

Az öregedés hatása a terjedő depolarizációra intakt és iszkémiás patkány agyban

Ph.D. értekezés tézisei

Menyhárt Ákos



Szegedi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet

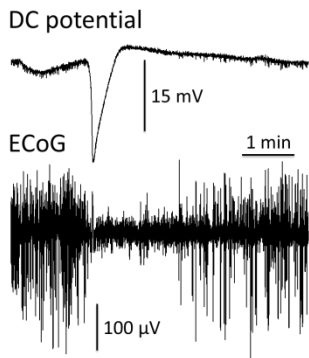
Szeged, 2017

Bevezetés

Az öregedés az iszkémiás stroke egyik fő rizikófaktora, hiszen növeli a stroke megjelenését és gyakoriságát, valamint rosszabb prognózist jósol a betegeknek. Napjaink előregedő civilizációjában a stroke akut fázisában megjelenő elsődleges sejsérülés legtöbbször már visszafordíthatatlan károsodásokat okoz. Ennél fogva a betegek felépülési esélyeinek javításához nélkülözhetetlen a másodlagos patofiziológiai folyamatok megértése. A spontán megjelenő terjedő depolarizációs hullámokat (spreading depolarizations, SDs) a másodlagos agyszöveti sérülések egyik okozójaként azonosította a tudomány, hiszen jelenlétüket sikerült igazolni szubarachnoidális vérzés, stroke és traumás agysérült betegekben is. Továbbá SD-k kialakulását figyelték meg percekkel a fokális iszkémia kialakítása után patkány modellekben. Mivel az akut infarktust követő napok során az SD-k előfordulásához gyakran késői neurológiai deficittek társultak, az SD-re újabban az agyszöveti metabolikus romlás indikátoraként, biomarkerként tekintenek a neurológiai ellátásban.

A terjedő depolarizáció során a neuron és glia sejtek közel teljes depolarizációja figyelhető meg. Ez a folyamat lassú hullámként terjed végig az agykérgen, amelyet a spontán agyi elektromos aktivitás tranziens csendje követ. Az SD fő elektrofiziológiai jellemzői; az alacsony frekvenciájú, lassú kérgi potenciál vagy egyenáramú (direct current, DC) potenciál tranziens negatív kitérése és a depolarizációt követő neuronális aktivitás csendje, amelyet

terjedő depresszió-ként ismerünk (cortical spreading depression, CSD) (1. ábra).



1. ábra Az SD elektrofiziológiai jellemzői. Felül, a DC potenciál lassú negatív kitérése, amit terjedő depolarizációnak (spreading depolarization, SD) hívunk. Alul, az elektrokortikogram (ECoG) átmeneti csendje vagy terjedő depresszió (cortical spreading depression, CSD).

Az SD-k sejtkárosító hatásait feltehetően a depolarizációt követő atipikus agyi vérátáramlásbeli (cerebral blood flow, CBF) válaszok okozhatják. A vazokonstriktív és vazodilatatív közötti érzékeny egyensúly precíz szabályozásának eredménye, hogy az SD-hez társuló CBF válasz, négy egymáshoz kapcsolt vazogén elemből tevődik össze. Az egészséges agyban a négy vazogén elem közül a hiperémiás komponens dominál, ami egy erőteljes vazodilatációként jelenik meg. A sérült agyban az SD-vel járó CBF válaszok átalakulnak és a szövet energiaigényének kedvező hiperémia helyett, a vazokonstriktív CBF elemek kerülnek túlsúlyba. A hiperémia amplitúdójának csökkenésével szinkronban a hipoémia, vagy áramlás-csökkenés jelentkezik. A végső legkórosabb esetekben a hipoémia teljes dominanciát élvez, és az SD-hez kapcsolódó CBF válasz átalakul egy elhúzó vazokonstriktív, amit terjedő

iszkémiaként ismerünk. Az elnyúló, lassú repolarizációs fázisú SD-kel járó terjedő iszkémiáról bebizonyosodott, hogy az infarktus méretének növelése mellett, kiterjedt nekrozist okoznak a stroke-os állatmodellekben.

