

dc_157_11

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**VÉR-AGY GÁT MODELLEK LÉTREHOZÁSA,
JELLEMZÉSE ÉS ALKALMAZÁSA
ORVOSBIOLÓGIAI KUTATÁSOKBAN**

Dr. Deli Mária Anna

Magyar Tudományos Akadémia
Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biofizikai Intézet

Szeged

2011

TARTALOMJEGYZÉK

A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI	3.
KUTATÁSI CÉLOK	6.
VIZSGÁLATI MÓDSZEREK FELSOROLÁSA	9.
KUTATÁSI CÉLOK	6.
AZ ÉRTEKEZÉS EREDMÉNYEINEK ÖSSZEFOGLALÁSA	10.
ÖSSZEGZÉS	16.
KUTATÁSI TÁMOGATÁSOK	16.
SAJÁT KÖZLEMÉNYEK	17.
TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK	24.
IRODALOMJEGYZÉK	26.
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	27.

A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI

A vér-agy gát felépítése és szerepe

Paul Ehrlich és munkatársai 1885-ben közölt anilinfestékekkel végzett kísérletei óta ismert, hogy a központi idegrendszer a szervezet többi részétől valamiféle gát elválasztja, de ennek anatómiai alapját, jelentőségét, működését csak több nemzedék kutatómunkája révén sikerült azonosítani [Liddelow, 2011]. Az idegrendszer és a vér között dinamikus határfelületet képző sejtek funkcionális egysége a vér-agy gát [Abbott és mtsai, 2002]. Az emberi agy hajszálereinek becsült hossza 600 kilométer, és az általuk létrehozott vér-agy gát felszíne mintegy 12-20 m² [Pardridge, 2002]. Ezen a felületen zajlik a vér és a központi idegrendszer között a molekulák és sejtek szigorúan szabályozott cseréje. A vér-agy gát elsődleges szerepe az idegsejtek szinapszisainak működéséhez szükséges ionos homeosztázis megteremtése [Abbott, 2002], emellett tápanyagokkal látja el a központi idegrendszert, aktív pumparendszere révén megvédi a káros anyagoktól és metabolitoktól, és lehetővé teszi az idegrendszer és periféria közötti információ-átadást [Zlokovic, 2008]. A gerincesek többségében, így az emlősökben és az emberben is a gát funkciót az endothelsejtek töltik be. Az astroglia sejtek végtalpai az agyi hajszál- és mikroereket teljes hosszukban beburkolják [Abbott, 2002]. Mindkét sejtípus kölcsönhatásban áll az endothelsejtek bazális membránjába beágyazódott pericytákkal, valamint az erek körül elhelyezkedő mikroglia sejtekkel és a mikroereket beidegző neuronokkal.

A neurovaszkuláris egység sejtei közötti kölcsönhatás kulcsfontosságú a vér-agy gát működésének létrejöttében és fenntartásában [Abbott és mtsai, 2010]. Elsőként az astroglia sejtek szerepét tárták fel az agyi endothelsejtek tulajdonságainak és működésének szabályozásában [Tao-Cheng és mtsai, 1987; Nagy és Martinez, 1991; Haseloff és mtsai, 2005; Abbott és mtsai, 2006]. A közelmúltban felvetődött, hogy más perivaszkuláris sejtek, köztük a mikroglia sejtek és pericyták is részt vehetnek a vér-agy gát kialakulásában, fenntartásában és szabályozásában [Zlokovic, 2008]. Ezek a szervspecifikus, sejtes kölcsönhatások hozzájárulnak létrehozásához az agyi endothelsejtek különleges, epithelsejtekhez hasonló tulajdonságait (1. táblázat), amelyek a többi endothelsejtől megkülönböztetik és a vér-agy gát funkció betöltésére képesek teszik őket.

1. táblázat. A vér-agy gát sajátosságok főbb csoportjai

	Alkotóelemei	Szerepe
Anatómiai gát	Szoros sejt-közötti kapcsolatok Kevés pinocitotikus vezikula Sejtfelszíni glikokalix	A vér és a központi idegrendszer közötti szabad sejt- és anyag-kicserélődés korlátozása
Transzport utak	Lipid-mediált diffúzió Karrierek Efflux pumpák Adszorptív és receptor-mediált transzendotheliális transzport	Tápanyagok, mint cukrok, aminosavak, lipidek, vitaminok, ásványi sók, metabolikus prekursorok, peptidek, fehérjék Xenobiotikumokkal szembeni védelem Metabolitok mennyiségének szabályozása
Metabolikus gát	Fázis I és II metabolikus enzimek	Bioaktív molekulákkal szembeni védelem

A vér-agy gát vizsgálatok orvosi jelentősége

Több közelmúltban megjelent, nagy jelentőségű tanulmány is felhívja a figyelmet arra, hogy a vér-agy gát, mint a neurovaszkuláris egység eleme sokkal több folyamatban vesz részt,

mint pusztán a terápiás és diagnosztikus vegyületek központi idegrendszeri bejutásának korlátozása [Zlokovic, 2008; Neuwelt és mtsai, 2008 és 2011]. Az előzőleg részletezett, idegrendszeri homeosztázist biztosító működés mellett a vér-agy gát sejteinek fontos élettani szerepe az agyi véráramlás [Peppiatt és mtsai, 2006; Iadecola és Nedergaard, 2007; Busija és mtsai, 2008], valamint a idegi fejlődés szabályozása. Az idegi és érfejlődés számos közös molekulával és sejtes mechanizmussal rendelkezik, és a neuro- és angiogenesis az embrionális és felnőtt agyban közösen szabályozódik [Neuwelt és mtsai, 2011]. A neurovaszkuláris egység sejteinek élettani folyamatai egymáshoz szorosan kapcsolódnak, így az idegsejtek aktivitása és az agyi vérátáramlás, anyagcsere, érzékszervi és trofikus folyamatok kapcsolatban állnak [Neuwelt és mtsai, 2011].

Orvosi szempontból azonban a legnagyobb jelentősége azoknak a keringési, fertőző és neurológiai betegségeknek van, ahol a vér-agy gát működése károsodik, és ez a működési zavar hozzájárul a betegségek pathológiájához.

Neurodegeneratív betegségekben, mint az Alzheimer- és Parkinson-kór, vagy az amyotrophiás lateral sclerosis a vér-agy gát működésének számos eleme sérül. A sejtek közötti szoros kapcsolatok meggyengülnek, megváltoznak az agyi endothelsejteken keresztüli transzport-folyamatok, és így a vér és az agy közötti anyag- és sejttájtás, kórossá válik az angiogenesis, agyi hipoperfúzió alakul ki, és gyulladásos válaszreakciók jönnek létre [Deli, 2005; Zlokovic, 2008]. Az Alzheimer-kór neurovaszkuláris hipotézise az amiloid peptidek vér-agy gáton keresztüli efflux pumpa (P-glikoprotein) és receptor-mediálta (LRP, RAGE) transzportjának változását, ezzel az agyi amiloid metabolizmus és transzport felborulását kulcsfontosságú tényezőnek tartja a betegség kialakulásában [Bell és Zlokovic, 2009].

Más neurológiai betegségek kialakulásában is szerepet játszanak a fenti folyamatok, így epilepsziában a görcsállapotok és a vér-agy gát sérülése gyulladásos folyamatokon keresztül kölcsönösen fokozzák egymást [Friedman és Dingledine, 2011]. A sclerosis multiplex kialakulásában és lefolyásában a vér-agy gát kulcsfontosságú a fehérvérsejtek, főként a citotoxikus T-limfociták idegrendszerbe való bejutásában, és a relapszusokat mindig fokozott vér-agy gát permeabilitás előzi meg [Zlokovic, 2008]. Az agyi érkatasztrófák a felnőttkori halálozás leggyakoribb okai között szerepelnek, és a felnőttkori rokkantság első számú okozói [Ovbiagele és Nguyen-Huynh, 2011]. Az akut ischaemiás stroke, és az intracerebrális vérzések, valamint a traumás agyi sérülések kialakulásának számos közös eleme van: mindegyikben létrejön a vér-agy gát sérülése és az agyödéma, amelyek mögött oxidatív stressz, gyulladás, excitotoxicitás és sejtpusztulás áll [Sangha és Gonzales, 2011].

Az emberi mikrobiális patogének közül számos okoz idegrendszeri fertőzést, amelyek jelentős morbiditással és mortalitással járnak. A fertőzés létrejöttének egyik alapvető lépése, hogy a kórokozók átjussanak az idegrendszert védő barriereken. Eközben nemcsak kapcsolatba lépnek az agyi endothelsejtekkel, felhasználva azok sejtfelszíni molekuláit a kitapadáshoz és átjutáshoz, de különböző fokú vér-agy gát károsodást is okoznak, amely a betegség lefolyását befolyásolja.

A vírusok, baktériumok, gombák és protozoonok, valamint azok toxinjai vagy alkotói, mint a bakteriális lipopoliszacharidok és a HIV fehérjék az endothelsejtekkel közvetlen kapcsolatba lépnek, beindítják a gyulladásos és véralvadási folyamatokat, megváltoztatják a sejtmembránt és a sejtközötti kapcsolatokat, így elősegítik a mikroorganizmusok kitapadását a sejtfelszínre, be- illetve átjutását a sejten, miközben károsítják a vér-agy gát működését [Kim, 2008; Elsheikha és Khan, 2010]. A kórokozók közvetlenül vagy az őket hordozó fertőzött fagocitákkal együtt — ez az úgy nevezett trójai faló mechanizmus — a sejten keresztül vagy a sejtek között, paracellulárisan jutnak át a vér-agy gáton. Jóllehet az utóbbi években jelentős előrelépés történt a kórokozók és vér-agy gát kölcsönhatásának megértésében, a folyamatok

molekuláris hátterének jobb megismerése előfeltétele a központi idegrendszeri fertőzések megelőzésének és kezelésének.

Nem csak a fentebb említett betegségek kialakulásában, de gyógyításában is döntő szerepe van a vér-agy gát működésének több szempontból is. Egyrészt az utóbbi években nagyobb teret nyert a neurovaszkuláris egység sejtjeit átfogóan kezelő szemlélet, és ezzel több betegségben a vér-agy gátat, mint új lehetséges terápiás célpontot azonosították [Abbott és mtsai, 2010; Zlokovic, 2008].

Másrészt a vér-agy idegrendszert védő funkciói, a gátolt paracelluláris transzportút és az agyi endothelsejtek aktív efflux pumpái (3. ábra) azok a fő tényezők, amik a xenobiotikumok mellett a farmakonokat is, mint a daganatok, vagy az epilepszia kezelésében használt szerek nagy hányadát, vagy az AIDS terápiájában alkalmazott antiretrovirális szereket távol tartja a központi idegrendszertől [Deli, 2011]. A központi idegrendszerbe történő gyógyszerbejuttatás komoly kihívás mind klinikai szempontból, mind a gyógyszerfejlesztés és formulálás szempontjából. Három alapvető stratégia áll rendelkezésre: (i) a beinni kívánt farmakon módosítása, (ii) a vér-agy gát működésének megváltoztatása, és (iii) a vér-agy gát megkerülése.

