

dc_218_11

**MTA DOKTORA PÁLYÁZAT
AZ ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**A VÉR-AGY GÁT FIZIOLÓGIÁS ÉS PATOLÓGIÁS KÖRÜLMÉNYEK
KÖZÖTTI MŰKÖDÉSÉNEK VIZSGÁLATA**

Dr. Krizbai István



**MTA Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biofizikai Intézet**

**Szeged
2011**

dc_218_11

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés	5
2. Célkitűzések	7
3. Anyag és módszer	7
4. Eredmények és megbeszélés	8
5. Az eredmények gyakorlati hasznosíthatósága	11
6. Köszönetnyilvánítás	11
7. Függelék	12

dc_218_11

1. BEVEZETÉS

1.1. A VÉR-AGY GÁT

A központi idegrendszer működése számára elengedhetetlen állandó belső környezet fenntartásában a vér-agy gátnak döntő jelentősége van. Köszönhető ez annak, hogy a perifériás kapillárisokkal ellentétben, amelyek egy relatív szabad anyagáramlást tesznek lehetővé a sejtek között és a sejteken keresztül, az agyi kapillárisok egy több pilléren alapuló védvonal révén korlátozzák az anyagforgalmat a vér és a központi idegrendszer között.

A vér-agy gát egy aktív határfelületet képez a keringés és a központi idegrendszer között és kettős funkciót lát el: egyrészt relatív impermeabilitása révén megakadályozza, hogy potenciálisan károsító anyagok bejussanak a központi idegrendszerbe, és ezzel nagymértékben hozzájárul a központi idegrendszer homeosztázisának fenntartásához (barrier funkció). Másrészt transzportrendszerei segítségével aktív szerepet játszik a központi idegrendszer tápanyagellátásában és a keletkező anyagcsere termékek eltávolításában (szállító funkció).

A vér-agy gát morfológiai alapját az agyi endotélsejtek képezik, amelyek azonban szoros funkcionális kapcsolatban állnak elsősorban az asztrocitákkal és a pericitákkal, amelyek elősegítik, illetve fenntartják az endotélsejtek barrier tulajdonságait. Az egymással szorosan összekapcsolódó endotélsejtek egy folyamatos sejtréteget képeznek az erek lumen felületén. Az endotélsejtek apikális oldala a bazális membránnal érintkezik, melynek kettőződésében a periciták foglalnak helyet. A kapillárisokat az asztrociták végtalpai fedik be, agyi területenként változó mértékben.

1.2. AZ INTERENDOTELIÁLIS KAPCSOLATOK

Az endotélsejtek barrier tulajdonságainak meghatározásában alapvető szerepet játszanak az intercelluláris kapcsolatok, ezen belül is a szoros kapcsolatok (tight junction, TJ), illetve az adherens kapcsolatok (adherens junction, AJ). A szoros kapcsolatok az interendoteliális junction legapikálisabb részén helyezkednek el, és kettős funkcióval rendelkeznek: egyrészt paracelluláris barrierként megakadályozzák a sejtek közötti anyagáramlást, másrészt megakadályozzák a membránfehérjék szabad vándorlását az apikális és bazolaterális rész között, biztosítva az endotélsejtek polarizáltságát.

1.2.1. Szoros kapcsolatok

A szoros kapcsolatok felépítésében transzmembrán fehérjék és perifériás fehérjék (junkcionális plak fehérjék) vesznek részt. A transzmembrán fehérjék három családba sorolhatóak: a négy transzmembrán domént tartalmazó fehérjék (occludin, claudinok, tricellulin/marvelD2, marvelD3), az immunglobulin szupercsaládba tartozó molekulák egy transzmembrán régióval (JAM, CAR, ESAM), illetve a nem immunglobulin családba tartozó egy transzmembrán régióval rendelkező fehérjék (CRB3, Bves). Ezek közül agyi endotélsejtekben a leginkább jellemzettek az occludin, a claudinok, illetve a JAM-ek. Természetesen nagy jelentőséggel bírnak a szoros kapcsolatot alkotó nem transzmembrán fehérjék is. Ide tartoznak PDZ doménnel rendelkező fehérjék (ZO-1, ZO-2, ZO-3), illetve PDZ doménnel nem rendelkező fehérjék (cingulin, szignalizációs fehérjék).

1.2.2. Adherens kapcsolatok

Az adherens kapcsolatok fontos szerepet játszanak a szoros kapcsolatok kialakításában és fenntartásában, valamint a permeabilitás szabályozásában is. A szoros kapcsolatok közelében helyezkednek el, azoktól bazolaterális irányban, és szintén transzmembrán és citoplazmatikus fehérjékből épülnek fel. Az adherens kapcsolatok transzmembrán fehérjéi, a cadherine, kalciumfüggő sejtadhéziós molekulák; az agyi endotélsejtekben elsősorban VE-cadherin van jelen. A cadherine a catenineken (α , β és γ) keresztül kapcsolódnak a citoszkeletonhoz.

1.3. JELÁTVITELI FOLYAMATOK AZ AGYI ENDOTÉLSEJTEKBEN

Ahhoz, hogy az agyi endotélsejtek adekvát módon tudjanak alkalmazkodni a külső környezetből jövő ingerekhez, számos receptorral kell rendelkezzenek. Ismeretes, hogy az idegrendszeri környezet alapvetően befolyásolja az agyi endotélsejtek tulajdonságait, így nem meglepő, hogy az agyi endotélsejtek neurotranszmitter receptorokkal is rendelkeznek, mint amilyenek az adrenerg receptorok, a szerotonin vagy a dopamin receptorok

1.3.1. A glutamát

A glutamát a központi idegrendszer egyik legfontosabb serkentő neurotransmittere, de fontos szerepet játszhat számos központi idegrendszeri megbetegedés patogenezisében, mint amilyen az agyi

hipoxia. A glutamát hatását a glutamát receptorok mediálják, amelyek lehetnek ioncsatornaként működő ionotróp receptorok, vagy G-fehérjéhez kapcsolt metabotróp receptorok. Az ionotróp receptorok tovább osztályozhatóak NMDA (NMDAR1, NMDAR2A-D), AMPA (GluR1-4), illetve kainát (GluR5-7, KA1-2) receptorokra. A glutamát hatás szabályozásában fontos szerepet játszanak a glutamát transzporterek is.