Az SD-vel járó depolarizáció az agyi extracelluláris pH tranziens acidózisát okozza, hiszen 7,35 pH egységről 6,95 pH egységre csökken az SD során egy egészséges patkány agyban. Ennek a kismértékű acidózisnak önmagában még nincsen sejtkárosító hatása, ám meghatározó lehet a neuronok túlélése szempontjából, ha az ismétlődő SD-k a metabolikus acidózisban szenvedő iszkémiás agykéregben (6,2-6,8 pH egység) jelennek meg. A fent említettek alapján tehát feltételezhető, hogy a stroke során létrejövő savas pH grádienshez hozzájárulhat, sőt mi több, okozója lehet az SD-vel járó metabolikus krízis, amelynek hosszabb idejű fennállása elősegíti a neuronális degenerációt.

Mivel az idősödő agy sokkal fogékonyabb a stroke-os sérülésre, létfontosságúvá vált megértenünk az öregedés szerepét a stroke patofiziológiájában. Klinikai tanulmányok bizonyítják, hogy az idős agyban sokkal nagyobb százalékban alakul át a penumbra régió stroke-os core-ba. Emellett leírták, hogy az iszkémiával járó neurológiai károsodás kiterjedtebb volt idős egerekben, illetve az öreg kor megnövelte az infarktus méretét és a neuron pusztulás mértékét is az idős patkányokban. Az SD-k valószínűleg érintettek a felsorolt neurodegeneratív kórképekben, ám az öregedés SD-re

gyakorolt hatása máig ismeretlen. Kevés adatunk van továbbá arról, hogy az SD-k esetleg ronthatják az öregedő agy felépülési esélyeit egy stroke-os esemény után.

A fentiek alapján tehát hipotéziseink az alábbiak voltak:

(I) Az SD-k az elromlott CBF válasz miatt okoznak nagyobb sérülést az idős agyban;

(II) Az SD-k megjelenése az iszkémiás agyban egy olyan savas tartományba tolja el az agyi pH-t, ami bizonyítottan szöveti sérülést okoz;

(III) Az SD-vel járó szöveti acidózis nagyobb mértékű az idős iszkémiás agykéregben, ez pedig kiterjedtebb iszkémiás léziókat okozhat.

A hipotéziseink bizonyításához a következő célokat tűztük ki:

(I) Meghatározzuk az öregedés szerepét az SD-k kialakulásában és az SD-kapcsolt CBF válaszok kinetikájában az intakt és az iszkémiás patkány agyban;

(II) Megállapítjuk az SD-hez tartozó acidózis mértékét és karakterisztikáját a fiatal és idős iszkémiás patkány agyban.

Anyagok és módszerek

Kísérleti Projekt I

Kísérleteinkben halotánál vagy izofluránnal, N₂O:O₂ gázkeverékben altatott fiatal (8 hetes) és idős (2 éves) Sprague-Dawley és

Wistar patkányokat használtunk. Globális előagyi iszkiémiát bilaterális arteria carotis communis okklúzióval (two-vessel-occlusion, 2VO) hoztunk létre. Üvegkapilláris mikroelektrodával DC potenciált és elektrokortikogramot (ECoG), Lézer Doppler szondával CBF-et regisztráltunk. Négy kísérleti csoportunkban a fiatal (n=8) és idős (n=6) iszkiémiás állatok kontroljaként a fiatal (n=6) és idős (n=6) áloperált patkányok szolgáltak. Az SD-ket 1M vagy 3M-os KCl topikális adagolásával váltottuk ki.

Kísérleti Projekt II

Az izofluránnal altatott 8 hetes vagy 18-20 hónapos Sprague-Dawley patkányok parietális csontján nyitott vagy zárt koponyaablakokat készítettünk. Az SD-vel járó extracelluláris pH változásokat pH szenzitív mikroelektrodákkal, a helyi CBF válaszokat pedig lézer-Doppler áramlásmérővel követtük nyomon (n=17). A képalkotó eljárással folytatott kísérletek során az SD-hez tartozó intracelluláris pH változásokat egy a sejtekbe penetráló pH jelölő fluoreszcens festék intenzitásváltozásával detektáltuk, míg az agyi perfúziós válaszokat lézeres szórás interferencián alapuló áramlásméréssel (LASCA) monitoroztuk (n=20). Mérési protokollunk szerint; 50 perces alapszakasz után 60 perc iszkiémiás periódus következett, amit 2VO-val értünk el. Ezt a szakaszt pedig a reperfúzió után újabb 50 perc felvétel követte. Az SD-ket topikális KCl hozzáadással a caudalis koponyaablakból vagy a zárt koponyaablakba fecskendezett

1 μ l 1M KCl mikroinjekcióval, 15 perces időközönként váltottuk ki az alap, az iszkémiás és a reperfüziós szakaszokban.