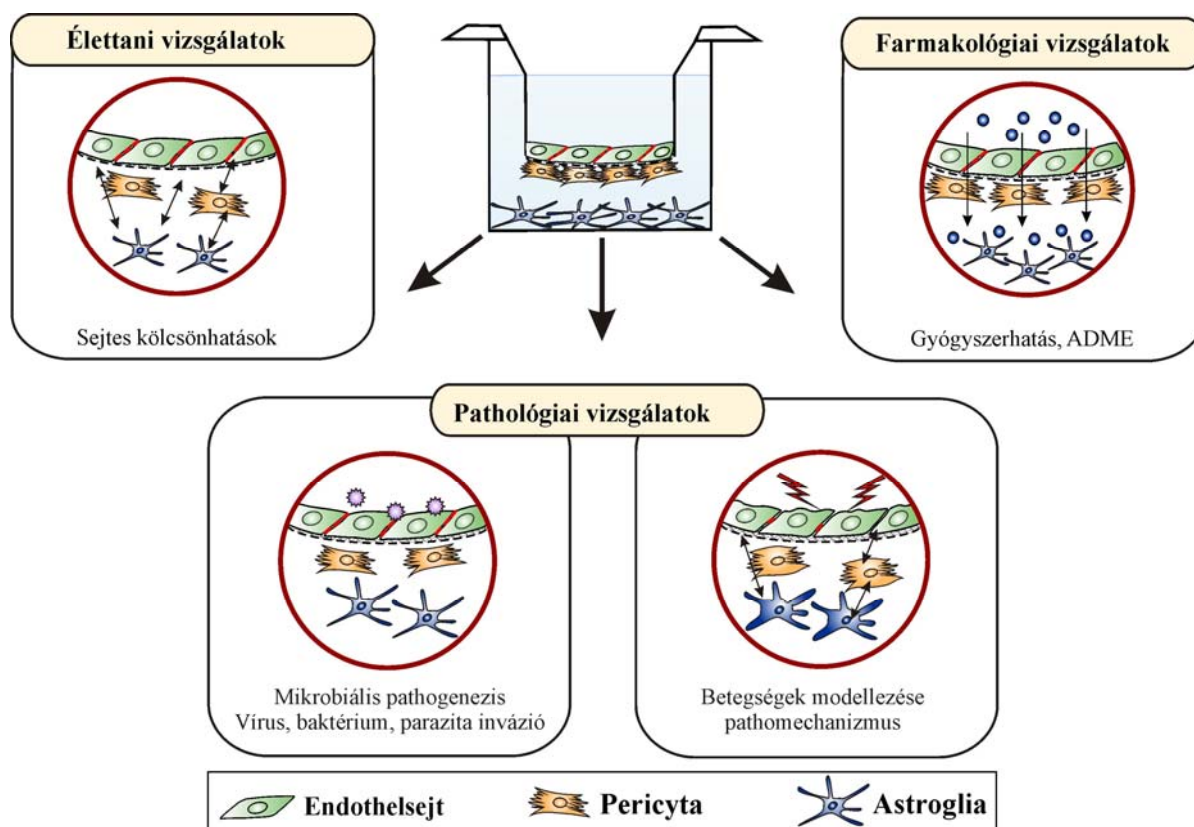
A vér-agy gát modellezése

Mind a vér-agy gát szerepének, sajátosságainak feltárásához élettani és kórtani körülmények között, mind a központi idegrendszeri támadáspontú hatóanyagok agyba való bejutásának becsléséhez szükség van vizsgálómódszerekre és modell rendszerekre. Egy molekula vér-agy gát permeabilitásának megállapítása különösképpen a gyógyszerfejlesztés preklinikai fázisában fontos, és ehhez *in silico*, *in vitro* és *in vivo* modellek egyaránt használatosak [Vastag és Keserű, 2009].

Igazi áttörést jelentett a vér-agy gát kutatásban az első *in vitro* modell, az agyból izolált mikroér preparátumok használata, amely lehetővé tette az agyi endothelsejtek receptorainak, transzportereinek, hírvivő rendszereinek feltárását. Joó Ferenc és munkatársai úttörő szerepet játszottak a modell kifejlesztésében és alkalmazásában [Joó és Karnushina, 1973; Joó, 1985 és 1993].

A tenyésztési modellek széleskörű alkalmazást nyertek az orvosi biológiai kutatásokban a vér-agy gát élettani, patológiai és farmakológiai vizsgálataiban. A porózus membránú sejtenyésztió betétek alkalmazásával létrehozott két és háromsejtes modellek hasznos eszközei az alap kutatásnak. A vér-agy gát élettani működésének vizsgálatában hozzájárulnak a neurovaszkuláris egység sejtjei közötti kölcsönhatás feltárásához, az agyi endothelsejtek és különböző gliasejtek, pericyták, idegsejtek, és fehérvérsejtek kommunikációjának megismeréséhez (1. ábra). Emellett segítenek felderíteni, hogy egyéb fiziológiai faktorok, mint a szérumszfehérjék, hormonok, növekedési faktorok, bazális membránfehérjék hogyan hatnak az agyi endothelsejtek működésére [Deli és mtsai, 2005].

Egy másik alkalmazási terület a vér-agy gát károsodás mechanizmusának feltárása különböző betegségekben, illetve a patogenetikus szerepet játszó tényezők vizsgálata, és védőhatást kifejtő farmakonok, molekulák tesztelése. A tenyésztési modellek a vér-agy gát mikrobiális inváziójának kutatásában is új lehetőséget teremtenek. Ezek a modellek alkalmasak gyógyszerhatás és transzport vizsgálatokra is [Veszélka és mtsai, 2011].



1. ábra. Agyi endothelsejtek tenyésztésével létrehozott vér-agy gát modellek alkalmazási lehetőségei orvosi biológiai kutatásokban. ADME, adszorpció, disztribúció, metabolizmus, excretio.

KUTATÁSI CÉLOK

Annak felismerése, hogy a vér-agy gát nem pusztán egy ereket bélelő passzív sejtréteg, amin a molekulák és sejtek átjutása zajlik a keringés és a központi idegrendszer között, hanem több sejttípus kölcsönhatása révén kialakuló és működő, számos feladatot ellátó dinamikus rendszer, megváltoztatta a vér-agy gát élettani körülmények között és különböző betegségekben játszott lehetséges szerepéről alkotott nézetet [Neuwelt és mtsai, 2011]. Jelentős nézetformáló felismerés volt az is, hogy a vér-agy gát része a neurovaszkuláris egységnek (10. ábra) [Abbott és mtsai, 2006], a kiterjesztett neurovaszkuláris egység pedig magában foglalja a vér-agy gát endothelsejtjeivel kapcsolatba lépő keringő sejteket, a lymphocytákat, a monocytákat és a polymorphonuclear leukocytákat is [Neuwelt és mtsai, 2011].

Ezek alapján nemcsak az ideg- és gliasejteknek, hanem a neurovascularis egység többi sejtjének, az agyi endothelsejteknek és pericytáknak a vizsgálata is indokolt a központi idegrendszer betegségeiben. A fentiek tükrében az alábbi fő kutatási célokat tűztem ki:

2.1. A vér-agy gát modellezése sejtenyészetekkel

Kutatásaink kezdetén mintegy húsz évvel ezelőtt az agyi endothelsejtek tenyésztését rutinszerűen nagyon kevés kutató-laboratóriumban végezték. Főként endothel egysejtrégeket használtak, és csak a gliasejtekről igazolták, hogy egyes vér-agy gát sajátosságokat indukálni tudnak [Tao-Cheng és mtsai, 1987; Dehouck és mtsai, 1990; Kása és mtsai, 1991]. A Joó Ferenc professzor által vezetett kutatólaboratóriumban, amelyhez 1990-ben csatlakoztam, ekkor nem folyt sejtenyésztés, így a módszer beállítását kaptam feladatnak. Célunk az volt, hogy

- I. Különböző fajokból, elsősorban kísérleti patkány, egér, és újszülött sertés agyból mikroér frakciót izoláljunk, primer endothelsejt tenyészeteket készítsünk, az endothelsejt tenyészetek tisztaságát fokozzuk, a tenyésztési körülményeket optimalizáljuk, a sejtrétegeket jellemezzük.
- II. Később komplexebb, az *in situ* anatómiai helyzetet jobban utánozó két és három sejtípusból álló vér-agy gát modelleket kívántunk létrehozni agyi microvasculáris endothelsejtek, pericyták, valamint gliasejtek primer tenyészeiből, azért hogy a modellek tenyésztési körülményeit beállítsuk és jellemezzük az endothelsejtek tulajdonságait és működését. Megvizsgáltuk az agyi mikroér pericyták hatását primer agyi endothelsejtek vér-agy gát sajátosságaira a sejtek együtt tenyésztésének segítségével patkány, majom és humán modellen is.

2.2. A vér-agy gát károsodásának és védelmének vizsgálata modellek segítségével

A neurovaszkuláris egység szemléletének térnyerésével a vér-agy gát szerkezetének és működésének károsodását növekvő számban vizsgálják és írják le idegrendszeri és szisztémás betegségekben. Ezekben a kórállapotokban a barrier funkció romlásával, és a szállítófehérjék aktivitásának csökkenésével sérül az agyi endothelsejtek idegrendszeri tápláló és védő működése. A vér-agy gát áteresztőképességének megnövekedése másodlagos neuronpusztuláshoz és a betegségek súlyosbodásához vezet. Mindezek alapján a vér-agy gátat alkotó agyi endothelsejtek védelme, mint új lehetséges terápiás célpont egyre elfogadottabbá válik [Neuwelt és mtsai, 2008, 2011]. Kísérleteink során fontosnak tartottuk az idegrendszeri kórállapotokban szerepet játszó tényezők károsító hatásának vizsgálatát az agyi mikroerek sejtjein. Mivel a vér-agy gát működésének károsodása hozzájárul az idegsejtpusztuláshoz, az endothelsejtekre védő hatást kifejtő hatóanyagok keresése is céljaink közt szerepelt.

2.2.1. Mikrobiális pathogének vizsgálata

- III. A mikrobiális pathogének és azok alkotói közül a sepsisben kulcsfontosságú bakteriális lipopoliszacharidok hatását kívántuk vizsgálni a vér-agy gát permeabilitására *in vivo* és *in vitro* modellen. Szerettük volna megállapítani, hogy a szérum amiloid P komponens (SAP) és a pentozán rendelkezik-e védő hatással agyi endothelsejteken.
- IV. Az újszülöttkori sepsisek és bakteriális meningitisek egyik pathogenetikus faktora a tumor nekrozis faktor- α (TNF- α), aminek vér-agy gát permeabilitásra kifejtett hatását tanulmányoztuk újszülött sertéseken. Ugyanezen a modellen megvizsgáltuk, hogy a szerin proteáz gátlás befolyásolja-e a TNF- α kiváltotta vér-agy gát működési változásokat.
- V. A HIV-1 vírus idegrendszerbe való bejutása során az agyi endothelsejtekkel való kölcsönhatásában a burokfehérjék is részt vesznek. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a Tat fehérje milyen hatást fejt ki az agyi endothelsejtek barrier funkcióját szabályozó szoros kapcsolatokra és azok fehérjéire.
- VI. Agyi endothelsejteken megvizsgáltuk, hogy a *Toxoplasma gondii* vér-agy gáton való átjutásában a szervezet milyen molekulái és sejtjei vesznek részt

2.2.2. Agyi ischemia kóroki tényezőinek vizsgálata

- VII. Feltételezve, hogy a szuperoxid-dizmutáz (SOD) enzim magasabb szintje védőhatást fejthet ki oxidatív stresszben, vad típusú és SOD transzgént expresszáló egerekből tenyésztett agyi endothelsejteken teszteltük a szuperoxid hatását a sejtrétegek elektromos ellenállására.

