábra Az MCC950 hatása az axonális növekedésre 5 nappal a nervus ischiadicus axotómiát követően. (A-B) NEFM és p75 jelölés a sérült nervus ischiadicus mintákon, a koaptációs zóna területén. Az oldószerrel kezelt állatokban (A) csekély számú, főképp rövid axon látható. Ezzel szemben az MCC950-el kezelt állatokban (B) nagy számú, vegyes hosszúságú axon látható. A szaggatott vonal a koaptációs zónát jelöli.

Összefoglalás

A perifériás idegsérüléseket jelentős mértékű gyulladáshoz kíséri, ami negatív hatással lehet a regenerációra. A pro-inflammatorikus jelutak közül kiemelendő az inflammaszóma aktiváció, ami aktív IL-1 β felszabaduláshoz vezet. Kísérleteink során célkitűzésünk az inflammaszómák perifériás

idegsérülésben, valamint azt az kísérő centrális gyulladós reakcióban betöltött szerepének vizsgálata volt. *Nervus hypoglossus*, *nervus ischiadicus* és *nervus oculomotorius* axotómiát követően az NLRP3 fehérje expressziójának emelkedését figyeltük meg a sérült agytörzsi magokban és lumbális gerincvelői szakaszon. Az axotómiát követően emelkedett IL-1 β és IL-18 szintet észleltünk a *nucleus hypoglossus*-ban, ami inflammaszóma aktivációra utal. Bár hagyományosan a gliális sejteket tekintjük a neuroinflammációs folyamatok inicializációjáért felelősnek, kísérleteink során az NLRP3 inflammaszóma aktivációját elsősorban a mozgató idegsejtekben figyeltük meg. Az NLRP3 fehérjeszintjének emelkedését annak nukleo-citoplazmikus transzlokációja kísérte a sérült motoneuronokban. Bár a sérülést követően későbbi időpontokban az NLRP3 szinte a mikroglia sejtekben is megemelkedett, itt inflammaszóma aktivációra utaló jeleket nem észleltünk. Az inflammaszóma aktiváció MCC950-el történő gátlása a sérülést követő 3 napon csökkentette a kialakuló mikrogliózis mértékét a gerincvelőben. Az MCC950 és a purinerg csatorna inhibitor P2X4 is szignifikáns mértékben javította az idegi regenerációt, mint morfológiai, mind pedig funkcionális szempontból. A mitokondriális K_{ATP} aktivátor DZX kezelés csökkentette az NLRP3 expressziójának emelkedését, feltehetőleg a motoneuronális mitokondrium morfológia helyreállítása révén. Eredményeink alapján az axotómiát követő centrális gyulladós reakció a sérült mozgató idegsejtekben kialakuló inflammaszóma aktivációval kezdődik, amely komplex gyulladós választ és mikrogliózist okoz. A neuronális inflammaszóma aktiváció gátlása nem csupán a mikrogliózist csökkenti, hanem jótékony hatással van a regenerációra is.

Publikációs lista

A tézis alapjául szolgáló publikációk

- I. Molnár K*, **Nógrádi B***, Kristóf R, Mészáros Á, Pajer K, Siklós L, et al. Motoneuronal inflammasome activation triggers excessive neuroinflammation and impedes regeneration after sciatic nerve injury. *J Neuroinflammation*. 2022;19(1):268. (IF (2021): 9.594, Journal Ranking: D1)
- II. **Nógrádi B***, Nyúl-Tóth Á*, Kozma M, Molnár K, Patai R, Siklós L, et al. Upregulation of nucleotide-binding oligomerization domain-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3 in motoneurons following peripheral nerve injury in mice. *Front Pharmacol*. 2020;11:584184. (IF (2020): 5.811, Journal Ranking: Q1)
- III. **Nógrádi B**, Meszlényi V, Patai R, Polgár TF, Spisák K, Kristóf R, et al. Diazoxide blocks or reduces microgliosis when applied prior or subsequent to motor neuron injury in mice. *Brain Res*. 2020;1741:146875. (IF (2020): 3.252, Journal Ranking: Q2)

* = A szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a munkához és megosztott elsőszervezők.