Eredmények

Kísérleti Projekt I

A terjedő depolarizációk DC potenciál kinetikájának változásai

Az iszkémia megnyújtotta az SD-vel társuló negatív DC kitérés hosszát ($66,2 \pm 22,8$ vs. $21,4 \pm 4,1$ mp, Fiatal 2VO vs. Fiatal kontroll), ezt a hatást az öregedés tovább növelte, amely jól látható az Öreg 2VO csoportban ($95,8 \pm 46,2$ mp). Az iszkémia által okozott elnyújtott DC kitérést a hullámok depolarizációs ($14,5 \pm 11,4$ vs. $4,4 \pm 2,9$ mV/s, Fiatal 2VO vs. Fiatal kontroll) és repolarizációs ($0,7 \pm 0,5$ vs. $2,6 \pm 0,7$ mV/s, Fiatal 2VO vs. Fiatal kontroll) meredekségének csökkenése is igazolta. Az idős kor szintén csökkentette az SD depolarizációs fázisának meredekségét ($1,9 \pm 0,9$ vs. $2,6 \pm 0,7$ mV/s, Öreg kontroll vs. Fiatal kontroll). Végül, a depolarizáció és repolarizáció amplitúdója kisebbnek bizonyult az iszkémiás csoportokban, illetve az idős állatokban az SD repolarizációs amplitúdója is lecsökkent ($2,9 \pm 2,9$ vs. $5,1 \pm 1,2$ mV, Öreg kontroll vs. Fiatal kontroll).

Az SD-kapcsolt CBF válaszok jellemzése

Hatféle CBF választípust sikerült azonosítani, így létrehoztunk egy spektrumot a domináns hiperémiától kezdődően az elnyúló, kérgi

terjedő iszkémiáig. A terjedő iszkémiát kizárólag az idős iszkémiás csoportban figyeltük meg (6/4 állatban). Részletesebb analízisünk során bebizonyítottuk, hogy az SD-csatolt CBF válasz első vazogén eleme, a kezdeti hipoperfúzió hosszabb lett ($36,8 \pm 17,5$ vs. $7,9 \pm 6,8$ secmp, Fiatal 2VO vs. Fiatal kontroll) iszkémia során, és drasztikusan megnyúlt az Öreg 2VO csoportban (1344 ± 1047 mp), feltehetően a terjedő iszkémia megjelenése miatt.

Kísérleti Projekt II

A kísérleteink során alkalmazott pH-szenzitív mikroelektrodák segítségével sikerült meghatározni az SD-hez tartozó extracelluláris pH változás három fázisát: (i) egy rövid, kezdeti acidotikus kitérés, amelyet azonnal egy (ii) gyors, szintén rövid idejű alkalózis követ, majd a válasz (iii) egy végső, hosszan tartó markáns, de tranziens acidózissal zárul. Részletes analízisünk a végső, domináns acidózisra koncentrált a tézisben.

A képképző eljárással végzett összes kísérletben, az intakt vagy iszkémiás agykéregben kiváltott SD hatásaként, egy jól reprodukálható, tranziens NR fluoreszcencia intenzitásnövekedést tapasztaltunk, amely ugyan némileg diffúz volt (nem látható egy éles hullámfront), de a sugárszerű, radiális terjedését könnyedén lehetett igazolni a látótérben a kiváltás helyétől vizsgálva. Az NR SD-k alatti fluoreszcencia intenzitás növekedése összehasonlítható volt a

domináns acidózis fázisával, amit a pH-szenzitív elektródákkal felvételeztünk.