- VIII. Agyi ischemia és stroke során drámaian megnő a glutaminsav szintje. Megvizsgáltuk, hogy a glutamát milyen hatást fejt ki tenyésztett agyi endothelsejtek barrier funkciójára, és ezt milyen receptorok közvetítik.
- IX. Felmerült, hogy az exogén szöveti plazminogén aktivátor (tPA) nem csak proteolitikus hatást fejt ki a központi idegrendszerben, ezért agyi endothelsejtekben tanulmányoztuk, hogyan befolyásolja a P-glikoprotein efflux pumpa működését.
- X. A hisztamin az agyödema egyik mediátora. A tamoxifén-származék *N,N*-dietil-2-(4-(fenilmetil)fenoxi)etánamin (DPPE) gátolni tudja a hisztamin intracelluláris hatásait. Arra voltunk kíváncsiak, hogy van-e a DPPE-nek önálló hatása a vér-agy gát áteresztőképességére, illetve ki tudja-e védeni a DPPE az agyi ischaemia-reperfusio vér-agy gátra kifejtett hatását patkányokban a 4 ér lekötéses modellen. A DPPE agyi endothelsejtek barrier funkciójára kifejtett hatását tenyésztéses vér-agy gát modellen is megvizsgáltuk.
- XI. A magasvérnyomás-betegség hajlamosító tényező mind a stroke, mind a vascularis dementia kialakulásában. Stroke-ra hajlamos spontán magasvérnyomású (SHRSP) patkányokon megvizsgáltuk, vajon milyen időbeli és regionális változás jön létre tranziens előagyi ischaemiát követően a vér-agy gát permeabilitásában.
- XII. A sztatinok a szérumban LDL koleszterin szintjének csökkentésén túlmenően pleiotrop hatást fejtenek ki. A sztatinok kiváltotta neuroprotektiót összefüggésbe hozták a vér-agy gát működésének befolyásolásával is. Célunk az volt, hogy leteszteljük, a pitavasztatin hogyan hat az agyi endothelsejtek gát működésére.
- XIII. A prekondicionálás védőhatású ischaemiás stroke-ban, ami nem csak az idegsejteket, hanem a vér-agy gátat is érintheti. Agyi endothel- és gliasejtek együtt tenyésztésével feltártuk a prekondicionálás hatását és azt is, hogy melyik sejttípus hogyan vesz benne részt.

2.2.3. Neurodegeneratív betegségekben szerepet játszó kóros fehérjék vizsgálata

- XIV. Mivel nem volt rá irodalmi adat, elsőként azt kívántuk megvizsgálni, hogy van-e közvetlen hatása a humán prion fehérje hidrofób, fibrillogén 106-126-os peptid szakaszának (Prp 106-126) agyi endothelsejtek életképességére, és ez a hatás függ-e a Prp gén kifejeződésétől. Mivel korábbi adatok utaltak arra, hogy az erősen negatív töltésű, heparinhoz hasonló szerkezetű, a sűrűlőkör profilaxisában hatásos szulfatált poliszacharid, a pentozán nem megy át mérhető mennyiségben agyi endothelsejteken, a molekula a vér-agy gáton fejtheti ki védőhatását. Ezt a hipotézisünket is leteszteltük a vér-agy gát tenyésztéses modelljén.
- XV. Az Alzheimer-kór kialakulásában mind a csonkolt tau fehérje, mind a β -amiloid peptidek pathogenetikus szerepét feltételezik, ezért megvizsgáltuk, hogy van-e közvetlen hatásuk agyi endothelsejtek életképességére, barrier funkciójára és egyéb működésére. A pentozán védő szerepét is tanulmányoztuk β -amiloid peptiddel kezelt endothelsejteken. Legújabb kísérleteinkben a dokozahexaénsav (DHA) protektív hatását teszteltük tenyésztéses modellen.

2.3. Új módszerek agyba való gyógyszerbejuttatás elősegítésére

A vér-agy gát sajátosságai, az agyi endothelsejtek közötti szoros kapcsolatok, a vér felé irányuló efflux pumpák, és a metabolikus gát együtt megakadályozzák a lehetséges idegrendszeri hatóanyagok döntő többségének agyba való bejutását [Deli, 2009 és 2010]. Mivel a központi idegrendszeri támadáspontú gyógyszerjelöltek agyba való bejuttatása alapfeltétele a hatásosságuknak, nagy az igény mind az alap, mind az alkalmazott kutatás

szintjén a vér-agy gáton való átjutás megállapítására szolgáló modellekre, valamint olyan új módszerekre, amelyek elősegítik hatóanyagok agyba való bevitelét.

XVI. Az általunk kifejlesztett három sejttípusból álló vér-agy gát modellen tanulmányoztuk hatóanyagok agyba való bejuttatásának becslését, és az eredményeket *in vivo* mérésekkel validáltuk. *In vitro* vér-agy gát modelleken olyan szerek hatását kívántuk megvizsgálni, amelyek reverzibilisen megnyitják az agyi endothelsejtek szoros zárókapcsolatait és így elősegíthetik terápiás szerek bejutását a központi idegrendszerbe.

XVII. Gyógyszerek, biofarmakonok agyba való bejuttatásának egyik lehetséges stratégiája a vér-agy gát megkerülése alternatív beviteli módokkal. Az egyik ilyen lehetőség a nazális út, amely a szaglóhámon át és a szaglóidegkötegek mentén közvetlenül a központi idegrendszerbe jelent bejutási kaput. Vizsgálni kívántuk a patkány szaglóhám szerkezetét és tulajdonságait a sejtek közötti kapcsolatokat alkotó fehérjék immunhisztokémiai jelölésével, és elektronmikroszkópos megfigyelésével, valamint az elektrondenz lantán diffúziójának nyomon követésével. Tanulmányoztuk intranazális beadás után a dextrán és az amiloid- β 1-42 peptid bejutását patkány agyrégiókba.

VIZSGÁLATI MÓDSZEREK FELSOROLÁSA

Anyagok

Peptidek szintézise

Sejttenyésztés

Agyi endothelsejtek, gliasejtek és pericyták tenyésztése

Több sejttípus együttes tenyésztésével létrehozott vér-agy gát modellek

Permeabilitási, biokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatok sejttenyészeteken

Tenyészetek kezelése

Transzendoteliális elektromos ellenállás mérése

Permeabilitás vizsgálata

Folyékony fázisú endocitózis

Toxicitási vizsgálatok

MTT teszt

Laktát-dehidrogenáz felszabadulás meghatározása

Valós idejű sejtanalízis

Efflux pumpa vizsgálatok

Pgp aktivitás mérés

MRP-1 aktivitás mérés

Reaktív szabad oxigéngyökök és nitrogén-monoxid mérése

Intracelluláris cAMP mérés

Anti-humán A β 1-42 titer meghatározása ELISA módszerrel

Western blot

Génexpressziós mintázat vizsgálata

Morfológiai vizsgálatok

Sejtmagok fluoreszcens festése

Metszetek fluoreszcens mikroszkópiája

Immunfestések

Sejttenyészeteken

Metszeteken

Elektronmikroszkópia
Tenyésztett sejteken
Szöveteken
Atomerő-mikroszkópia

Állatkísérletek

Bakteriális lipopoliszacharidok hatása egéren
TNF- α hatása újszülött sertésen
DPPE hatása kontroll és 4 ér occlusión átesett hím patkányon
Vér-agy gát permeabilitás hatása előagyi ischaemián átesett magas vérnyomásos patkányon
A szaglőrendszer permeabilitása patkányokban
Nazális gyógyszerformulák vizsgálata patkányokon
Amiloid- β 1-42 peptid intranazális agyi bejuttatása patkányon

Permeabilitási együtthatók számolása

Statisztikai kiértékelés

AZ ÉRTEKEZÉS EREDMÉNYEINEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Az alábbiakban összefoglalom a kitűzött kutatási célok megvalósítása során a témakörökben bemutatott új eredményeket:

A vér-agy gát modellezése sejtenyészetekkel

I. Primer agyi endothelsejt-tenyészetek előállítása és jellemzése, a tenyésztési körülmények optimalizálása

Patkány és sertés agy mikroér endothelsejtek tenyésztési körülményeinek beállítása

A különböző technikák összevetésével az alábbi lépéseket találtuk kulcsfontosságúnak az agyi endothelsejt-tenyészetek optimalizálásában:

- (i) Az állatok kora 2-3 hét körül megfelelő, idősebb állatokból készített tenyészetekben megnő a pericyták száma.
- (ii) Az agyhártyák, a plexus chorioideusok és nagyobb erek gondos eltávolítása az agyszövetből növeli az endothel-tenyészetek tisztaságát.
- (iii) Az enzimes emésztések időtartamának 1,5 + 1 óra az ideális; a rövidebb emésztési időknél több a szennyező sejt, a hosszabb emésztésnél egyedi endothelsejteket nyerünk, amelyek nem tapadnak le és nem nőnek megfelelően.
- (iv) A komplement-mediálta sejtlyízisre a legalkalmasabb időpont a sejtek izolálása után 2-3 nappal van, ha hamarabb kerül rá sor, a komplement az endothelsejteket is károsítja, míg későbbi időpontban a pericyták nem távolíthatóak el teljesen.
- (v) A tápfolyadékban szérumként FBS helyett PDGF-mentes PDS, és kiegészítőként FGF-2 növekedési faktor használata segíti az endothelsejtek gyors növekedését [Szabó és mtsai, 1997].

Patkány primer agyi endothelsejtek és immortalizált sejtvonalak összehasonlítása: vazóaktív molekulák termelése

Adataink alátámasztják, hogy a primer agyi endothelsejt tenyészetek sajátosságai közelebb állnak az *in vivo* endothelium tulajdonságaihoz, mint az immortalizált sejtvonalakéi.

Agyi endothelsejt-tenyészetek tisztaságának fokozása P-glikoprotein szubsztrátokkal történő kezeléssel, egy új módszer kidolgozása, és hatása a vér-agy gát sajátosságokra

Az agyi endothelsejt-tenyészetek tisztítására egy új módszert dolgoztunk ki. Kimutattuk, hogy a puromicinnel kezelt agyi endothelsejt rétegek elektromos ellenállása magasabb, és az általunk korábban már leírt cAMP kezelésre, valamint gliasejtek együttes tenyésztésének hatására nagyobb ellenállás növekedést mutattak.

Elsőként mutattuk ki, hogy a hidrokortizon hormon, a gliasejtek hatása, és a cAMP kezelés egymástól függetlenül képes az agyi endothelsejt rétegek szorosságát fokozni, és a legjobb hatást a három kezelés együttes alkalmazásával lehet elérni (26. ábra) [Perrière és mtsai, 2007].

Ezek az eredmények azt igazolják, hogy az agyi endothelsejtek megfelelő tenyésztési körülmények között az agyi mikroerekben láthatóhoz hasonló érett fenotípust mutatnak. [Perrière és mtsai, 2007].

Az általunk leírt új módszer — a primer agyi endothelsejtek tisztaságának növelése puromicines kezeléssel — széleskörű alkalmazást nyert a leírása óta, és hatásosságát több független laboratóriumban, és más fajokból izolált agyi endothelsejteken is sikerült igazolni [Weidenfeller és mtsai, 2005; Hartmann és mtsai, 2007].

II. Agyi mikroér pericyták hatása tenyésztett agyi endothelsejtek vér-agy gát sajátosságaira, és felhasználásuk egy új, három sejtípusból álló tenyésztéses vér-agy gát modellhez

Patkány három sejtípusból álló tenyésztéses vér-agy gát modell

Agyi endothelsejtek, astrogliasejtek, és pericyták primer tenészeteit (29. ábra) felhasználva kettős és hármas *in vitro* tenyészetes modelleket hoztunk létre és vizsgáltunk meg szisztematikus módon [Nakagawa és mtsai, 2007].

Megállapítottuk, hogy a pericyták (EP0 és EOP) is képesek fokozni az agyi endothelsejtek közötti kapcsolatok szorosságát, növelni a barrier funkciót, csökkenteni a sejtrétegek áteresztőképességét.

Az általunk vizsgált EPA modell az első anatómiai viszonyokat utánozó színgén, azaz genetikailag azonos agyi endothel, pericyta és glia sejtek primer tenészeteiből álló vér-agy gát modell.

Eredményeink azt is igazolják, hogy a sejtek közötti kölcsönhatás milyen alapvető fontosságú az agyi endothelsejtek vér-agy gát tulajdonságainak kiváltásában és fenntartásában. A glia és pericyta sejtek nélkül növesztett endothelsejtrétegek szorossága volt a legalacsonyabb, ami azt jelzi, hogy sejtes kölcsönhatás nélkül tenyészetben elvesznek a vér-agy gát sajátosságok [Nakagawa és mtsai, 2007].

