

**Az öregedés hatása az agykérgi terjedő
depolarizáció kiválthatóságára, és a
prosztanoidok szerepe a társuló agyi keringési
válasz kialakításában**

Ph.D. Tézis

Dr. Hertelendy Péter



**Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet**

Szeged, 2019

Bevezetés

A terjedő depolarizáció (spreading depolarization, SD) a neuronok és feltehetőleg a gliasejtek közel teljes depolarizációjával járó tovaterjedő hullám, mely – a spontán agyi aktivitás depressziójával és a következményes agyi véráramlás (cerebral blood flow, CBF) változással együtt – 2-8 mm/min sebességgel halad végig az agyi szürkeállományon. A nagymértékű depolarizációt átmeneti negatív kitérésként észleljük a DC-módban szűrt lokális agyi potenciál (local field potential, LFP) vagy elektrokortikogram (electrocorticogram, ECoG) felvételeken, míg a spontán neuronális aktivitás depressziója az ECoG-on átmeneti beszűkülésként jelentkezik. Az SD-t felfedezése óta számos neurológiai betegséggel hozták kapcsolatba: az SD okozhatja a migrén aura jelenségét, valamint feltehetőleg hozzájárul a fejfájás kialakulásához is. Ezen kívül számos preklinikai és klinikai adat azt mutatja, hogy az SD-nek központi szerepe van a másodlagos károsodás kialakulásában iszkémiás és vérzéses stroke-ot, traumás agysérülést (traumatic brain injury, TBI) és szubarachnoidális vérzést (subarachnoid hemorrhage, SAH) követően.

Fiziológiás körülmények között az extracelluláris tér K^+ koncentrációja ($[K^+]_e$) 3-4 mM között mozog és független a szérumszint fluktuációjától, bár neuronális aktivitást követően átmenetileg lokálisan magasabb is lehet. Az SD kiválthatóságához szükséges káliumszintet (10-15 mM) elsősorban a kálium homeosztázis (K^+ intracelluláris leadása és felvétele) határozza meg. Amint a $[K^+]_e$ kritikus szintet ér el, kiváltja az SD öngerjesztő folyamatát, mely átterjed a környező területekre, elindítva a depolarizációs hullámot. A nagymértékű depolarizáció hátterében a neuronális transzmembrán potenciál közel teljes megszűnése áll, melyet a nagymértékű Na^+ beáramlás okoz. Az SD hullámfront elején az extracelluláris Na^+ koncentráció 140-150-ről 50-70 mM-ra esik, melyet gyors és jelentős $[K^+]_e$ emelkedés (2,7-3,5-ről 30-60 mM-ra) követ, miközben az extracelluláris Ca^{2+} szint 1-1,5-ről 0,2- 0,8 mM-ra és a Cl^- 130-ről 74 mM-ra csökken. Az intracelluláris ion szintek természetesen ezzel ellentétesen változnak.

A K^+ -nak ugyan központi szerepe van az SD kialakulásában és terjedésében, a folyamatban résztvevő ioncsatornákat továbbra sem ismerjük pontosan. A feszültségfüggő K^+ csatorna (Kv), nagy konduktanciájú, Ca^{2+} aktivált K^+ csatorna (BK) és ATP-szenzitív kálium csatornák szerepe nagyon valószínű.

Agysérülés következtében kialakult ATP hiány miatt csökken a Na^+/K^+ -ATPáz aktivitása/hatékonyasága, és ezáltal a K^+ visszavétel is a sejtekbe. A Na^+/K^+ -ATPáz alapvető

tulajdonságának köszönhetően fontos szerepe van az SD-t követő repolarizációban, melyhez az asztrociták is hozzájárulhatnak.

SD során az ion koncentrációk nagymértékű változásával párhuzamosan jelentősen megnő az extracelluláris glutamát koncentrációja is. A glutamát kiáramlás hátterében feltehetőleg az intracelluláris Ca^{2+} akkumuláció állhat, melyet P/Q típusú feszültségfüggő kalcium csatornák (Cav) szabályozhatnak. Glutamát felszabadulás megvalósulhat még preszinaptikus N-metil-D-aszpartát (NMDA) receptorok stimulálásával vagy pannexin-1 csatornák megnyílásával, illetve az serkentő aminosav transzporterek (excitatory amino acid transporters, EAAT) megfordult működésével is. A glutamát akkumuláció következtében túlstimulált NMDA receptorok miatt mélyülhet a neuronális depolarizáció, hozzájárulva az SD terjedéséhez további K^+ és glutamát felszabadításával. A K^+ homeosztatikus szabályozásához hasonlóan a glutamát pufferelesnek is központi szerepe van az SD kialakulásában és terjedésében.