Az iszkémiás agyban az SD fokozott szöveti acidózist okoz

Az iszkémiás agyban a kiváltott SD-kel járó acidózis lényegesen megnőtt. Ennek hatását számszerűen tükrözte az iszkémiás SD alatti acidózis nagyobb relatív amplitúdója az alap szakaszban kiváltott SD-hez képest (fiatal állatoknál, mikroelektróda: $0,43 \pm 0,15$ vs. $0,36 \pm 0,07$ pH egység; NR képkötés: $0,37 \pm 0,18$ vs. $0,23 \pm 0,10$ $\Delta F/F$); az acidózis hosszának megnyúlása (fiatal állatoknál, mikroelektróda: $93,1 \pm 26,3$ vs. $40,2 \pm 8,1$ mp; NR képkötés: $127,5 \pm 64,2$ vs. $39,8 \pm 13,8$ mp), a savasodás nagyobb görbe alatti területe (fiatal állatoknál, mikroelektróda: 2415 ± 869 vs. 855 ± 322 pH egység x mp; NR képkötés: $57,4 \pm 50,9$ vs. $9,8 \pm 5,9$ $\Delta F/F$ x mp), és az agyi pH acidózisból való lassúbb visszatérése (fiatal állatoknál, mikroelektróda: $0,44 \pm 0,33$ vs. $0,70 \pm 0,23$ pH egység/mp; NR képkötés: $0,004 \pm 0,002$ vs. $0,009 \pm 0,005$ $\Delta F/F$ /mp). A reperfüziós szakaszban az SD-vel járó acidózis mérhető paraméterei hasonló értékeket mutattak az alapszakaszban tapasztaltakhoz (pl. fiatal állatoknál, acidózis relatív amplitúdója ($0,31 \pm 0,09$ vs. $0,36 \pm 0,07$ pH egység; hossza: $42,0 \pm 8,0$ vs. $40,2 \pm 8,1$ mp). Az öregedés észrevehető hatást gyakorolt az SD-vel járó pH tranziensekre is. Mind a pH szenzitív elektródákkal, mind pedig az NR képkötéssel kapott eredmények egyértelműen bizonyították, hogy az acidózisból való visszatérés szignifikánsan lassúbb folyamatnak bizonyult az

idős csoportban a fiatalhoz képest az alapszakaszban (elektrofiziológia: $0,47 \pm 0,24$ vs. $0,70 \pm 0,26$ pH egység/mp; NR képkötés: $0,006 \pm 0,003$ vs. $0,009 \pm 0,005$ $\Delta F/F$ /mp) és iszkémia alatt is (elektrofiziológia: $0,23 \pm 0,12$ vs. $0,44 \pm 0,005$ pH egység/mp; NR képkötés: $0,002 \pm 0,001$ vs. $0,004 \pm 0,002$ $\Delta F/F$ /mp).

Az iszkémia okozta szöveti acidózist súlyosbítják a spontán megjelenő depolarizációs hullámok

A spontán megjelenő SD-k hatásainak jellemzése talán a leginkább releváns felfedezése ennek a kísérletsorozatnak. Kísérleteinkben általában az iszkémia indukció után 2 perccel jelentek meg spontán SD-k, összesen 33 kísérletből 15 darab. Habár kísérletenként csak egy spontán SD jelent meg, annak hatása igen súlyosnak bizonyult. Az SD-vel járó acidózis hozzáadódott az iszkémiás acidózishoz, ily módon, a pH tranziensen $6,93 \pm 0,09$ pH-egységről $6,48 \pm 0,16$ -ra csökkent le a fiatal állat csoportban, az öreg állatoknál pedig az iszkémiás $7,06 \pm 0,10$ pH-ról $6,76 \pm 0,20$ pH egységre redukálódott. NR képkötéssel kimutattuk, hogy az idős csoportban megjelenő spontán SD-k több mint, megduplázták az NR fluoreszcencia intenzitását az iszkémia által okozott intenzitásnövekedéshez képest. A spontán SD-k megjelenése után 10 perccel a pH savasabb értékekre tért vissza, mint amilyen acidózist az iszkémia önmagában kiváltott az ezzel megegyező időpontban ($7,09 \pm 0,09$ vs. $7,29 \pm 0,16$ pH egység). Az idős állatcsoportban a spontán SD-nek ez a hatása

felelősödött, hiszen az SD-t követően átlagosan $6,94 \pm 0,08$ pH egységre tért vissza az agyi pH.