Majom három sejtípusból álló tenyésztéses vér-agy gát modell

Sikerült majom (*Macaca irus*) és humán agyi endothelsejteken is igazolni a pericyták vér-agy gát sajátosságokat indukáló hatását.

Humán három sejtípusból álló tenyésztési vér-agy gát modell

Az új hármass patkány, majom és humán vér-agy gát (EPA) modellek előállításánál három olyan technikát ötvöztünk, amelyek hozzájárultak az agyi endothelsejtek tenyésztésének fejlődéséhez.

(i) A puromicines agyi endothelsejt tisztítási módszerünk nem csak homogénebb tenyészetek előállítását teszi lehetővé, de valószínű, hogy a vér-agy gát tulajdonságokat leginkább mutató agyi hajszálerek endothelsejtjeit szelektálását, ezzel a szorosabb és jobb vér-agy gát modell létrehozását is segíti.

(ii) A glükokortikoid receptor agonisták alkalmazása.

(iii) Az *in vivo* anatómiai helyzetnek megfelelően pericytákat is tartalmazó hármass modelleket mi alkalmaztunk elsőként a szakterületen

Az új hármass patkány, majom és humán vér-agy gát (EPA) modell ipari célú felhasználását nemzetközi szabadalommal védjük [Niwa és mtsai, 2007].

A vér-agy gát károsodásának és védelmének vizsgálata modellek segítségével**Mikrobiális patogének vizsgálata****III. A bakteriális lipopoliszacharidok hatása a vér-agy gát permeabilitására *in vivo* és *in vitro******In vivo* kísérlet**

Elsőként mutattuk ki, hogy a SAP kezelés szignifikánsan csökkentette a fluoreszcein és az albumin átjutását a vér-agy gáton, valamint az endotoxaemia tüneteit LPS kezelt egerekben. A védőhatáshoz hozzájárulhatott a keringő LPS megkötése, illetve a SAP komplement kaskádra, vagy az agyi endothelsejtekre kifejtett hatása.

***In vitro* kísérletek**

Vér-agy gát modellünkön kimutattuk, hogy az agyi endothel-egysejtrétegek integritását az LPS kezelés közvetlenül károsítja; a sejtrétegek elektromos ellenállását csökkenti, áteresztőképességét növeli. Ezzel párhuzamosan az endothelsejtek kapcsoló fehérjéinek immunfestése is megváltozott. Elsőként írtuk le, hogy (i) a barrier funkció romlása mellett az elsődleges efflux pumpa P-glikoprotein aktivitása is csökkent. (ii) Az agyi endothelsejtek LPS hatására fokozott mértékben termeltek nitrogén-monoxidot és szabadgyököket, ami hozzájárulhat az endotoxin pathomechanizmusához. (iii) A pentozán kivédte az LPS károsító hatásait mind a sejtek morfológiájára, mind működésére nézve.

IV. A tumor nekrosis faktor- α hatása a vér-agy gát permeabilitására

Adataink alapján feltételezhető, hogy (i) az újszülöttkori súlyos infekciókban vér-agy gát megnyílás és következményes vazogén agyödéma alakulhat ki, aminek egyik mediátora a TNF- α , (ii) a szerin proteázok, mint például a matrix metalloproteinázok, szerepet játszanak a vér-agy gát patológiás megnyílásában és gátlásuk terápiás hatású lehet.

V. HIV-1 Tat burokfehérje hatása agyi endothelsejtek kapcsolófehérjéire

Sikerült elsőként igazolnunk, hogy a HIV-1 vírus Tat fehérjéje specifikusan hat agyi endothelsejtekben a kladin-1, kladin-5 és ZO-2 fehérjék kifejeződésére és megoszlására. Feltártuk, hogy a VEGFR-2 aktiválás, és legalább három jelátviteli út vesz részt a kladin-5, az agyi

endothelsejtek legfontosabb kapcsolófehérjéjének csökkenésében. Ezek a változások hozzájárulhatnak a vér-agy gát permeabilitásának megnövekedéséhez, és a HIV vírus bejutásához a központi idegrendszerbe.

VI. *Toxoplasma gondii* átjutásának vizsgálata *in vitro* vér-agy gát modellen

Az adatok alapján igazoltuk, hogy a CD11b expresszáló antigén-prezentáló monocyták és dendritikus sejtek vehetnek részt a *T. gondii* parazita vér-agy gáton keresztüli intracelluláris, Trójai faló típusú átjutásában és neuroinváziójában [Lachenmaier és mtsai, 2011].

Agyi ischemia kóroki tényezőinek vizsgálata

VII. Szabad oxigénygyökök hatása tenyésztett agyi endothel-egysejtrétegek ellenállására

Elsőként írtuk le, hogy agyi endothelsejteken a szabad oxigénygyökök károsítják a vér-agy gát barrier funkciót. Adataink alapján a vér-agy gátat a hidroxil és peroxinitrit gyökök a szuperoxidnál nagyobb hatást fejthetnek ki.

VIII. Glutaminsav hatása agyi endothelsejtek okkludin fehérje szintjére és barrier funkciójára

Eredményeink alapján a glutaminsav a szoros kapcsolatokban található okkludin fehérje gyors redistribúcióját, majd expressziójának markáns csökkenését hozza létre az ioncsatorna formáló glutamát receptorokon keresztül. Az NMDA receptor az okkludin hiperfoszforilációját és az endothelsejtek barrier funkciójának csökkenését mediálja.

IX. Szöveti plazminogén aktivátor hatása agyi endothelsejtek P-glikoprotein efflux pumpájának működésére

Elsőként figyeltük meg a tPA P-glikoprotein működést befolyásoló hatását a vér-agy gátat alkotó agyi endothelsejteken. Ezek az eredmények felvetik a tPA nem enzimátikus hatását a vér-agy gát működésére, ami az ischaemiás stroke haemorrhagiás konverziójának kialakulásához hozzájárulhat.

X. Agyi ischaemia és reperfusio vér-agy gátra kifejtett hatása, és annak befolyásolása 4 ér lekötéses modellen patkányokban

Megállapítottuk, hogy a sejten belüli hisztamin kötőhely antagonistá DPPE nem védte ki az ischaemia-reperfusio vér-agy gát permeabilitást fokozó hatását, sőt, önállóan is dózis- és időfüggő módon, a hisztaminhoz hasonlóan fokozta a jelzőanyagok átjutását az agyi ereken patkányokban.

XI. Átmeneti előagyi ischaemia hatása a vér-agy gát permeabilitására stroke-ra hajlamos spontán magasvérnyomású patkányokon

Eredményeink alapján a korai és fokozott vér-agy gát permeabilitás, a szérumfehérjék extravázációja hozzájárulhat az idegsejtpusztuláshoz és a hipertenzív encephalopathia kialakulásához SHRSP állatokban.

XII. A pitavasztatin hatása primer agyi endothelsejtek vér-agy gát működésére

Eredményeink alapján a pitavasztatin a klinikailag releváns szérumkoncentrációval egyező dózisban a vér-agy gát tenyésztéses modelljén fokozza a paracelluláris gát szorosságát. Ez a hatás részben a mevalonát útvonal gátlásán keresztül történik, az endothelsejtek közötti kapcsolatokban található klaudin-5 fehérje expressziójának fokozásával.

XIII. A gliasejtek szerepe a vér-agy gát prekondicionálás által létrehozott védelmében

Ezek az állatkísérletes és tenyésztési modelleken nyert adatok megerősítik, hogy a vér-agy gát közvetlenül célpontja lehet az ischaemiás prekondicionálásnak, és elsőként tárták fel, hogy az astrocyták az ischaemiás prekondicionálás által kiváltott védőhatásában döntő szerepet játszanak.

Neurodegeneratív betegségekben szerepet játszó kóros fehérjék vizsgálata

XIV. A prion peptid hatása agyi endothelsejtekre

Elsőként mutattuk ki primer egér agyi endothelsejteken, a sejtés prionfehérje expresszióját és a PrP106-126 peptid dózis-függő, közvetlen toxikus hatását, amit pentozánnal gátolni lehetett. Adataink alapján az agyi endothelium a prion betegségekben közvetlenül is károsodhat.

Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a PrP106-126 peptid a vér-agy gát működéseket is károsítja agyi endothelsejteken és a pentozán a permeabilitás fokozódást és az efflux transzportereket gátló hatást is kivédte.

XV. A β -amiloid peptidek és a csonkolt tau fehérje hatása agyi endothelsejtekre

Védőhatású molekulák tesztelése A β peptidek okozta károsodásra *in vitro* vér-agy gát modellen

Pentozán

Patkány agyi endothelsejteken megerősítettük az A β 1-42 peptid közvetlen károsító hatását. Elsőként írtuk le, hogy az A β aggregátumokat stabilizáló SAP fokozza, a pentozán pedig kivédi az A β peptid barrier integritást csökkentő hatását. Atomerő mikroszkópiás vizsgálatokkal igazoltuk a pentozán közvetlen hatását az A β aggregátumok méretére, számára és kitapadására

Adataink alátámasztják azt a hipotézist, hogy neurodegeneratív betegségekben az endothelsejtek közvetlen célpontjai a kórfolyamatban szerepet játszó faktoroknak, mint az amiloid típusú peptidek. Sikerült elsőként kimutatnunk, hogy a pentozán a peptidek agyi endothelsejtekre kifejtett károsító hatását kivédte. A perifériásan beadott pentozán nem jut át a vér-agy gáton, így a prion betegségekben megfigyelt hatása az agyi endothelsejteken keresztül valósulhat meg. A pentozán a klinikumban is használt gyógyszer (SP54) heveny érelzáródás, szubakut vagy ismétlődő visszérgyulladás kezelésére. Megfigyeléseink felvethetik a hatóanyag új indikációban történő alkalmazását.

Dokozahexaénsav

Elsőként mutattuk ki a dokozahexaénsav védőhatását A β 1-42 peptid kezelés által létrehozott sejtés toxicitásra és a barrier működés károsodására glia és pericyta sejtekkel együtt tenyésztett agyi endothelsejteken. Kísérletes adataink alapján a dokozahexaénsav Alzheimer-kór állatkísérletes modelljein megfigyelt idegrendszeri protektív hatásához a vér-agy gátra kifejtett védőhatása is hozzájárulhat.

Csonkolt tau fehérje

Elsőként mutattuk ki, hogy a humán csonkolt tau fehérje közvetlenül nem toxikus agyi endothelsejtekre, azonban a glia- és agyi endothelsejtek ko-kultúra modelljén, az *in vivo* patológiai helyzetnek megfelelő abluminális kezelés hatására szignifikánsan fokozza az endothelsejt-rétegek paracelluláris permeabilitását. Feltártuk, hogy a hatáshoz a microglia

sejtekből felszabaduló gyulladásos citokin TNF- α is hozzájárul. Adataink alapján az amiloid peptidek és a hibásan tekeredett tau fehérjék eltérő módon fejtik ki hatásukat a vér-agy gátra, és feltételezhető, hogy a taupathiákban a kóros tau fehérje is részt vesz az agyi mikroerek károsodásában.

Új módszerek agyba való gyógyszerbejuttatás elősegítésére

A három sejtes *in vitro* vér-agy gát modell validálása ismert központi idegrendszeri bejutású gyógyszerekkel

Az új, általunk kifejlesztett három sejtípusból álló tenyészetes patkány vér-agy gát modellt 19 vegyülettel validáltuk, és *in vivo* eredményekkel összehasonlítva jó korrelációt kaptunk. Adataink alapján ez a vér-agy gát modell megfelelő rendszer hatóanyagok, új farmakonok tesztelésére, és agyba való bejutásuk becslésére.