Az SD-t jellegzetes CBF válasz követi, melyet a depolarizáció során felszabadult vasoaktív metabolitok váltanak ki. Fiziológias körülmények között az SD-hez csatolt CBF válasznak patkányban – és valószínűleg humánban is – négy jellegzetes elemét lehet elkülöníteni: (i) kezdeti, rövid hipoperfúzió; (ii) átmeneti, maximális hiperémia; (iii) kevésbé jellegzetes, kései hiperémia; (iv) elhúzódó hipoperfúzió melyet terjedő vagy poszt-SD oligémiának is neveznek. Ezen elemek jelenléte és aránya egy adott SD eseménnyel összefüggő CBF válaszban nagymértékben függ az agyi nyugalmi perfúziójától és a szövet metabolikus állapotától. Ezen elemek közül a maximális hiperémia a legismertebb és legalaposabban tanulmányozott szakasz/elem, azonban kialakulásának pontos mechanizmusa továbbra sem ismert. A prosztanoidoknak fontos szerepük van a fiziológias neurovaszkuláris csatolás szabályozásában, azonban az SD-hez csatolt CBF válaszban betöltött funkciójuk még nem tisztázott.

Iszkémiás inzultus során az infarktus magjához közeledve fokozatosan csökken az agyi perfúzió, ezzel párhuzamosan egyre jelentősebb lesz a vazokonstriktív elemek aránya az SD-hez csatolt CBF válaszban, mely csökkent hiperémiához és kifejezettebb hipoperfúzióhoz vezet. Amennyiben a hipoperfúziót meghatározó metabolitok aránya teljesen elnyomja a vazodilatátor elemeket, az SD-hez csatolt CBF válasz terjedő iszkémiává alakul. Ez az elsősorban agysérülés során jelentkező atípusos CBF válasz tovább növeli a szövet metabolikus krízisét és lassíthatja a repolarizációt is, irreverzibilis károsodáshoz vezetve.

Az SD-vel összefüggésbe hozható neurológiai betegségeknek (aurás migrén, akut agysérülés, mint TBI, SAH vagy iszkémiás stroke) az életkor független rizikófaktora. A migrén bimodális prevalencia csúcsa férfiaknál 19 és 48 éves korra, nőknél 25 és 50 éves korra tehető. A TBI

prevalenciája gyermekkorban (esések), fiatal felnőttkorban (gépjármű balesetek) és időskorban (esések) a legmagasabb. A SAH az egyik leggyakoribb stroke típus fiatalokban. A SAH-ot követő szekunder károsodás is gyakrabban fordul elő fiatal életkorban, melynek hátterében feltehetőleg a proximális agyi erek vazokonstriktója és a késletetett iszkémiás károsodás állhat. Végezetül ismert, hogy az iszkémiás stroke egyik leglényegesebb rizikótényezője az időskor. Ezen adatok függvényében nem meglepő, hogy a stroke kutatás egyik központi kérdése az idős agy fokozottabb érzékenysége, ugyanakkor az SD-t, mint ebben szerepet játszó kóros tényezőt mindeddig nem vizsgálták.

A fentiek alapján a következő célkitűzéseket fogalmaztuk meg:

- I. Az agykéreg SD iránti érzékenységének meghatározása serdülőkor és fiatal felnőttkorú patkányokban (7-től 30 hétig), fiziológias és iszkémiás állapotokban;
- II. Az SD kiválthatósága és az agykéreg szövettani organizációja közötti összefüggés vizsgálata az adott életkorokban;
- III. Az SD-hez társuló CBF válaszokban bekövetkező, életkor-függő változások értékelése a vizsgált életkor-tartományban;
- IV. Az SD-re vagy az életkori hatásra leginkább érzékeny ECoG frekvencia tartományok meghatározása.

Az SD-hez társuló CBF válaszok elégtelenségét tartják elsősorban felelősnek az SD-vel összefüggő másodlagos károsodások kialakulásában. Tekintettel a prosztanoidok szerepére a fiziológias neurovaszkuláris csatolásban, egy külön kísérletsorozat a következő, további célkitűzést szolgálta:

- I. A vazodilatátor prosztanoidok szerepének meghatározása az SD-vel járó CBF válasz szabályozásában.

Anyagok és módszerek

A kísérletsorozatok során nyílt kraniális koponyaablakokat alakítottunk ki izofluránnal altatott Sprague-Dawley patkányok parietális koponyacsontján, melyen keresztül elektrofiziológiai módszerrel DC-potenciált és ECoG-ot, lézer-Doppleres áramlásméréssel agyi véráramlás-változást regisztráltunk. Egy másik, disztálisabb kraniális koponyaablakban elektromos ingerléssel SD-ket váltottunk ki.

Az egyes SD-k kiválthatósági küszöbét a következő életkorú állatokban határoztuk meg: 7-10 hetes (n=21), 12-16 hetes (n=12) és 30 hetes (n=5). Az SD küszöbét katódális elektromos stimuláció lépcsőzetes emelésével határoztuk meg. Tizenöt percenként három SD-t váltottunk

ki a globális előagyi iszkémiát megelőző alap szakaszban, majd további három SD-t indukáltunk iszkémia alatt. Teljes előagyi iszkémiát az arteria carotis communis-ok együttes elzárásával (2-vessel occlusion, 2VO) hoztuk létre. A 8 és a 30 hetes állatokból nyert parietális agykérgi mintákból meghatároztuk a piramissejtek dendrittüskéinek sűrűségét. A legfiatalabb (7/8 hetes, n=6) és legidősebb állatok (30 hetes, n=5) ECoG regisztrátumain spektrum analízist végeztünk.