Diszkusszió

Az iszkémia és idős kor hatásaként készletetett a nyugalmi membránpotenciál visszatérése a depolarizációk után

Az öregedés súlyosbította az iszkémia okozta SD megnyúlást: a hatból egy állat az idős iszkémiás csoportban terminális depolarizációt szenvedett el, valamint az első, tranzienst SD-k tendenciózusan hosszabbak voltak a fiatal 2VO-s patkányokkal összehasonlítva. Iszkémia alatt a sejtek ATP ellátása elégtelenné válik, ezért a Na^+/K^- -ATP-áz szubsztrátkoncentrációja nem lesz elegendő a gyors felépüléshez. Ennek következtében a pumpa működése lelassul, ami gátolja a nyugalmi transzmembrán potenciál visszaállítását. Ezek a megfigyelések összhangban állnak egy korábbi fokális, előagyi iszkémia modellünk eredményeivel, ahol a megnyúlt SD-k által érintett agykérgi felszín szignifikánsan nagyobbak bizonyult idős patkányokban, mint fiatalokban. Az említett adatok arra engednek következtetni, hogy az idős, iszkémiás agynak kevesebb forrás áll rendelkezésére az SD-ből való helyreálláshoz, ami az idős idegszövet fokozott sérülékenységét tükrözi az iszkémia és/vagy SD okozta sérüléssel szemben.

*Az SD-hez kapcsolt hiperémiás válasz csökkenő amplitúdóval
jelentkezik iszkémia során és hipoémiássá alakul az idős agyban*

A kísérleteink fő megfigyelései a következők: (1) az SD-vel kialakuló CBF válaszokban a hipoémiás komponens gyakrabban dominál idős agyban, (2) az idős életkor és az iszkémia együtt fogékonytá teszi az agykérget a terjedő iszkémia kialakulására (inverz neurovaszkuláris csatolás révén) és (3) az iszkémia okozta perfúziós deficit folyamatosan elmélyül az idős agyban. Az idős iszkémiás patkányokban többségében előforduló terjedő iszkémia hátterében a magas vazokonstriktív K^+ -szint és a potens vazodilatátor, nitrogén-monoxid (NO) korlátozott elérhetőségének kombinációja állhat. Az SD-k az iszkémia-ozokta K^+ -szint emelkedésével összeadódva tranziensen 20 mM fölé, vagyis a dilatáció/konstriktó határérték fölé emelhetik az extracelluláris K^+ koncentrációt, mely markáns érösszehúzódást indukál. A kompenzatórikus hatású NO termelése is elégtelenné válik. Az agyszövet metabolikus krízise miatt emelkedik a reaktív oxigén gyökök szintje (pl. szuperoxid), melyek a NO-t peroxinitritté alakítják, így az nem tudja a fiziológias vazodilatációs hatását kifejteni. A reaktív oxigén gyökök miatti korlátozott NO hozzáférhetőség a fiziológias öregedés során is diszfunkcionális NO-mediált vazodilatációt eredményez. Az öregedő szövet tulajdonságaihoz hozzáadódó iszkémia potenciórozhatja a magas extracelluláris K^+ -szint melletti NO-alapú vazoreguláció károsodását,

így utat nyitva az idős agyban nagyobb eséllyel megjelenő terjedő iszkémiának. Másfelől, az iszkémia során keletkező SD-k tovább rontják a felborult metabolikus egyensúlyt és elmélyítik az iszkémia okozta perfúziós deficitet.

Az iszkémia alatt megjelenő SD-k agyi pH-ra gyakorolt hatásai

Az agyszöveti pH mérések fényt derítettek három olyan törvényszerűsége, amelyek szignifikáns neurológiai következményeket vonhatnak maguk után: (i) az SD-vel járó acidózis rendkívüli mértékben megnő az iszkémiás agykéregben az intakthoz képest; (ii) az SD-vel járó acidózis az iszkémiás agykéregben hozzáadódik az iszkémia okozta acidózishoz; (iii) az idős agyban az SD-vel járó acidózisból elromlott visszatérés tapasztalható és ezáltal a szöveti pH sokkal savasabb értéken marad az SD után a fiatalhoz képest.