Az endothelsejtek közötti szoros kapcsolatok átmeneti, reverzibilis megnyitásának vizsgálata *in vitro* vér-agy gát modellen

Az *in vitro* modellen az alkilglicerolok tanulmányozásával nyert megfigyeléseink a vér-agy gát akut, ideiglenes, paracelluláris megnyílására utalnak az endothelsejtek tartós károsodása nélkül. A jelen eredményeink megerősítik a patkányokon és egereken végzett *in vivo* vizsgálatokat az alkilglicerolok előnyös vér-agy gát nyitó hatásáról.

A nazális út morfológiai alapjai

Vizsgálatainkban feltérképeztük az ornyálkahártya szerkezetét és a sejtközi kapcsolatokat immunfestéssel és elektronmikroszkópiával patkányokban. A szaglóhám három fő barrierjét az epithelsejtek, a lamina propria ereinek endothelsejtjei, és a szaglóidegeket burkoló OEC sejtek alkotják. Igazoltuk az ornyálkahártya ereinek fokozott áteresztőképességét az agyi erekkel szemben. Elsőként sikerült leírunk, hogy a szaglóideget burkoló sejtek áteresztik a jelzőanyag lantánt, és az bejut a szaglóideg rostok közé. Ez az út képezheti az orrból az agyba történő anyagbejutás anatómiai alapját.

Dextrán tesztmolekula bejuttatása az agyba a nazális útvonalon: a hialuronsav, mint mukoadhezív komponens vizsgálata

A felületaktív abszorpciófokozót és a mukoadhezív hialuronsavat tartalmazó vivőanyag szignifikánsan növelte a dextrán tesztmolekula agyba kerülését a nazális útvonalon keresztül patkányokban. Kimutattuk, hogy a kísérletben használt hordozórendszerek nem károsítják a szaglórendszer szövetét, biztonságosan alkalmazhatóak. A nazális út ígéretes lehet idegrendszeri támadáspontú, a vér-agy gáton át nem jutó molekulák terápiás alkalmazására.

Bioaktív amiloid- β 1-42 peptid intranazális bejuttatása az agyba

Sikeresen juttattunk be bioaktív peptidet a központi idegrendszerbe nazális úton. A nazálisan beadott fluoreszcens festékkel jelölt A β 1-42 kimutatható, és mennyisége mérhető volt fluoreszcens mikroszkópia és spektroszkópia technikákkal a szaglógumó és frontális lebeny területén patkányokban. Az A β bejutását ezeken a területeken immunhisztokémiával is igazoltuk. A peptid agyi bejutását, és hatékonyságát magatartás-vizsgálatok is alátámasztották. Kísérleteink alapján hialuronát tartalmú vivőanyagok alkalmasak lehetnek hatóanyagok,

biológiaiilag aktív peptidek bejuttatására a központi idegrendszerbe a nazális úton a vér-agy gát megkerülésével.

ÖSSZEGZÉS

Az általunk kifejlesztett, és szabadalmaztatott három sejttípusból álló vér-agy gát modellt sikeresen validáltuk farmakonok tesztelésével és *in vivo* mérésekkel. Az *in vitro* vér-agy gát modell alkalmasnak bizonyult olyan új szerek vizsgálatára is, amelyek reverzibilisen megnyitják az agyi endothelsejtek szoros kapcsolatait és így elősegíthetik terápiás szerek bejutását a központi idegrendszerbe. Folyamatban lévő munkáinkban célzott nanohordozók átjutását vizsgáljuk a modellen, és tervezzük a szoros sejtközzötti kapcsolatokkal specifikus kölcsönhatásba lépő peptidek tanulmányozását is.

A vér-agy gát vizsgálata mellett, a vér-agy gátat megkerülő, alternatív beviteli módokat is tanulmányoztunk, és sikeresen juttattunk be a nazális útvonalon bioaktív molekulát az agyba állatkísérletekben.

Mindezek az eredmények hozzájárulnak a vér-agy gát működésének jobb megértéséhez, és reményeink szerint a jövőben az idegrendszeri betegségek hatékonyabb kezeléséhez is elvezethetnek.

KUTATÁSI TÁMOGATÁSOK

Hálásan megköszönöm az alábbi támogatásokat, amelyek kutatásaimat lehetővé tették:

- OTKA (F012722; F025984, T37834)
- ETT (T07 154/96; 296/2001; 589/2006)
- NKTM (RET 08/2004, tag)
- Richter Gedeon NyRT (KF09806E9, RG-IPPI-2009-TP3/006)
- INSERM, Franciaország (No 94EO06)
- MTA (Bolyai János Kutatási Ösztöndíj)

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

A VÉR-AGY GÁT MODELLEZÉSE SEJTTENYÉSZETEKSEL

Eredeti közlemények

- Szabó CA, **Deli MA**, Dung NTK, Joó F. Production of pure primary rat cerebral endothelial cell culture: a comparison of different methods. *Neurobiology* 1997;5(1):1-16. (IF₁₉₉₇: -; 14 független idéző)
- Kis B, Szabó CA, Pataricza J, Krizbai I, Mezei Zs, Gecse Á, Telegdy Gy, Papp JGy, **Deli MA**. Vasoactive substances produced by cultured rat brain endothelial cells: a comparison of primary cells and immortalized cell lines. *Eur J Pharmacol* 1999 Feb 26;368(1):35-42. (IF₁₉₉₉: 2,047; 12 független idéző)
- Perrière N, Demeuse P, Garcia E, Regina A, Debray M, Andreux JP, Couvreur P, Schermann JM, Tamsamani J, Couraud PO, **Deli MA**, Roux F. Puromycin-based purification of rat brain capillary endothelial cell cultures. Effect on the expression of blood-brain barrier specific properties. *J Neurochem* 2005 Apr;93(2):279-289. (IF₂₀₀₅: 4,604; 65 független idéző)
- Perrière N, Cazaubon S, Chaverot N, Bourasset F, Cisternino S, Decleves X, Hori S, Terasaki T, **Deli M**, Schermann JM, Tamsamani J, Couraud PO, Roux F. A functional in vitro model of rat blood-brain barrier for molecular analysis of efflux transporters. *Brain Res* 2007 May 30;1150: 1-13. (IF₂₀₀₇: 2,218; 40 független idéző)
- Nakagawa S, **Deli MA**, Nakao S, Honda M, Hayashi K, Nakaoke R, Niwa M. Pericytes from brain microvessels strengthen the barrier integrity in primary cultures of rat brain endothelial cells. *Cell Mol Neurobiol* 2007 Sep;27(6):687-694. (IF₂₀₀₇: 2,483; 41 független idéző)
- Nakagawa S, **Deli MA**, Kawaguchi H, Shimizudani T, Shimono T, Kittel Á, Tanaka K, Niwa M. A new blood-brain barrier model using primary rat brain endothelial cells, pericytes and astrocytes. *Neurochem Int* 2009 Mar-Apr;54(3-4):253-263. (IF₂₀₀₉: 3,541; 33 független idéző)

Összefoglaló közlemények

- Deli MA**, Joó F. Cultured vascular endothelial cells of the brain. *Keio J Med* 1996 Sep;45(3):183-199. (IF₁₉₉₆: -; 34 független idéző)
- Deli MA**, Ábrahám CS, Kataoka Y, Niwa M. Permeability studies on *in vitro* blood-brain barrier models: physiology, pathology and pharmacology. *Cell Mol Neurobiol* 2005 Feb;25(1):59-127. (IF₂₀₀₅: 2,022; 116 független idéző)
- Tóth A, Veszélka S, Nakagawa S, Niwa M, **Deli MA**. Patented in vitro blood-brain barrier models in CNS drug discovery. *Recent Pat CNS Drug Discov* 2011 May 1;6(2):107-118. (IF₂₀₁₁: -; 0 független idéző)

Könyvfejezetek

- Deli MA**, Szabó CA, Dung NTK, Joó F. Immunohistochemical and electron microscopy detections on primary cultures of rat cerebral endothelial cells. In: de Boer ABG, Sutanto W (szerk.) *Drug Transport Across the Blood-Brain Barrier: In Vivo and In Vitro Techniques*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1997. pp. 23-28. (IF₁₉₉₇: -; 6 független idéző; *Deli és mtsai, 1997a*)
- Deli MA**, Ábrahám CS, Dung NTK, Joó F. Preparation of primary cultures of cerebral endothelial cells from newborn pigs. In: de Boer ABG, Sutanto W (szerk.) *Drug Transport Across the Blood-Brain Barrier: In Vivo and In Vitro Techniques*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1997. pp. 85-89. (IF₁₉₉₇: -; 0 független idéző; *Deli és mtsai, 1997b*)

- Deli MA.** Blood-brain barrier models. In: Lajtha A (szerk.) Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology, Neural Membranes and Transport, Vol. 11. Berlin: Springer, 2007. pp. 29-56. (IF₂₀₀₇: -; 0 független idéző)
- Deli MA, Kálmán M.** Vér-agy gát: kölcsönhatás gliasejtek és az agyi endothelsejtek között. In: Huszti Zs, Kálmán M (szerk.) Glia. Budapest: Akadémiai Kiadó, 2008. pp. 345-368. (IF₂₀₀₈: -; 0 független idéző)
- Veszélka S, Kittel Á, **Deli MA.** Tools of modelling blood-brain barrier penetrability. Chapter 9. In: Tihanyi K, Vastag M (szerk.) Solubility, Delivery, and ADME Problems of Drugs and Drug-Candidates. Washington: Bentham Science Publishers Ltd, 2011. pp. 166-188. (IF₂₀₁₁: -; 0 független idéző)

Szabadalom

- Niwa M, Nakagawa S, **Deli MA.** Blood-brain barrier in vitro model, pathologic blood-brain barrier in vitro model, drug screening method using the same, pathologic blood-brain barrier function analysis method and pathogenesis analysis method. Lajstromszám: WO/2007/072953. Benyújtás éve: 2006. Benyújtás száma: PCT/JP2006/325671. Közzététel éve: 2007 Benyújtás helye: Japán. (IF₂₀₀₇: -; 0 független idéző)

A VÉR-AGY GÁT KÁROSODÁSÁNAK ÉS VÉDELME NEK VIZSGÁLATA MODELLEK SEGÍTSÉGÉVEL

MIKROBIÁLIS PATHOGÉNEK VIZSGÁLATA

Eredeti közlemények

- Ábrahám CS, **Deli MA**, Joó F, Megyeri P, Torpier G. Intracarotid tumor necrosis factor- α administration increases the blood-brain barrier permeability in cerebral cortex of the newborn pig: quantitative aspects of double-labelling studies and confocal laser scanning analysis. *Neurosci Lett* 1996 Apr 19;208(2):85-88. (IF₁₉₉₆: 2,090; 43 független idéző)
- Megyeri P, Németh L, Pabst KM, Pabst MJ, **Deli MA**, Ábrahám CS. 4-(2-aminoethyl)benzenesulfonyl fluoride, a serine protease inhibitor, protects against tumor necrosis factor α -induced vasogenic brain edema formation in newborn pigs. *Eur J Pharmacol* 1999 Jun 18;374(2):207-211. (IF₁₉₉₉: 2,047; 10 független idéző)
- András IE, Pu H, **Deli MA**, Nath A, Hennig B, Toborek M. HIV-1 Tat protein alters tight junction protein expression and distribution in cultured brain endothelial cells. *J Neurosci Res* 2003 Oct 15;74(2):255-265. (IF₂₀₀₃: 3,374; 51 független idéző)
- Veszélka S, Urbányi Z, Pázmány T, Németh L, Obál I, Dung NTK, Ábrahám CS, Szabó G, **Deli MA.** Human serum amyloid P component attenuates the bacterial lipopolysaccharide-induced increase in blood-brain barrier permeability in mice. *Neurosci Lett* 2003 Nov 27;352(1):57-60. (IF₂₀₀₃: 1,967; 19 független idéző)
- András IE, Pu H, Tian J, **Deli MA**, Nath A, Hennig B, Toborek M. Signaling mechanisms of HIV-1 Tat-induced alterations of claudin-5 expression in brain endothelial cells. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005 Sep;25(9):1159-1170. (IF₂₀₀₅: 4,786; 27 független idéző)
- Veszélka S, Pásztói M, Farkas AE, Krizbai I, Dung NTK, Niwa, M, Ábrahám CS, **Deli MA.** Pentosan polysulfate protects brain endothelial cells against bacterial lipopolysaccharide-induced damages. *Neurochem Int* 2007 Jan; 50(1):219-228. (IF₂₀₀₇: 2,975; 16 független idéző)
- Lachenmaier SM, **Deli MA**, Meissner M, Liesenfeld O. Intracellular transport of *Toxoplasma gondii* through the blood-brain barrier. *J Neuroimmunol* 2011 Mar;232(1-2):119-130. (*IF₂₀₁₀: 2,901; 1 független idéző)

Kézirat közlés alatt

Cardoso FL, Kittel Á, Veszélka S, Palmela I, Tóth A, Brites D, **Deli MA**, Brito MA. Exposure to lipopolysaccharide and/or unconjugated bilirubin impair the integrity and function of brain microvascular endothelial cells. PLoS ONE 2011; revízió alatt.