Fiatal felnőtt hím patkányokat (n=60) alkalmaztunk a vazodilatátor tulajdonságú prosztanoidok szabályozó szerepének meghatározására az SD-hez kapcsolt CBF válaszban. Farmakológiai módon, topikális adagolással gátoltuk a ciklooxygenáz-1-et (COX-1) SC-560-nal, a ciklooxygenáz-2-t (COX-2) NS-398-al és a prosztaglandin-E₂ (PGE₂) EP4-es receptorát L161,982-vel. Az inkubációs periódust követően 3 SD-t váltottunk ki lokális KCl oldattal. A kísérletsorozat során megvizsgáltuk az SD-khez társuló CBF válasz lefutását fiziológiás és iszkémiás körülmények között is.

Eredmények

Az SD kiválthatóságának vizsgálata

Az SD kiválthatóság elektromos küszöbe

Az idősebb állatoknál szignifikánsan magasabb elektromos töltés volt szükséges az SD-k kiváltásához mind fiziológiás állapotban (4743±1282 vs. 3076±915 vs. 1661±649 μC, 30 hetes vs. 12-16 hetes vs. 7-10 hetes), mind iszkémia alatt (8447±1763 vs. 5343±2170 vs. 2514±1032 μC, 30 hetes vs. 12-16 hetes vs. 7-10 hetes). Az életkor előrehaladtával fokozatosan nagyobb elektromos töltés volt szükséges SD kiváltásához iszkémia során mint fiziológiás állapotban (kiváltási küszöbértékek különbsége 4278±2352 vs. 853±839 μC, 30 hetes vs. 7-10 hetes).

Az egyes SD-k előtti kiindulási CBF érték fordítottan korrelált a kiváltási küszöbértékkel (r=-0,403), míg az SD kiváltásához szükséges töltésmennyiség pozitívan korrelált az SD kiváltotta ECoG depresszióval a magas frekvenciasávokon (alfa r=0,373, beta r=0,478). Az életkor változása nem befolyásolta az SD-hez kapcsolt CBF válaszok dinamikáját sem alap állapotban, sem iszkémia során.

Dendrit-tüske denzitás

A dendrit-tüskék a 30 hetes állatokból származó mintákban nagyobb méretűek voltak a 8 heteshez képest, és jellemzően csoportokba rendeződtek. A dendrit-tüskék denzitása szignifikánsan emelkedett 30 hetes korra (55±4 vs. 51±2 tüske / 50 μm dendrit szegmens, 30 hetes vs. 8 hetes).

A különböző ECoG frekvenciasávok spektrum analízise

A 30 hetes csoportban az alfa és a theta frekvenciasávok nagyobb teljesítményt mutattak, mint a 7/8 hetes csoportban (pl.: theta sáv: $0,005 \pm 0,003$ vs. $0,0025 \pm 0,001$ V², 30 hetes vs. 7/8 hetes). Iszkémia hatására jelentősen megnőtt az ECoG depresszió hossza mind a négy frekvencia sávban (pl.: alfa sáv a 7/8 hetes csoportban: 271 ± 126 vs. 139 ± 40 s, iszkémia vs. fiziológiás). A 30 hetes csoportban az alacsonyabb frekvencia tartományok (delta és theta) hamarabb kezdtek el visszatérni SD-t követően, mint a magasabb tartományok (alfa és béta), ellentétben a 7/8-hetes csoporttal (pl.: a theta sáv depressziójának időtartama: 123 ± 52 vs. 132 ± 34 s, 30 hét vs. 7/8 hét).

Az SD-hez társuló hiperémia relatív csúcsa negatívan korrelált az ECoG-on észlelt agyi aktivitás depressziójának időtartalmával mind a négy vizsgált frekvencia sávon ($r = -0,550$). Ugyanakkor az elhúzódó depresszió szignifikánsan növelte az SD-vel járó CBF válasz hosszát, mely összefüggés elsősorban a delta és theta sávok esetében volt megfigyelhető.

Az agyi véráramlás kompenzációja iszkémia alatt

A legfiatalabb állatokban (7-10 hetesek) az iszkémia kiváltását követően $18 \pm 6\%$ -ra esett a CBF, mely $37 \pm 12\%$ -on állapodott meg az első SD kiváltását megelőzően, és hozzávetőleg 30% -os szinten maradt a kísérlet végéig. Ezzel ellentétben, a 30 hetes állatokban $11 \pm 6\%$ -ra esett a CBF az iszkémia indukcióját követően, és csak $20 \pm 13\%$ -ra rendeződött az első kiváltott SD-t megelőzően. Mivel az iszkémiás periódus során a CBF végig 20% körül mozgott, megállapítható, hogy az idősebb állatokban rosszabb volt a CBF kompenzációja a fiatalabb állatokhoz képest.

Az SD-hez társuló CBF válaszok mediátorainak farmakológiai elemzése

Az enzimgátlókat és receptor antagonistákat topikálisan alkalmaztuk, hogy elkerüljünk lehetséges szisztémás mellékhatásokat. Az artériás középnyomás és a vérgáz minták alapján nem volt különbség a kísérleti csoportok között.