Az SD-vel járó acidózis iszkémia alatti megnövekedését a pH tranziensek nagyobb relatív amplitúdójával és hosszuk időbeli elnyúlásával sikerült jellemeznünk. Korábbi tanulmányok azt feltételezik, hogy intakt agykéregben, az SD-vel járó szöveti acidózis szükségszerűen a laktát koncentráció függvénye kell, hogy legyen, mivel az extracelluláris pH bizonyítottan szinkronban csökken a lakták szint emelkedésével. A szakirodalmi adatok alapján tehát azt feltételezzük, hogy az iszkémia során tapasztalt SD-vel járó nagyobb amplitúdójú és hosszabb acidózist a fokozott laktát felhalmozódás okozhatta. Mivel a laktát elsősorban az anaerob glikolízis

végterméke, feltételezzük, hogy a laktát koncentrációja és így az SD-vel járó acidózis relatív amplitúdó maximuma függhet attól, hogy az SD-vel járó metabolikus krízis következtében a szövet képes marad-e az aerob anyagcsere útvonalat előnyben részesíteni vagy kizárólag az anaerob útvonal érvényesül az iszkémia eredményeként. Az SD-vel járó acidózis elnyúlása és az iszkémia alatti fokozott laktát termelés valószínűleg igen jó korrelációt mutat a lassú, késleltetett repolarizációs fázissal, illetve a folyamatos energiaigénnyel.

Kísérleteink tehát bebizonyították, hogy az SD-vel járó acidózis markánsan megnő az iszkémiás agykéregben, sőt mi több, elsőként írtuk le, hogy az SD-vel járó acidózis hozzáadódik az iszkémia okozta savasodáshoz, ez a jelenség a spontán SD-k esetében érvényesül igazán. Elmondhatjuk, hogy a globális előagyi iszkémiás modellünkben penumbra régióknak megfelelő feltételeket teremtettünk, hiszen a CBF 40%-alá esett és egészen a reperfúzióig 20-40%-között váltakozott. Iszkémia indukció előtt, az extracelluláris pH a spontán SD-ket megelőző szakaszban 6,9-7,0 pH egység volt, ami pedig megegyezik a penumbrában intracellulárisan kimért pH értékekkel középagyi artéria okklúzió után. Érdekes módon, a spontán SD-vel járó acidózis az extracelluláris pH-t átlagban 6,48-ra csökkentette, ami viszont inkább a core régióra jellemző pH érték fokális inzultusok után. Az SD-k bizonyítottan ismétlődő epizódoként következnek be az iszkémiás agyban, ám ha előtérbe helyezzük, hogy a penumbraszerű kondíciók mellett

megjelenő SD-k után a szöveti pH legalább 10 percig savas tartományban marad, joggal feltételezhetjük, hogy az elnyújtott acidózist okozó SD-k növelik a neuronális sérülés kockázatát. Leírtuk, hogy spontán SD kizárólag iszkémia indukció utáni súlyos perfúziós deficit esetén jelenik meg (a CBF 7-23%-ra esik, nem pontosan az SD-létrejövetelének pontjából mérve). Emellett kimutattuk, hogy a spontán SD-k keletkezése sokkal gyakoribb az idős agyban.

Összességében elmondhatjuk, hogy az SD-k megjelenését az idős agykéregben valószínűleg az iszkémia utáni nagyobb perfúziós deficit okozza. Eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy az idős agyat sokkal inkább veszélyezteti a savasodás sejtpusztító hatása, mivel az SD elhaladása után a szöveti pH szignifikánsan savasabb értéken marad, mint fiatal állatokban.

Köszönetnyilvánítás

Ez úton szeretnék köszönetet nyilvánítani Bari Ferenc Professzornak, az SZTE ÁOK Dékánjának és az SZTE ÁOK TTIK Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet vezetőjének. Köszönöm, hogy megtisztelt bizalmával és lehetőséget biztosított számomra, hogy beléphessek a kutatócsoportjába. A Professor Úr építőjellelű ötletei és útmutatása létfontosságú segédmankók voltak doktori képzésem során.

Szeretném őszinte hálámat kifejezni a Témavezetőmnek; Dr. Farkas Eszternek, a folyamatos támogatásért és segítségért, amit a kutatómunkám során nyújtott nekem. Köszönettel tartozom Eszternek a végtelen türelméért, motiváló tanácsaiért és a hatalmas tudásért, amit átadott nekem. Soha nem kívánhattam volna jobb főnököt, mentort és barátot.

Hálával tartozom Jancsó Gábor Professzornak, aki lehetőséget biztosított számomra, hogy részt vehessek az Idegtudomány Doktori Képzési Programban.