AGYI ISCHEMIA KÓROKI TÉNYEZŐINEK VIZSGÁLATA**Eredeti közlemények**

Imaizumi S, Kondo T, **Deli MA**, Gobbel G, Joó F, Epstein CJ, Yoshimoto T, Chan PH. The influence of oxygen free radicals on the permeability of the monolayer of cultured brain endothelial cells. Neurochem Int 1996 Aug;29(2):205-211. (IF₁₉₉₆: 1,988; 44 független idéző)

Németh L, **Deli MA**, Falus A, Szabó CA, Ábrahám CS. Cerebral ischemia-reperfusion induced vasogenic brain edema formation in rats: effect of an intracellular histamine receptor antagonist. Eur J Pediatr Surg 1998 Aug;8(4):216-219. (IF₁₉₉₈: 0,355; 3 független idéző)

Deli MA, Németh L, Falus A, Ábrahám CS. Effect of N,N-diethyl-2-[4-(phenylmethyl)phenoxy] ethanamine on the blood-brain barrier permeability in the rat. Eur J Pharmacol 2000 Jan 3;387(1):63-72. (IF₂₀₀₀: 2,236; 7 független idéző; *Deli és mtsai, 2000c*)

Deli MA, Ábrahám CS, Takahata H, Niwa M. Tissue plasminogen activator inhibits P-glycoprotein activity in brain endothelial cells. Eur J Pharmacol 2001 Jan 5;411(1):R3-R5. (IF₂₀₀₁: 2,164; 5 független idéző)

Ábrahám CS, Harada N, **Deli MA**, Niwa M. Transient forebrain ischemia increases the blood-brain barrier permeability for albumin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. Cell Mol Neurobiol 2002 Aug;22(4):455-462. (IF₂₀₀₂: 2,029; 32 független idéző)

András I, **Deli MA**, Veszélka S, Hayashi K, Hennig B, Toborek M. The NMDA and AMPA/KA receptors are involved in glutamate-induced alterations of occludin expression and phosphorylation in brain endothelial cells. J Cereb Blood Flow Metab 2007 Aug;27(8):1431-1443. (IF₂₀₀₇: 5,147; 34 független idéző)

Morofuji Y, Nakagawa S, So G, Hiu T, Horai S, Hayashi K, Tanaka K, Suyama K, **Deli MA**, Nagata I, Niwa M. Pitavastatin strengthens the barrier integrity in primary cultures of rat brain endothelial cells. Cell Mol Neurobiol 2010 Jul;30(5):727-735. (IF₂₀₁₀: 2,423; 1 független idéző)

Gesuite R, Orsini F, Zanier ER, Albani D, **Deli MA**, Bazzoni G, De Simoni MG. Glial cells drive preconditioning-induced blood-brain barrier protection. Stroke 2011 May;42(5):1445-1453. (*IF₂₀₁₀: 5,756; 0 független idéző)

Könyvfejezet

Deli MA, Ábrahám CS. Histamine and the blood-brain barrier. In: Falus A, Grosman N, Darvas Z (szerk.) Histamine: Biology and Medical Aspects. Basel: Karger, 2004. pp. 264-271. (IF₂₀₀₄: -; 0 független idéző)

Konferenciakiadvány, előadás megjelent szövege

Deli MA, Ábrahám CS, Niwa M, Falus A. N,N-diethyl-2-[4-(phenylmethyl)phenoxy]ethanamine increases the permeability of primary mouse cerebral endothelial cell monolayers. Inflamm Res 2003 Apr;52(Suppl 1):S39-S40. (IF₂₀₀₃: -; 17 független idéző)

Deli MA, Kis B. Vasoactive peptides and the blood-brain barrier. In: Kastin A, Pan W (szerk.) The Blood-Brain Barrier: Understanding the Regulatory Gatekeeper Between Brain and Body: The Biomedical & Life Sciences Collection. London: Henry Stewart Talks Ltd., 2008. pp. 1-52. (IF₂₀₀₈: -; 0 független idéző)

NEURODEGENERATÍV BETEGSÉGEKBEN SZEREPET JÁTSZÓ KÓROS FEHÉRJÉK VIZSGÁLATA

Eredeti közlemények

- Deli MA**, Sakaguchi S, Nakaoke R, Ábrahám CS, Takahata H, Kopáček J, Shigematsu K, Katamine S, Niwa M. PrP fragment 106-126 is toxic to cerebral endothelial cells expressing PrP^C. *Neuroreport* 2000 Nov 27;11(17):3931-3936. (IF₂₀₀₀: 2,696; 28 független idéző; *Deli és mtsai, 2000a*)
- Deli MA**, Ábrahám CS, Takahata H, Katamine S, Niwa M. Pentosan polysulfate regulates scavenger receptor-mediated, but not fluid-phase, endocytosis in immortalized cerebral endothelial cells. *Cell Mol Neurobiol* 2000 Dec;20(6):731-745. (IF₂₀₀₀: 2,093; 4 független idéző; *Deli és mtsai, 2000b*)
- Kovac A, Zilkova M, **Deli MA**, Zilka N, Novak M. Human truncated tau is using different mechanism from beta-amyloid to damage blood-brain barrier. *J Alzheimers Disease* 2009;18(4): 897-906. (IF₂₀₀₉: 3,832; 3 független idéző)
- Deli MA**, Veszelka S, Csiszár B, Tóth A, Kittel Á, Csete M, Sipos Á, Szalai A, Fülöp L, Penke B, Ábrahám CS, Niwa M Protection of the blood-brain barrier by pentosan against amyloid β -induced toxicity. *J Alzheimers Disease* 2010;22(3):777-794. (IF₂₀₁₀: 4,261; 0 független idéző)

Könyvfejezet

- Deli MA**. The role of blood-brain barrier in neurodegenerative diseases. In: Di Liegro I, Savettieri G (szerk.) *Molecular Bases of Neurodegeneration*. Kerala: Research Signpost, 2005. pp. 137-161. (IF₂₀₀₅: -; 5 független idéző)

Hozzászólás

- Deli MA**, Niwa M, Katamine S, Ábrahám CS. Pentosan in transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet* 1999 Apr 10;353(9160):1272. (IF₁₉₉₉: -; 2 független idéző)

Kéziratok közlés alatt

- Veszelka S, Walter F, Tóth A, Datki Z, Mózes E, Fülöp L, Bozsó Z, Penke B, **Deli MA**. Docosahexaenoic acid reduces amyloid β -induced toxicity in neurons, brain endothelial cells, glial cells, and pericytes. *Kézirat*.
- Deli MA**, Veszelka S, Kopáček J, Ábrahám CS, Nakaoke R, Katamine S, Niwa M. Pentosan polysulfate protects brain endothelial cells from PrP 106-126 peptide-induced toxicity and blood-brain barrier dysfunction. *Kézirat*.

ÚJ MÓDSZEREK AGYBA VALÓ GYÓGYSZERBEJUTTATÁS ELŐSEGÍTÉSÉRE

Eredeti közlemények

- Wolburg H, Wolburg-Buchholz K, Sam H, Horvát S, **Deli MA**, Mack AF. Epithelial and endothelial barriers in the olfactory region of the nasal cavity of the rat. *Histochem Cell Biol* 2008 Jul;130(1):127-140. (IF₂₀₀₈: 2,320; 8 független idéző)
- Horvát S, Fehér A, Wolburg H, Sipos P, Veszelka S, Tóth A, Kis L, Kurunczi A, Balogh G, Kürti L, Erős I, Szabó-Révész P, **Deli MA**. Sodium hyaluronate as a mucoadhesive component in nasal formulation enhances delivery of molecules to brain tissue. *Eur J Pharm Biopharm* 2009 May;72(1): 252-259. (IF₂₀₀₉: 3,151; 7 független idéző; *Horvát és mtsai, 2009a*)
- Sipos E, Kurunczi A, Fehér A, Penke Z, Fülöp L, Kasza Á, Horváth J, Horvát S, Veszelka S, Balogh G, Kürti L, Erős I, Szabó-Révész P, Párducz Á, Penke B, **Deli MA**. Intranasal delivery of human β -amyloid peptide in rats: effective brain targeting. *Cell Mol Neurobiol* 2010

Apr;30(3):405-413. (IF₂₀₁₀: 2,423; 2 független idéző)

Összefoglaló közlemények

Fehér A, Erős I, **Deli M**, Szabó-Révész P. A vér-agy gát szerepe, felépítése és gyógyszerészeti vonatkozásai. *Gyógyszerészet* 2007 Feb;51(2):85-91. (IF₂₀₀₇: -; 1 független idéző)

Deli MA. Potential use of tight junction modulators to reversibly open membranous barriers and improve drug delivery. *Biochim Biophys Acta* 2009 Apr;1788(4):892-910. (IF₂₀₀₉: 3,998; 31 független idéző)

Kürti L, **Deli M**, Szabó-Révész P. Intranazális gyógyszerbevitel újabb lehetőségei szisztémás hatás elérése céljából. *Gyógyszerészet* 2009 Feb;53(2):67-73. (IF₂₀₀₉: -; 0 független idéző)

Horvát S, Kiss L, Révész P, Erős I, **Deli M**. Hatóanyagok agyba juttatása a nazális útvonalon keresztül. *Gyógyszerészet* 2009 May;53(5): 259-266. (IF₂₀₀₉: -; 0 független idéző; *Horvát és mtsai, 2009b*)

Könyvfejezet

Deli MA. Drug transport and the blood-brain barrier. Chapter 8. In: Tihanyi K, Vastag M (szerk.) *Solubility, Delivery, and ADME Problems of Drugs and Drug-Candidates*. Washington: Bentham Science Publishers Ltd, 2011. pp. 144-165. (IF₂₀₁₁: -; 0 független idéző)

Kézirat közlés alatt

Hülper P, Veszelka S, Wolburg H, Fallier-Becker P, Piontek J, Lakomek M, Kugler W, **Deli MA**. Acute effects of short-chain alkylglycerols on blood-brain barrier properties. Kézirat.

Az értekezés alapját képező közlemények összesített impakt faktora 83,927 (ebből az eredeti közleményeké 77,907). Ezekre a közleményekre az MTMT adatbázisának 2010. július 13-i lezárásáig összesen 762 független hivatkozás történt (ebből az eredeti közleményekre 550).