A farmakológiai kezelések csak az optimálisan perfundált kérgen terjedő SD-kre nézve értek el hatást, iszkémia során nem befolyásolták az SD-vel járó CBF válasz lefutását. A szelektív COX gátlóknak nem volt egyértelmű hatása az SD-vel összefüggő CBF válasz egyik általunk regisztrált paraméterére sem. Ezzel szemben a PGE₂ EP₄-es receptor antagonistája (L161,982) szignifikánsan csökkentette a maximális hiperémia amplitúdóját mind az első (21 ± 11 vs. 51 ± 38 %), mind a további SD-k esetén (50 ± 21 vs. 76 ± 37 %). Az L161,982 továbbá jelentősen növelte az első SD-t követő post-SD oligémia amplitúdóját (58 ± 13 vs. 40 ± 14 %).

Az L161,982 kezelést követően a hiperémia szignifikánsan lassabban alakult ki az első (0.75 ± 0.38 vs. 1.88 ± 1.13 %/s) és a további (1.05 ± 0.43 vs. 1.60 ± 0.70 %/s) kiváltott SD-k esetén is. A hiperémia mértéke, melyet a görbe alatti területtel jellemeztünk, jelentősen csökkent L161,982 hatására az első (874 ± 462 vs. 2885 ± 2543 % x s) és a további (5532 ± 3643 vs. 7448 ± 2072 % x s) SD-k esetén.

Az alkalmazott farmakológiai kezeléseknek nem volt hatása az SD kialakulására vagy lefutására fiziológias körülmények között, azonban iszkémia során mind a COX-1 gátló SC-560 és az EP4 receptor agonista L161,982 hatására az SD időtartamának szignifikáns növekedését észleltük.

Diszkusszió

Az iszkémia hatása az SD kiválthatóságára

A kísérletsorozatban bemutatott adatok alapján egyértelmű, hogy az SD elektromos kiválthatósági küszöbe szignifikánsan nő iszkémia hatására, ami az életkor előrehaladtával egyre kifejezettebb.

Az iszkémia hatására csökkenő SD kiválthatóság hátterében feltehetőleg a szövet felborult metabolikus állapota állhat, ezt alátámasztja, hogy magasabb elektromos töltésmennyiség volt szükséges az SD kiváltásához alacsonyabb kiindulási CBF értékek esetén.

Régóta ismert, hogy az enyhe szöveti acidózis – amely jellemző az iszkémiás penumbrára – csökkenti az SD kiválthatóságát. Az alacsonyabb pH gátolhatja az SD kialakulását az NMDA receptorok működésének gátlásával, vagy a különböző feszültségfüggő ioncsatornák (Kv, Nav, Cav) kapuzási tulajdonságainak módosításával. Ezért a kísérletsorozatban megfigyelt, iszkémia hatására csökkent SD kiválthatóság hátterében az iszkémia kiváltotta szöveti acidózis állhat. Egy további lehetséges tényező az extracelluláris térben az iszkémia hatására lassan akkumulálódó K^+ , mely hozzájárul a sejtmembrán hiperpolarizációjához, valamint repolarizációjához is, csökkentve a neuronális ingerlékenységet és potenciálisan az SD kiválthatóságát is.

Az életkor hatása az SD kiválthatóságra

Kísérletsorozatunkban fiatal patkányokban vizsgáltuk az SD kiválthatóságának változását, mely életkor a humán serdülőkornak és fiatal felnőttkornak felel meg. Elektromos stimulációt alkalmazva pontosan meghatároztuk és megerősítettük korábbi megfigyeléseinket, hogy az SD kiválthatósága csökken az életkor előrehaladtával. Megállapítottuk, hogy az SD kiválthatósági küszöbének emelkedése már serdülőkorban megkezdődhet.

Korábbi vizsgálatokban már kimutatták, hogy az SD terjedésének sebessége az életkor előrehaladtával csökken, valamint hogy egyre magasabb koncentrációjú KCl oldalt szükséges egy SD kiváltásához középkorú állatokban (*in vitro* és *in vivo*). Ezzel párhuzamosan egységnyi inger (1 M KCl oldat topikálisan) altatott középkorú állatokban jelentősen kevesebb SD-t váltott ki, mint a fiatal társaikban.

Lehetséges, hogy a neuronális hálózat strukturális változása, mely az agyszövet elektrofiziológiai tulajdonságának megváltozásához vezet, okozza az SD kiválthatóságának csökkenését fiatal felnőttkorban, mivel ebben a megváltozott struktúrában az alkalmazott inger kioltódik, mielőtt SD-t válthatna ki. Ismert még, hogy a dendrit-tüskék az agy érése és az öregedés során is átrendeződnek. Tekintettel központi szerepükre az excitatórikus szinapszisok kialakulásában, feltehetőleg fontos szerepük van az SD terjedésében is. Ezért megvizsgáltuk a dendrit tüskék sűrűségét a legfiatalabb és legidősebb állatokban. A 30 hetes állatok 3. kortikális réteg piramis sejtjeinek apikális dendrit-tüske sűrűsége szignifikánsan nagyobb volt, mint a 8 hetes állatoké, jelezve, hogy már ilyen fiatal korban és ilyen rövid idő alatt is jelentős strukturális változás következik be az életkor függvényében.