Köszönöm az Agyi Vérátáramlás és Metabolizmus kutatócsoport minden tagjának; Dr. Zölei-Szénási Dánielnek, Dr. Hertelendy Péternek, Varga Dánielnek, Ivánkovitsné Kiss Orsolyának, Puskás Tamásnak és Dr. Makra Péternek az ösztönző gondolatmenetekért, a hosszú, sokszor éjszakába nyúló kísérletes napokért, és minden öröméért, amit együtt élhettünk meg az utóbbi három évben.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretném megköszönni a családomnak: Szüleimnek, Nagyanyámnak és az Öcsémnek, hogy lelkileg mindig velem voltak, és támogattak a posztgraduális képzés hosszú útján, ami ehhez a disszertációhoz vezetett.

A tézis alapját képező közlemények

1. **Menyhárt Á**, Makra P, Szepes BÉ, Tóth OM, Hertelendy P, Bari F, Farkas E. (2015) High incidence of adverse cerebral blood flow responses to spreading depolarization in the aged ischemic rat brain. *Neurobiol Aging*. 2015 Dec;36(12):3269-77. **IF: 5.193**
2. **Menyhárt Á**, Zölei-Szénási D, Puskás T, Makra P, Orsolya MT, Szepes BÉ, Tóth R, Ivánkovits-Kiss O, Obrenovitch TP, Bari F, Farkas E. (2017) Spreading depolarization remarkably exacerbates ischemia-induced tissue acidosis in the young and aged rat brain. *Sci Rep*. 2017 Apr 25;7(1):1154. **IF: 5.525**

Egyéb közlemények

1. Gellért, L. Knapp, K. Németh, J. Herédi, D. Varga, G. Oláh, K. Kocsis, **Á. Menyhárt**, T. Farkas, Zs. Kis, L. Vécsei, J. Toldi. Post-ischemic treatment with L-kynurenine sulfate exacerbates neuronal damage after transient middle cerebral artery occlusion L. *Neuroscience*. 2013 Sep 5;247:95-101. **IF: 3.327**
2. G. Oláh, J. Herédi, **Á. Menyhárt**, Zs. Czinege, D. Nagy, J. Fuzik, K. Kocsis, L. Knapp, E. Krucsó, L. Gellért, Zs. Kis, T. Farkas, F. Fülöp, Á. Párdutz, J. Tajti, L. Vécsei, J. Toldi. (2013) Unexpected effects of peripherally administered kynurenic acid on cortical spreading depression and related blood-brain barrier permeability. *Drug Des Devel Ther*. 2013 Sep 16;7:981-7. **IF: 3.026**

3. Peter Toth, Stefano Tarantini, Nicole M. Ashpole, Zsuzsanna Tucsek, Ginger L. Milne, M. Noa Valcarcel-Ares, **Akos Menyhart**, Eszter Farkas, William E. Sonntag, Anna Csiszar, Zoltan Ungvari. IGF-1 deficiency impairs neurovascular coupling in mice: implications for cerebromicrovascular aging.

Aging Cell. 2015 Dec;14(6):1034-44. **IF: 6.34**

4. Stefano Tarantini, Zsuzsanna Tucsek, M. Noa Valcarcel-Ares, Nataliya Smith, **Akos Menyhart**, Eszter Farkas, Eric Hodges, Rheel Towner, Ferenc Deak, William E. Sonntag, Anna Csiszar, Zoltan Ungvari, Peter Toth. Pharmacologically-induced neurovascular uncoupling is associated with cognitive impairment in mice.

J Cereb Blood Flow Metab. 2015 Nov;35(11):1871-81. **IF: 5.407**

5. Péter Hertelendy, **Ákos Menyhárt**, Péter Makra, Zoltán Süle, Tamás Kiss, Gergely Tóth, Orsolya Ivánkovits-Kiss, Ferenc Bari, Eszter Farkas. Advancing age and ischemia elevate the electric threshold to elicit spreading depolarization in the cerebral cortex of young adult rats.

Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism 2017

May;37(5):1763-1775. **IF: 5.407**

6. Varga DP, Puskás T, **Menyhárt Á**, Hertelendy P, Zölei-Szénási D, Tóth R, Ivánkovits-Kiss O, Bari F, Farkas E. Contribution of prostanoid signaling to the evolution of spreading depolarization and the associated cerebral blood flow response.

Sci Rep. 2016 Aug 10;6:31402. **IF: 5.525**

A tézis alapját képező közlemények impakt faktora: 10.718

Minden közlemény összesített impakt faktora: 39.75