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Eredeti közlemények

Huszt Z, Madarász E, Schlett K, Joó F, Szabó CA, **Deli MA**. Mercury-stimulated histamine uptake and binding in cultured astroglial and cerebral endothelial cells. *J Neurosci Res* 1997 Apr 1;48(1):71-81. (IF₁₉₉₇: 2,442; 3 független idéző)

Fábián G, Szabó CA, Bozó B, Greenwood J, Adamson P, **Deli MA**, Joó F, Krizbai I, Szücs M. Expression of G-protein subtypes in cultured cerebral endothelial cells. *Neurochem Int* 1998 Aug;33(2):179-185. (IF₁₉₉₈: 1,781; 12 független idéző)

Farkas G, Márton J, Nagy Z, Mándi Y, Takács T, **Deli MA**, Ábrahám CS. Experimental acute pancreatitis results in increased blood-brain barrier permeability in rats: a potential role for tumor necrosis factor and interleukin 6. *Neurosci Lett* 1998 Feb 20;242(3):147-150. (IF₁₉₉₈: 1,934; 31 független idéző)

Krizbai IA, **Deli MA**, Pestenác A, Siklós L, Szabó CA, András I, Joó F. Expression of glutamate receptors on cultured cerebral endothelial cells. *J Neurosci Res* 1998 Dec 15;54(6):814-819. (IF₁₉₉₈: 2,874; 77 független idéző)

Ábrahám CS, **Deli MA**, Temesvári P, Kovács J, Szerdahelyi P, Joó F, Torpier G. Asphyxia- and reperfusion-induced regional differences in cytotoxic and vasogenic brain edema formation in newborn pigs. *Neurosci Res Commun* 1999 Nov-Dec;25(3):173-182. (IF₁₉₉₉: 0,989; 0 független idéző)

- Németh L, Szabó CA, **Deli MA**, Kovács J, Krizbai IA, Ábrahám CS. Cerebral microvascular acid phosphatase isoenzymes may contribute to the histamine-induced changes in the blood-brain barrier permeability in newborn pigs. *Neurosci Res Commun* 1999 May-Jun;24(3): 125-133. (IF₁₉₉₉: 0,989; 0 független idéző)
- Husztai Z, Horváth-Sziklai A, Noszál B, Madarász E, **Deli MA**. Enhancing effect of zinc on astroglial and cerebral endothelial histamine uptake. *Biochem Pharmacol* 2001 Dec 1;62(11):1491-1500. (IF₂₀₀₁: 3,340; 7 független idéző)
- Kis B, **Deli MA**, Kobayashi H, Ábrahám CS, Yanagita T, Kaiya H, Isse T, Nishi R, Gotoh S, Kangawa K, Wada A, Greenwood J, Niwa M, Yamashita H, Ueta Y. Adrenomedullin regulates blood-brain barrier functions in vitro. *Neuroreport* 2001 Dec 21;12(18):4139-4142. (IF₂₀₀₁: 2,374; 26 független idéző)
- Kis B, Kaiya H, Nishi R, **Deli MA**, Ábrahám CS, Yanagita T, Isse T, Gotoh S, Kobayashi H, Wada A, Niwa M, Kangawa K, Greenwood J, Yamashita H, Ueta Y. Cerebral endothelial cells are a major source of adrenomedullin. *J Neuroendocrinol* 2002 Apr;14(4):283-293. (IF₂₀₀₁: 2,691; 21 független idéző)
- Kobayashi H, Yanagita T, Yokoo H, Sugano T, Satoh S, Kis B, **Deli M**, Niwa M, Wada A. Induction of aquaporin 1 by dexamethasone in lipid rafts in immortalized brain microvascular endothelial cells. *Brain Res* 2006 Dec 6;1123(1):12-19. (IF₂₀₀₆: 2,341; 12 független idéző)
- Palkovits M, **Deli MA**, Gallatz K, Tóth ZE, Buzás E, Falus A. Highly activated *c-fos* expression in specific brain regions (ependyma, circumventricular organs, choroid plexus) of histidine decarboxylase deficient mice in response to formalin-induced acute pain. *Neuropharmacology* 2007 Jul;53(1):101-112. (IF₂₀₀₇: 3,215; 4 független idéző)
- Hutamekalin P, Farkas AE, Orbók A, Wilhelm I, Nagyösi P, Veszelka S, **Deli MA**, Buzás K, Hunyadi-Gulyás E, Medzihradszky K, Meksuriyen D, Krizbai IA. Effect of nicotine and polycyclic aromatic hydrocarbons on cerebral endothelial cells. *Cell Biol Int* 1998 Feb;32(2):198-209. (IF₂₀₀₈: 1,619; 5 független idéző)
- Ceruti S, Colombo L, Magni G, Viganò F, Boccazzi M, **Deli MA**, Sperlágh B, Abbracchio MP, Kittel Á. Oxygen-glucose deprivation increases the enzymatic activity and the microvesicle-mediated release of ectonucleotidases in the cells composing the blood-brain barrier. *Neurochem Int* 2011 Aug;59(2):259-271. (*IF₂₀₁₀: 3,601; 0 független idéző)

Összefoglaló közlemények

- Kis B, Ábrahám CS, **Deli MA**, Kobayashi H, Wada A, Niwa M, Yamashita H, Ueta Y. Adrenomedullin in the cerebral circulation. *Peptides* 2001 Nov;22(11):1825-1834. (IF₂₀₀₁: 2,137; 14 független idéző)
- Kis B, Ábrahám CS, **Deli MA**, Kobayashi H, Yamashita H, Busija DW, Ueta Y. Adrenomedullin, an autocrine mediator of the blood-brain barrier function. *Hypertens Res* 2003 Feb;26(Suppl):S61-S70. (IF₂₀₀₃: 2,013; 10 független idéző)
- Krizbai IA, **Deli MA**. Signalling pathways regulating tight junction permeability in the blood-brain barrier. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003 Feb;49(1):23-32. (IF₂₀₀₃: 1,153; 23 független idéző)

Konferenciakiadvány, előadás megjelent szövege

- Szabó CA, Krizbai I, **Deli MA**, Ábrahám CS, Joó F. Receptor-mediated regulation by histamine of the acid phosphatase activity in cultured cerebral endothelial cells. *Inflamm Res* 1996 Mar;45(Suppl 1): S60-S61. (IF₁₉₉₆: -; 0 független idéző)
- Németh L, Szabó CA, **Deli MA**, Kovács J, Krizbai IA, Ábrahám CS, Joó F. Intra-carotid histamine administration results in a dose-dependent vasogenic brain oedema formation in new-born pigs. *Inflamm Res* 1997 Mar;46(Suppl 1): S45-S46. (IF₁₉₉₇: -; 0 független idéző)

- Szabó CA, **Deli MA**, Németh L, Krizbai I, Kovács J, Ábrahám CS, Joó F. Histamine-induced vasogenic brain oedema formation in newborn pigs: a role for endothelial acid phosphatase? In: Telkeen AW, Korf J (szerk.) *Neurochemistry: Cellular, Molecular and Clinical Aspects: European Society for Neurochemistry. 11. Meeting. Groningen, Hollandia, 1996.06.15-1996.06.20.* New York: Plenum Publishing Corporation, 1997. pp. 479-483. (IF₁₉₉₆: -; 0 független idéző)
- Kis B, Snipes JA, **Deli MA**, Ábrahám CS, Yamashita H, Ueta Y, Busija DW. Chronic adrenomedullin treatment improves blood-brain barrier function but has no effects on expression of tight junction proteins. In: Kuroiwa T (szerk.) *Acta Neurochirurgica Supplement 86, Brain Edema XII: Proceedings of the 12th International Symposium, Hakone, Japan Nov 10-13. 2002.* Wien: Springer, 2003. pp. 565-570. (IF₂₀₀₃: -; 12 független idéző)

Hozzászólás

- Megyeri P, **Deli MA**, Ábrahám CS. Mannose-binding lectin and meningococcal disease. *Lancet* 1999 Jul 24;354(9175):338. (IF₁₉₉₉: -; 0 független idéző)
- Kis B, Ábrahám CS, **Deli MA**, Ueta Y. Adrenomedullin and migraine. *Headache* 2002 Nov;42(10):1064-1065. (IF₂₀₀₂: -; 0 független idéző)

AZ ÉRTEKEZÉSHEZ NEM KAPCSOLÓDÓ, A PH.D. FOKOZAT MEGSZERZÉSE ÓTA MEGJELENT EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Eredeti közlemények

- Kovács J, Julesz J, Mogyoróssy MV, **Deli MA**, Ábrahám CS, Vecsernyés M. Asphyxia-induced release of α -melanocyte-stimulating hormone in newborn pigs. *Peptides* 2001 Jul;22(7):1049-1053. (IF₂₀₀₁: 2,137; 0 független idéző)
- Gellén B, Kovács J, Németh L, Németh P, Vágvolgyi J, Bari F, Megyeri P, Pintér S, Temesvári P, **Deli MA**, Vecsernyés M, Szilvássy Z, Koltai M, Ábrahám CS. Vascular changes playing a role in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in asphyxiated newborn pigs. *Pediatr Surg Int* 2003 Jul;19(5):380-384. (IF₂₀₀₃: 0,562; 10 független idéző)
- Csete M, Kresz N, Vass C, Kurdi G, Hainer Z, **Deli M**, Bor Z, Marti O. Sub-micrometer adhesion modulation on polymer surfaces containing gratings produced by two-beam interference. *Materials Science Engineering: C* 2005 Dec;25(5-8):813-819. (IF₂₀₀₅: 1,599; 5 független idéző)
- Csete M, Kohazi-Kis A, Vass C, Sipos A, Szekeres G, **Deli M**, Osvay K, Bor Z. Atomic force microscopical and surface plasmon resonance spectroscopical investigation of submicrometer metal gratings generated by UV laser-based two-beam interference in Au-Ag bimetallic layers. *Appl Surf Science* 2007 Jul 31;253(19):7662-7671. (IF₂₀₀₇: 1,406; 6 független idéző)
- Csete M, Sipos A, Köhási-Kis A, Szalai A, Szekeres G, Matesz A, Csákó T, Osvay K, Bor Z, Penke B, **Deli MA**, Veszélka S, Marti O. Comparative study of sub-micrometer polymeric structures: dot-arrays, linear and crossed gratings generated by UV laser based two-beam interference, as surfaces for SPR and AFM based bio-sensing. *Appl Surf Science* 2007 Dec 15;254(4):1194-1205. (IF₂₀₀₇: 1,406; 0 független idéző)
- Sipos Á, Tóháti H, Mathesz A, Szalai A, Budai J, **Deli MA**, Fülöp L, Köhási-Kis A, Csete M, Bor Zs. Effect of nanogold particles on coupled plasmon resonance on biomolecule covered prepatterned multilayers. *Sensor Lett* 2010 Jun;8(3):515-520. (IF₂₀₁₀: 0,602; 0 független idéző)
- György B, Módos K, Pállinger É, Pálóczi K, Pásztói M, Misják P, **Deli MA**, Sipos Á, Szalai A, Voszka I, Polgár A, Tóth K, Csete M, Nagy G, Gay S, Falus A, Kittel Á, Buzás EI. Detection and isolation of cell-derived microparticles are compromised by protein

- complexes resulting from shared biophysical parameters. *Blood* 2011 Jan 27;117(4):e39-e48. (*IF₂₀₁₀: 10,558; 2 független idéző)
- Szűts A, Láng P, Ambrus R, Kiss L, **Deli MA**, Szabó-Révész P. Applicability of sucrose laurate as surfactant in solid dispersion prepared by melt technology. *Int J Pharm* 2011 May 30;410(1-2):107-110. (*IF₂₀₁₀: 3,607; 0 független idéző)
- Kürti L, Kukovecz Á, Kozma G, Ambrus R, **Deli MA**, Szabó-Révész P. Study of the parameters influencing the co-grinding process for the production of meloxicam nanoparticles. *Powder Technol* 2011 Sep 15;212(1):210-217. (*IF₂₀₁₀: 1,887; 0 független idéző)
- Fenyvesi F, Kiss T, Fenyvesi É, Sente L, Veszelka S, **Deli MA**, Váradi J, Fehér P, Ujhelyi Z, Tótsaki Á, Vecsernyés M, Bácskay I. Randomly methylated β -cyclodextrin derivatives enhance taxol permeability through human intestinal epithelial Caco-2 cell monolayer. *J Pharm Sci* 2011 Nov;100(11):4734-4744. (*IF₂₀₁₀: 3,031; 0 független idéző)