Feltételezésünk szerint az agy szövettani és biokémiai érésével vagy a neuronok közötti szinapszisok konszolidációjával nőhet az SD kiválthatósági küszöbe párhuzamosan az életkorral, bár az idegsejtek funkcionalitása és a finom szöveti változások közötti pontos kapcsolat nehezen igazolható. Továbbá ismert, hogy az agyszövet ingerlékenysége az életkor előrehaladtával csökkent, melynek háttérében az öregedéssel felszaporodó reaktív oxigén gyökök redox-szenzitív K^+ csatornákra gyakorolt hatása állhat. Ez a folyamat modulálhatja a K_v és BK csatornák oligomerekbe rendeződését, áteresztő vagy kapuzási tulajdonságát, de további SD specifikus vizsgálatok szükségesek ezen mechanizmusok feltérképezésére.

Az életkor hatása a SD kialakulására és terjedésére

Adataink alapján egyértelmű, hogy az SD-t jelölő ECoG depresszió eddig idős korban megfigyelt rövidülése már a fiatal felnőttkor végén (30 hetes állatok) jelentkezik, különösen a mély frekvenciatartományokban (delta és théta), míg időskorra (18 hónapos állatok) ez már minden frekvenciatartományt érint. Az SD-vel járó ECoG depresszió rövid időtartama keskenyebb SD hullámfrontot tükrözhet, ami azt feltételezi, hogy kisebb volumenű agyszövet érintett az SD-ben. Ezen elektrofiziológiai változásokat kiválthatják az SD kialakulásában érintett K_v , BK csatornák valamint a P/Q típusú Ca_v csatornák életkorfüggő módosulása is.

Az extracelluláris ionkoncentrációkban bekövetkező változás mellett az SD során nagy mennyiségű glutamát is felszabadul, mely az NMDA receptorok stimulálásával hozzájárul az SD kialakulásához és terjedéséhez. Kimutatták, hogy az öregedéssel az NMDA receptorhoz kötődő jelátvitel hatékonysága gyengül az életkorral emelkedő reaktív oxigéngyök szint révén. Elképzelhető, hogy az NMDA receptorok érzékenységének gyengülése is hozzájárul az SD kiválthatóságának csökkenéséhez. Fontos még megjegyezni, hogy az NMDA receptor különböző alkotóelemei közül NR2A és NR2B expressziója is csökken az öregedő agyban, melyek működését az SD-vel összefüggésbe hozták

Az SD kiválthatóságának kapcsolata neurológiai betegségekkel

Az általunk vizsgált állatok életkora (7-10 valamint 30 hét) megfelel a humán serdülőkornak, illetve fiatal felnőttkornak. Ebben a korosztályban igen gyakori a migrén kialakulása. Általánosan elfogadott az a nézet, hogy a migrénes aura neurológiai tüneteinek megfeleltethető a neuronális aktivitás SD-vel járó depressziója. Felmerült azonban, hogy az SD szerepe nem csak az aura jelenségre korlátozódik, hanem elképzelhető, hogy hozzájárul a fejfájás kialakulásához is. Az aurás migrén (migraine with aura, MA) az iszkémiás stroke egy elismert rizikófaktora, mely elsősorban fiatal, klasszikus rizikótényezők nélküli betegek szempontjából lehet lényeges. Ismert továbbá, hogy MA-ben szenvedő betegeknek nagyobb az esélyük, hogy hátsó skálai és infratentoriális vaszkuláris fehérállományi károsodásuk alakuljon ki. Ezen kívül az aurás migrénnel élő, akut stroke-on átesett betegek körében gyorsabban alakul ki a végleges infarktus mérete és nagyobb a stroke okozta mortalitás is. A migrénnel élő betegek fokozottabb érzékenysége stroke-ra összefüggésbe hozható az SD kiválthatóság fokozódásával. Fiatal felnőtteknél alacsony a klasszikus stroke rizikófaktorok jelenléte, így, bár alacsony az SD kiválthatósági küszöb, nincs megfelelő kiváltó tényező. A fiatalkori stroke leggyakoribb oka (i) a nyitott foramen ovale, (ii) kötőszöveti gyengeség és (iii) szerzett vagy öröklött hiperkoaguábilis állapotok. A MA-ben szenvedő betegek egy részében egy ilyen állapot átmeneti agyi hipoperfúziót vagy akár néma mikroinfarktuszokat okozhat, mely a fiatalkori emelkedett SD érzékenység miatt SD-t válthat ki, aurás migrént provokálva. Ezzel ellentétben öregkorban, amikor már magasabb az SD kiválthatósági küszöb, ezt ellensúlyozza a jelentős kardiovaszkuláris rizikó, az agyi vaszkulátúra atrofíája, a kollaterálisok csökkenése, valamint az egyéb társbetegségek együttes hatása, melyek összességében rontják a stroke kimenetelét. Aurás migrénes betegekben azonban megmaradhat az alacsonyabb SD kiválthatósági küszöb, növelve a másodlagos károsodás lehetőségét, rontva a stroke kimenetelét.