További publikációk

- I. Polgár TF, Meszlényi V, **Nógrádi B**, Körmöczy L, Spisák K, Tripolszki K, et al. Passive transfer of blood sera from ALS patients with identified mutations results in elevated motoneuronal calcium level and loss of motor neurons in the spinal cord of mice. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18):9994. (IF (2021): 6.208, Journal Ranking: D1)

- II. Mészáros Á, Molnár K, **Nógrádi B**, Hernádi Zs, Nyúl-Tóth Á, Wilhelm I, et al. Neurovascular inflammaging in health and disease. *Cells*. 2020;9(7):1614. (IF (2020): 6.600, Journal Ranking: Q1)
- III. Meszlényi V, Patai R, Polgár TF, **Nógrádi B**, Körmöczy L, Kristóf R, et al. Passive transfer of sera from ALS patients with identified mutations evokes an increased synaptic vesicle number and elevation of calcium levels in motor axon terminals, similar to sera from sporadic patients. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):5566. (IF (2020): 5.924, Journal Ranking: D1)
- IV. Obál I, **Nógrádi B**, Meszlényi V, Patai R, Ricken G, Kovacs GG, et al. Experimental motor neuron disease induced in mice with long-term repeated intraperitoneal injections of serum from ALS patients. *Int J Mol Sci*. 2019;20(10):2573. (IF (2019): 4.556, Journal Ranking: Q1)
- V. Meszlényi V, Patai R, **Nógrádi B**, Engelhardt JI, Siklós L. Commentary: Calcium in the pathomechanism of amyotrophic lateral sclerosis – Taking center stage? *J Neurol Neuromed*. 2017;2(4):1-4. (Journal is not indexed by Clarivate JCR.)
- VI. Patai R, **Nógrádi B**, Meszlényi V, Obál I, Engelhardt JI, Siklós L. Az amyotrophiás lateralsclerosis patofiziológiai tényezőinek központi kapcsolóeleme, a kalcium. *Ideggyogy Szemle*. 2017;70(7-8):247-257. (IF (2017): 0.252, Journal Ranking: Q4)
- VII. Patai R, **Nógrádi B**, Engelhardt JI, Siklós L. Calcium in the pathomechanism of amyotrophic lateral sclerosis - Taking center stage? *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;483(4):1031-1039. (IF (2017): 2.559, Journal Ranking: Q1)

Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretném megköszönni témavezetőim, Dr. Siklós László és Dr. Patai Roland (Neuronális Plaszticitás Kutatócsoport, Szegedi Biológiai Kutatóközpont) mentorálását, támogatását és munkáját, amivel hozzájárultak doktori fokozatszerzésemhez. Ugyancsak szeretném köszönetemet kifejezni Dr. Krizbai Istvánnak és Dr. Wilhelm Imolának (Neurovaszkuláris Egység Kutatócsoport, Szegedi Biológiai Kutatóközpont) értékes hozzájárulásaikért, javaslataikért és kollaborációs munkánk lehetőségének megteremtéséért. Külön köszönettel tartozom Dr. Nógrádi Antalnak (Neuronális Regeneráció Laboratórium, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, Szegedi Tudományegyetem), aki szakmai jellegű javaslatain túl bátorításával és példamutatásával táplálta tudomány iránti lelkesedésemet. Szeretném megköszönni Dr. Klivényi Péter (Neurológiai Klinika, Szegedi Tudományegyetem) szakmai támogatását. Köszönettel tartozom a Neuronális Regeneráció Laboratórium, valamint a Neuronális Plaszticitás és Neurovaszkuláris Egység Kutatócsoportok tagjainak, kiemelten Dr. Mészáros-Molnár Kingának, Kristóf Rebekának, Dr. Nyúl-Tóth Ádámnak, Dr. Pajer Krisztiánnak és Bánfiné Ráczi Erikának. Kiemelkedő színvonalú munkájuk, segítségük, szakmai elhivatottságuk és az általuk alkotott baráti és inspiráló közeg nélkül ez a munka nem jött volna létre. Külön köszönetemet szeretném kifejezni menyasszonyomnak, családomnak és barátaimnak folyamatos támogatásukért és amiért elviseltek és bátorítottak a kihívások alatt is. Ez az eredmény ugyanannyira az ő érdemük is, mint a sajátom. A projektek finanszírozása a GINOP-2.3.2-15-2016-00001, GINOP-2.3.2-15-2016-00034, GINOP-2.3.2-15-2016-00020, UEFISCDI PN-III-P1-1.1-TE-2019-1302 és PN-III-P4-ID-PCE-2020-1529, FK-124114, K-135425, K-135475, TKP2021-EGA-09, ÚNKP-18-2-I-SZTE-84, ÚNKP-19-2-SZTE-92, ÚNKP-20-2-SZTE-68 és ELKH SA-73/2021 programok, valamint a Szegedi Tudós Akadémia (FEIF/433-4/2020-ITM_SZERZ) támogatásával történt.