Konferenciakiadvány, előadás megjelent szövege

- Csete M, Sipos Á, Szalai A, Mathesz A, **Deli M**, Veszelka SZ, Schmatulla A, Kohazi-Kis A, Osvay K, Marti O, Bor ZS. Bio-sensing based on plasmon-coupling caused by rotated sub-micrometer gratings in metal-dielectric interfacial layers. In: Tuan Vo-Dinh, Robert A Lieberman, Günter Gauglitz (szerk.) *Advanced environmental, chemical and biological sensing technologies V*: SPIE Optics East 2007. Boston, Amerikai Egyesült Államok, 2007.09.09-2007.09.12. Bellingham: SPIE, Paper 67550X. (IF₂₀₀₇: -; 0 független)

TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

Az MTMT adatbázisának 2011. július 13-i lezárásakor:

	Rész adat	Összesen
TUDOMÁNYOS ELŐADÁSAI		
Kongresszusi előadások száma	-----	221
TUDOMÁNYOS KÖNYVEK, KÖNYVFEJEZETEK		
Önálló tudományos könyvek száma (összesen)	-----	0
Idegen nyelvű	0	-----
Magyar nyelvű	0	-----
Könyvfejezetek száma (összesen)	-----	10
Idegen nyelvű	9	-----
Magyar nyelvű	1	-----
Szerkesztett könyvek száma (összesen)	-----	0
Idegen nyelvű	0	-----
Magyar nyelvű	0	-----
Tankönyvek száma (összesen)	-----	0
Pályázó által írt tankönyvek száma	0	-----
Pályázó által szerkesztett tankönyvek száma	0	-----
Tankönyv fejezetek (összesen)	-----	0
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK SZÁMA		
Lektorált szakfolyóiratokban megjelent tudományos közlemények száma	-----	67
Ebből első vagy utolsó szerzőként	21	-----
Nemzetközi folyóiratban	62	-----
Hazai idegennyelvű folyóiratban	2	-----
Hazai magyar nyelvű folyóiratban	3	-----
Szerkesztői levelek, hozzászólások, válaszok száma	3	-----
Kongresszusi előadások folyóiratban vagy könyvben	-----	8
Külföldi folyóiratban	4	-----
Magyar folyóiratban	0	-----
Folyóiratban megjelent absztraktok száma	-----	15
SZAKFOLYÓIRATOKBAN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEINEK MINŐSÍTÉSE		
Valamennyi eredeti közleményeinek összegzett impakt faktora (absztraktok és nem lektorált levelek nélkül)	-----	162,34
Az utolsó 10 év éves átlaga	10,75	-----
A PhD vagy kandidátusi disszertációban <i>nem szereplő</i> közlemények impakt faktor összege	146,22	-----
TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEINEK IDÉZETTSÉGE		
Idézettség összesen	-----	1627
(ebből önidézés)	425	-----

IRODALOMJEGYZÉK

- Abbott N. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat* 2002 May;200(5):629-638.
- Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis* 2010 Jan;37(1):13-25.
- Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature Rev Neurosci* 2006 Jan;7(1):41-53.
- Bell RD, Zlokovic BV. Neurovascular mechanisms and blood-brain barrier disorder in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2009 Jul;118(1):103-113.
- Busija DW, Bari F, Domoki F, Horiguchi T, Shimizu K. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of cortical spreading depression. *Prog Neurobiol* 2008 Dec 11;86(4):379-395.
- Dehouck M-P, Méresse S, Delorme P, Fruchart JC, Cecchelli R. An easier, reproducible, and mass-production method to study the blood-brain barrier in vitro. *J Neurochem* 1990 May;54(5):1798-1801.
- Friedman A, Dingledine R. Molecular cascades that mediate the influence of inflammation on epilepsy. *Epilepsia*. 2011 May;52(Suppl 3):33-39.
- Haseloff RF, Blasig IE, Bauer H-C, Bauer H. In search of the astrocytic factor(s) modulating blood-brain barrier functions in brain capillary endothelial cells in vitro. *Cell Mol Neurobiol* 2005 Feb;25(1):25-39.
- Iadecola C, Nedergaard M. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci* 2007 Nov;10(11):1369-1376.
- Joó F. The blood-brain barrier in vitro: ten years of research on microvessels isolated from the brain. *Neurochem Int* 1985;7(1):1-25.
- Joó F. The blood-brain barrier in vitro: the second decade. *Neurochem Int* 1993 Dec;23(6):499-521.
- Joó F, Karnushina I. A procedure for the isolation of capillaries from rat brain. *Cytobios* 1973 Sep-Oct;8(29):41-48.
- Kása P, Pákási M, Joó F, Lajtha A. Endothelial cells from human fetal brain microvessels may be nociceptive, but do not synthesize acetylcholine. *J Neurochem* 1991 Jun;56(6):2143-2146.
- Liddelow SA. Fluids and barriers of the CNS: a historical viewpoint. *Fluids and Barriers of the CNS* 2011, 8:2 (pp 1-16.)
- Nagy Z, Martinez K. Astrocytic induction of endothelial tight junctions. *Ann NY Acad Sci* 1991;633:395-404.
- Neuwelt E, Abbott NJ, Abrey L, Banks WA, Blakley B, Davis T, Engelhardt B, Grammas P, Nedergaard M, Nutt J, Pardridge W, Rosenberg GA, Smith Q, Drewes LR. Strategies to advance translational research into brain barriers. *Lancet Neurol* 2008 Jan;7(1):84-96.
- Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C, Fricker G, Iadecola C, Janigro D, Leybaert L, Molnár Z, O'Donnell ME, Povlishock JT, Saunders NR, Sharp F, Stanimirovic D, Watts RJ, Drewes LR. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nat Rev Neurosci* 2011 Mar;12(3):169-182.
- Pardridge WM. Drug and gene targeting to brain with molecular Trojan horses. *Nat Rev Drug Discov* 2002 Feb;1(2):131-139.
- Peppiatt CM, Howarth C, Mobbs P, Attwell D. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature* 2006 Oct 12;443(7112):700-704.
- Tao-Cheng JH, Nagy Z, Brightman MW. Tight junctions of brain endothelium in vitro are enhanced by astroglia. *J Neurosci* 1987 Oct;7(10):3293-3299.
- Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 2008 Jan 24;57(2):178-201.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném ezt az értekezést mentorom, Joó Ferenc professzor úr emlékének ajánlani. Hálával tartozom neki, hogy befogadott kutatócsoportjába, bevezetett a vér-agy gát kutatás témájába, és elindított szakmai pályámon.

Szeretném megköszönni mindazoknak a segítségét akik tudományos kutatómunkám során támogattak, és hozzájárultak ahhoz, hogy ez a pályázat elkészülhessen:

Köszönöm Dr. Ormos Pál akadémikusnak, az SZBK Biofizikai Intézet igazgatójának, valamint Dr. Párducz Árpád és Dr. Siklós László, tudományos tanácsadóknak, a Molekuláris Neurobiológiai Laboratórium korábbi és jelenlegi vezetőinek támogatását.

Szeretném megköszönni munkatársaimnak és diákjaimnak, Dr. Veszelka Szilviának, Ngo Thi Khue Dungnak, Dr. Szabó Andrea Csillának, Dr. Pásztói Máriának, Dr. Horvát Sándornak, Dr. Kürti Leventének, Tóth Andreának, Csiszár Boglárkának, Dr. Nur Meltem Asiya Kablan-Kalnak, Kis Lórándnak, Walter Fruzsínának, Bocsik Alexandrának és Glässer Eriknek a lelkes és szorgalmas munkájukat a közös kísérletekben és közleményekben.

Köszönet illeti kollégáimat a Molekuláris Neurobiológiai Laboratóriumban és az SZBK Biofizikai Intézetben az együttműködésért és segítségükért. Kiemelném közülük Dr. Krizbai Istvánt, akivel annak idején együtt kezdtük vér-agy gát kutatásainkat. Az SZBK kutatói közül külön köszönöm Dr. Maderspach Katalin, Balogh Gábor, Dr. Puskás László és Dr. Ózsvári Béla segítségét.

Hálás vagyok hazai és külföldi együttműködő partnereimnek a közös kutatómunkáért. Külön szeretném megköszönni az SZTE Gyógyszertechnológiai Intézetben Prof. Révész Piroskának a támogatást és folyamatos bátorítást, Prof. Erős Istvánnak, Dr. Fehér Andrásnak és Dr. Sipos Péternek a segítséget. Megköszönöm a szakmai együttműködésünk során nyújtott támogatást Dr. Penke Botond akadémikusnak, Dr. Fülöp Líviának, Dr. Sipos Eszternek, Dr. Pákáski Magdolnának, Prof. Mándi Yvette-nek, Dr. Csete Máriának, néhai Dr. Megyeri Pálnak, Dr. Németh Lászlónak, Dr. Kovács Józsefnek, Dr. Ábrahám Csongornak, Dr. Lengyel Csabának és Dr. Rákhely Gábornak a szegedi egyetemi karokról; Dr. Falus András akadémikusnak, Prof. Buzás Editnek és Dr. Huszti Zsuzsának a budapesti Semmelweis Egyetemről; Dr. Kittel Ágnesnek és Dr. Szabó Gábornak az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetéből; Dr. Vastag Monikának, Dr. Urbányi Zoltánnak és Dr. Pázmány Tamásnak a Richter Gedeon NyRT részéről; és Dr. Vecsernyés Miklósnak a Debreceni Egyetemről.

Hálásan köszönöm Prof. Niwa Masami folyamatos támogatását és gondoskodását, valamint Prof. Katamine Shigeru, Dr. Nakagawa Shinsuke, Dr. Hayashi Kentaro, és Prof. Nishida Noriyuki segítségét a Nagaszaki Egyetemről. Köszönet illeti Dr. András Ibolyát és Prof. Michal Toboreket (Kentucky Egyetem, Lexington) valamint Dr. Kis Bélát (Harvard Egyetem, Boston) a hosszú távú sikeres tudományos együttműködésért, barátságukért. Megköszönöm Dr. Francoise Roux, Prof. Pierre-Olivier Couraud, Dr. Nicolas Perrière (Institut Cochin, Párizs), valamint Prof. Marie-Pierre Dehouck, Prof. Roméo Cecchelli és néhai Dr. Gérard Torpier (Institut Pasteur, Lille) segítségét és támogatását. Hálás vagyok Prof. Hartwig Wolburg (Tübingeni Egyetem), Dr. Petra Hülper (Göttingeni Egyetem), Dr. Dunay Ildikó (Magdeburgi Egyetem), valamint Prof. Olivier Liesenfeld és Dr. Markus Heimesaat (Charité, Berlin) segítségével. Köszönöm Prof. Daniela Virgintino (Bari Egyetem), Prof. Italia di Liegro (Palermói Egyetem), Prof. Maria-Grazia De Simoni és Dr. Raffaella Gesuete (Mario Negri Intézet, Milánó), Dr. Stefania Ceruti (Milánói Egyetem), Dr. Maria Alexandra Brito és Filipa Cardoso (Lisszaboni Egyetem), valamint Prof. Michal Novak, Dr. Andrej Kovac, és Prof. Juraj Kopáček (Szlovák Tudományos Akadémia, Pozsony) tudományos együttműködését.

Végül szeretném megköszönni szüleimnek, fiamnak, férjemnek, testvéremnek és az egész családomnak a sok szeretetet, türelmet, támogatást és segítséget, a biztonságos háttérrel és azt, hogy mindig mellettem álltak.

dc_157_11