A SAH (főleg aneurizma ruptúrát követően) ugyan az egyik legritkább stroke altípus, de részesedése a potenciálisan elvesztett életévek számában jelentős. Ezen tényezőt figyelembe véve hasonló súlyosságú, mint az intracerebrális vérzés vagy az iszkémiás stroke. A SAH az egyik leggyakoribb stroke altípus fiatal felnőttekben, az elszenvedők körében jelentős a mortalitása, illetve a tartós rokkantság lehetősége. Az elsődleges károsodást követő napokban spontán módon új neurológiai góctünetek alakulhatnak ki új iszkémiás károsodásokkal egyetemben, melyeket kései agyi infarktusoknak (delayed cerebral infarctions, DCI) nevezünk, és jelentősen rontják a betegség kimenetelét. A DCI hátterében sokáig a proximális nagy agyi erek vazospazmusát gondolták, mely gyakrabban fordul elő fiatalabb betegekben. Azonban kimutatták, hogy SAH-ban csoportosan kialakuló SD-k inverz CBF választ válthatnak ki, mely következményes szöveti hipoxiát eredményez, és DCI-t válthat ki a proximális vazokonstriktiótól függetlenül. A jelen kísérletsorozatban kimutattuk, hogy a fiatalabb agy fogékonyabb SD-re, magyarázva a DCI gyakoriságát a fiatalabb korú SAH-os betegek esetén.

Gyermek- és serdülőkorban a korai halál, valamint a tartós rokkantság leggyakoribb oka a traumás agysérülés (traumatic brain injury, TBI), mely egyúttal a szimptomás epilepszia leggyakoribb oka is. TBI során a magas extracelluláris K^+ , a csökkent CBF, vagy a megnövekedett intrakraniális nyomás SD-t válthat ki. A TBI-on átesett betegekben legalább 7 napig alakulnak ki SD-k, amelyeket eddig az artériás középnyomás vagy a maghőmérséklet emelkedésével hozták összefüggésbe. Az elhúzódó SD-k lehetnek még a rosszabb kimenetel előjelei is, míg inverz CBF válaszok jelenléte az agyi autoreguláció sérülését és a szekunder károsodás kiterjedését jelezhetik előre. Ismert, hogy a TBI egyik prevalencia csúcsa serdülőkorban és fiatal felnőttkorban van, ugyanakkor egy tanulmány szerint TBI-t követően gyakoribb volt az SD száma ebben a korosztályban. Ezen adatok, valamint a jelen kísérletsorozat eredménye - miszerint fiatal korban könnyebben alakul ki SD - rámutatnak az SD fontosságára fiatal, TBI-on átesett betegek körében, melyre a jövőben további vizsgálatokat, illetve terápiát lehet tervezni.

Fontos azonban megjegyezni, hogy a repetitív SD-k kumulatív ideje ugyan korrelál a fokális iszkémia okozta károsodás mértékével, de ez nem feltétlenül jelenti azt, hogy a magasabb kumulatív időt a gyakoribb SD-k okozzák. Az egyes SD-k időtartama jelentősen eltérhet egymástól, így alacsonyabb frekvenciával jelentkező, de hosszan elhúzódó SD események is magas kumulatív SD-ben töltött időtartamot adnak. Korábban már bemutattuk, hogy ugyan kevesebb SD alakul ki az idősebb állatokban egységnyi stimuláció hatására, azonban az elhúzódó repolarizáció miatt ezen SD-k nagyobb károsodást okozhatnak, mint a fiatalabb

állatokban észlelt gyakoribb SD-k. Összességében kijelenthető, hogy a fiatalabb állatokban észlelt alacsonyabb SD kiválthatósági küszöb csupán az agyszövet érzékenységét jelzi, nem feltétlenül a sérülékenységet.

A prosztanoidok szerepe az SD kiváltotta agyi véráramlás változásban

A hipotézisünket - miszerint a prosztanoidoknak szerepe lehet az SD-re adott CBF válasz kialakításában - a prosztanoidok funkcionális hiperémia szabályozásában betöltött szerepére alapoztuk. Fiziológiás neurovaszkuláris csatolás során a COX-2 enzimnek központi szerepe van az értágító prosztanoidok termelődésében. A COX-2 enzim elsősorban a kortikális piramissejteken fejeződik ki, illetve a perivaszkuláris végtalpokban található meg az intraparenchimális arteriolák és kapillárisok mentén. A COX-2 által termelt vazoaktív anyagok hozzájárulnak a szomatoszenzoros stimulációt követő funkcionális hiperémiához. Ezzel ellentétben, a konstitutívan expresszálandó COX-1 enzimnek (mely ebben a kontextusban valószínűleg az asztrocitákban található) nincs egyértelműen igazolt hatása a neurovaszkuláris csatolásra.

Az SD-re adott CBF válasz elemeiből a maximális hiperémiát és a post-SD oligémiát vizsgáltuk elsősorban. Fontos leszögezni, hogy a topikális farmakológiai kezelés nem volt hatással az SD-k előtti CBF alapértékekre, így vélhetőleg nem befolyásolták a nyugalmi agyi perfúziót. Legfontosabb észrevételünk - miszerint az EP4 receptor gátlása csökkentheti a hiperémia amplitúdóját és mélyíti a post-SD oligémiát fiziológiás körülmények között - rámutat, hogy az EP4 receptor ingerlése hozzájárulhat a hiperémia kialakulásához az SD-re adott CBF válasz során. Ez egy eddig nem dokumentált mechanizmus, mivel a COX enzimek által előállított metabolitokat vazokonstriktív hatásúnak gondolták az SD kiváltotta CBF válasz esetében. Fiziológiás neurovaszkuláris csatolásban már igazolták, hogy a PGE₂ az EP4 receptort aktiválva hiperémiát válthat ki, így eredményeink alapján hozzájárulhat az SD-hez kötött CBF válasz kialakításához is.

A COX enzimek jelentős mennyiségű vazokonstriktív prosztanoidot is termelnek, ami magyarázhatja, hogy COX függő vazodilatációt SD során nem sikerült igazolni. Bár a funkcionális hiperémiában központi szerepe van a COX-2-nek, vizsgálatainkban a szelektív COX-2 gátlás nem befolyásolta az SD-re adott CBF választ, mely igazolhatja, hogy az SD-re adott CBF válasz nem a fiziológiás neurovaszkuláris csatolás egy változata.

A 2VO hatására kialakult, a penumbrára jellemző az áramlási viszonyok során olyan mértékű CBF válasz csökkenést tapasztaltunk, hogy sem a COX enzimek gátlása, sem az EP4 receptor

blokkolás nem befolyásolta azt. Iszkémia során a neurovaszkuláris csatolás sérül. Ismert továbbá, hogy akut iszkémia során számos vasoaktív metabolit szabadul fel, melyek befolyásolják az erek tónusát. Köztük a nagy mennyiségű extracelluláris K^+ erősen vazokonstriktív hatású, ami elfedheti az agyi véráramlás szabályozásának egyéb elemeit.

Konklúzió

Jelen tanulmányban kimutattuk, hogy az idegszövet fiatal felnőttkorban a legfogékonyabb SD-re, és hogy ez az érzékenység az életkor növekedésével csökken, ami a kortikális éressel és az SD hullámfront beszűkülésével is együtt jár. Ugyanakkor kimutattuk, hogy a fiziológias neurovaszkuláris csatolással ellentétben az SD-hez társuló CBF válasz nem függ közvetlenül a COX-2 termelte prosztanoidoktól., Megfigyeltük, hogy a PGE_2 -nek központi szerepe van a hiperémia kiváltásában és a post-SD oligémia mérséklésében. Az SD szerepét az aurás migrénben vizsgálataink megerősíteni látszanak, mivel a csökkent kiválthatósági küszöb fiatal korban egybeesik az aurás migrén egyik prevalencia csúcsával. Mivel az SD-t egyre jobban elfogadják, mint a másodlagos iszkémiás neuronkárosodás kiváltóját, ez magyarázhatja a fokozott stroke kockázatot migrénes betegek esetén. Ezzel párhuzamosan, mivel a SAH-nak és a TBI-nek is prevalencia csúcsai vannak a vizsgálat fiatal felnőttkorban, ezen betegek is profitálhatnak egy jövőbeli SD specifikus terápiából. További vizsgálatok, elsősorban klinikai megfigyelések, szükségesek, hogy ezen adatok humán alanyokban is megerősítést nyerjenek, valamint hogy a jövőbeli gyógyszerfejlesztések iránya meghatározhatóvá váljék.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném őszinte hálámat kifejezni témavezetőmnek, Dr. Farkas Eszternek folyamatos szakmai támogatásáért, igen széles szakmai tudásáért, valamint türelméért, amivel elviselte halogatásaimat. Köszönöm továbbá Bari Ferenc Professzor Úrnak, témavezetőmnek és korai mentoromnak, hogy még hallgató koromban csatlakozhattam kutatócsoportjához, és hogy minden döntésemben támogatott. Hálás vagyok még Ungvári Professzor Úrnak is, aki bevezetett a tudomány nemzetközi világába és akinek különleges hatása volt a világnézetem formálására.

Külön említést érdemel Kollégám, Dr. Menyhárt Ákos, akinek kiváló elméleti és kísérletes tudása nélkülözhetetlen volt közös munkánk során, de ezen kívül még szakmai elhivatottságra és alázatosságra is megtanított; valamint Dr. Stefano Tarantini, akinek rendkívül pozitív és segítőkész személyisége a nehéz időközön segített át. Továbbá köszönöm labortársaimnak és korábbi kollégáimnak: Dr. Varga Dánielnek, Dr. Noa Valcarcel-Aresnek, Dr. Zölei-Szénási

Dánielnek, Ivánkovitsné Kiss Orsolyának, Puskás Tamásnak és Dr. Makra Péternek a nagyszerű közösséget, a sikeres munkát és a felvillanyozó beszélgetésüket.

Végül, de nem utolsósorban szeretnék köszönetet mondani családomnak: édesanyámnak, aki a folyamatos, élethosszig tartó tanulásra és önfelkészítésre ösztönzött, nagymamámnak, aki családi tradíciót indított a továbbtanulás terén, valamint élettársamnak, aki elviseli munkamániámat és mindig mindenben támogat.

A tézis alapját képező tudományos közlemények:

1. Hertelendy, P., Varga, D. P., Menyhárt, Á., Bari, F., & Farkas, E.
Susceptibility of the cerebral cortex to spreading depolarization in neurological disease states: The impact of aging.
Neurochemistry International. 2018 In press. doi:10.1016/j.neuint.2018.10.010 **IF: 3.603**
2. Hertelendy, P., Menyhárt, Á., Makra, P., Süle, Z., Kiss, T., Tóth, G., Ivánkovits-Kiss, O, Bari, F, Farkas, E.
Advancing age and ischemia elevate the electric threshold to elicit spreading depolarization in the cerebral cortex of young adult rats.
J Cereb Blood Flow Metab. 2017 May;37(5):1763-1775. doi: 10.1177/0271678X16643735 **IF: 5.407**
3. Varga, D.P., 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. doi: 10.1038/srep31402. **IF: 5.525**

További tudományos közlemények:

1. Tarantini, S., Valcarcel-Ares, M.N., Toth, P., Yabluchanskiy, A., Tucsek, Z., Kiss, T., Hertelendy, P., Kinter, M., Ballabh, P., Süle, Z., Farkas, E., Baur, J.A., Sinclair, D.A., Csiszar, A., Ungvari, Z.
Nicotinamide mononucleotide (NMN) supplementation rescues cerebrovascular endothelial function and neurovascular coupling responses and improves cognitive function in aged mice.
Redox Biol. 2019 Apr 10;24:101192. doi: 10.1016/j.redox.2019.101192. [Epub ahead of print] **IF: 7.126**
2. Tarantini, S., Valcarcel-Ares, M.N., Yabluchanskiy, A., Tucsek, Z., Hertelendy, P., Kiss, T., Gautam, T., Zhang, X.A., Sonntag, W.E., de Cabo, R., Farkas, E., Elliott, M.H., Kinter, M.T., Deak, F., Ungvari, Z., Csiszar, A.
Nrf2 Deficiency Exacerbates Obesity-Induced Oxidative Stress, Neurovascular Dysfunction, Blood-Brain Barrier Disruption, Neuroinflammation, Amyloidogenic Gene Expression, and Cognitive Decline in Mice, Mimicking the Aging Phenotype.
J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2018 Jun 14;73(7):853-863. doi: 10.1093/gerona/glx177. **IF: 4.902**
3. Hertelendy, P., Toldi, J., Fülöp, F., Vécsei, L.
Ischemic Stroke and Kynurenines: Medicinal Chemistry Aspects.
Curr Med Chem. 2018;25(42):5945-5957. doi: 10.2174/0929867325666180313113411. **IF: 3.469**
4. Tarantini, S., Valcarcel-Ares, M.N., Yabluchanskiy, A., Fulop, G.A., Hertelendy, P., Gautam, T., Farkas, E., Perz, A., Rabinovitch, P.S., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z..
Treatment with the mitochondrial-targeted antioxidant peptide SS-31 rescues neurovascular coupling responses and cerebrovascular endothelial function and improves cognition in aged mice.
Ageing Cell. 2018 Apr;17(2). doi: 10.1111/ace1.12731. Epub 2018 Feb 6. **IF: 7.627**
5. Tarantini, S., Yabluchanskiy, A., Fülöp, G.A., Hertelendy, P., Valcarcel-Ares, M.N., Kiss, T., Bagwell, J.M., O'Connor, D., Farkas, E., Sorond, F., Csiszar, A., Ungvari, Z.
Pharmacologically induced impairment of neurovascular coupling responses alters gait coordination in mice.

- Geroscience.** 2017 Dec;39(5-6):601-614. doi: 10.1007/s11357-017-0003-x. Epub 2017 Dec 14. **IF: 2.900**
6. Ungvari, Z., Tarantini, S., Hertelendy, P., Valcarcel-Ares, M.N., Fülöp, G.A., Logan, S., Kiss, T., Farkas, E., Csiszar, A., Yabluchanskiy, A.
Cerebromicrovascular dysfunction predicts cognitive decline and gait abnormalities in a mouse model of whole brain irradiation-induced accelerated brain senescence.
Geroscience. 2017 Feb;39(1):33-42. doi: 10.1007/s11357-017-9964-z. Epub 2017 Feb 4. **IF: 2.900**
7. Menyhárt, Á., Makra, P., Szepes, B.É., Tóth, O.M., Hertelendy, P., Bari, F., Farkas, E.
High incidence of adverse cerebral blood flow responses to spreading depolarization in the aged ischemic rat brain.
Neurobiol Aging. 2015 Dec;36(12):3269-3277. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.014. Epub 2015 Aug 18. **IF: 5.26**
8. Tarantini, S., Hertelendy, P., Tucsek, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Smith, N., Menyhart, A., Farkas, E., Hodges, E.L., Towner, R., Deak, F., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z., Toth, P.
Pharmacologically-induced neurovascular uncoupling is associated with cognitive impairment in mice.
J Cereb Blood Flow Metab. 2015 Nov;35(11):1871-81. doi: 10.1038/jcbfm.2015.162. Epub 2015 Jul 15. **IF: 5.68**
9. Hügecz, M., Mracsó, E., Hertelendy, P., Farkas, E., Domoki, F., Bari, F.
Hydrogen supplemented air inhalation reduces changes of prooxidant enzyme and gap junction protein levels after transient global cerebral ischemia in the rat hippocampus.
Brain Res. 2011 Aug 2;1404:31-8. doi: 10.1016/j.brainres.2011.05.068. Epub 2011 Jun 12. **IF: 3.96**

A tézis alapját képző tudományos közlemények impakt faktora: 14,535

Az összes tudományos közlemény impakt faktora: 58,359