1.3.2. A szerotonin

A szerotonin mellett, hogy egy fontos neurotranszmitter, igen fontos szerepet játszik a mikroerek működésének szabályozásában. Szerotonin receptorok mellett az agyi endotélium szerotonin transzport képességekkel is rendelkezik. A szerotonin transzporter génjének azonosítása lehetővé tette e transzporter közvetlen vizsgálatát.

1.3.3. A junkcionális komplexum szabályozásában résztvevő jeltovábbító folyamatok

Tekintettel arra, hogy az endotélium egyik legfontosabb funkciója egy paracelluláris barrier képzése, nem meglepő, hogy az interendoteliális junkciók szoros szabályozás alatt állnak. Ezt mi sem bizonyítja jobban, mint az, hogy a junkciók területére számos jelátviteli molekula lokalizálódik. A junkcionális fehérjék expressziója, lokalizációja és poszttranszlációs módosulásai precíz kontroll alatt állnak. A kísérleti eredmények túlnyomó többsége azonban epitélsejtekből ered, és sokkal kevesebbet tudunk az endoteliális junkciók szabályozásáról.

A junkciókat szabályozó jeltovábbító molekulák közül a legfontosabbak: ciklikus nukleotidok, Ca^{2+} , G-fehérjék, illetve számos kináz és foszfatáz. Az egyik legfontosabb szabályozási mechanizmus a foszforiláció/defoszforiláció. A junkcionális fehérjék számos szerin/treonin, illetve tirozin oldallánccal rendelkeznek, melyeknek foszforilációs állapota meghatározó jelentőségű a paracelluláris permeabilitás szempontjából. Számos adat utal arra, hogy a MAP kinázok, a különböző PKC izoformák, a Rho-kinázok, a PKA és PKG, a miozin könnyű lánc kináz és a PI3K/Akt útvonal, illetve a PP1, PP2A és PTP1B foszfatázok játszanak szerepet a szoros és adherens kapcsolatok szabályozásában.

1.4. A VÉR-AGY GÁT PATOLÓGIÁS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT

A vér-agy gátnak a klinikai gyakorlatban két okból is nagy gyakorlati jelentősége van. Egyrészt a vér-agy gát működésének megértése létfontosságú számos idegrendszeri megbetegedés patomechanizmusának tisztázásához, illetve kezelési stratégiájának kialakításához. Különböző kórfolyamatok, mint amilyen az agyi iszkémia, a központi idegrendszer gyulladásos megbetegedései, neurodegeneratív megbetegedések a vér-agy gát sérüléséhez, és ezáltal a központi idegrendszer homeosztázisának felbomlásához vezethetnek, amelynek súlyos kihatása lehet a kórkép lefolyására. E megbetegedések jelentős részében a vér-agy gát nem csak passzív célpontként szerepel, hanem aktív résztvevője a kórfolyamatnak, sőt kulcsszerepet is játszhat. Ilyen megbetegedések az agyi keringés zavarai, gyulladásos folyamatok vagy központi idegrendszeri daganatok.

Másrészt a vér agy-agy gát relatív impermeabilitása sok esetben megakadályozza, hogy különböző farmakonok terápiás koncentrációt érjenek el a központi idegrendszerben. Ezért a központi idegrendszer megbetegedéseinek terápiájára tervezett gyógyszerek esetében igen fontos kérdés a vér-agy gáton való átjutás. Az átjuttatásra irányuló módszerek - mint amilyen a vér-agy gát tranziens megnyitása, farmakonok kémiai módosítása a permeabilitás fokozása érdekében, specifikus receptorok felhasználása - széles tárháza ellenére sem tekinthető a kérdés megoldottnak.

A központi idegrendszer patológiás folyamataihoz társuló leggyakoribb funkciózavar a permeabilitás megnövekedése. A sejtek közötti permeabilitást az endotélsejtek közötti kapcsolatok határozzák meg, de igen fontos szerepe van a permeabilitás szabályozásában a transzcitózisnak, a patológiás körülmények között kialakuló transzendoteliális csatornáknak, az endotélsejtek felszínének negatív töltésének.

A paracelluláris barrier funkció ellátása szempontjából kiemelt jelentősége van az interendoteliális junkcióknak, a szoros kapcsolatoknak, illetve az adherens kapcsolatoknak: az áteresztőképességét elsősorban az interendoteliális kapcsolatokat alkotó fehérjék működése határozza meg. E fehérjék expressziója, membrán lokalizációja, egymással való interakciója számos megbetegedésben változhat, ezért ezek vizsgálata képezte kísérletes munkánk egyik fő tárgyát.

2. CÉLKIÜZÉSEK

A vér-agy gát fontos szerepet játszik a központi idegrendszer homeosztázisának szabályozásában, valamint különböző idegrendszeri megbetegedések patogenézisében és terápiájában egyaránt. Az agyi endotélsejtek kulcsszerepet töltenek be a vér-agy gát fő funkcióinak ellátásában, ezért munkánk nagy részében ezen sejtek vizsgálata került előtérbe. A több mint egy évtizedet átölelő munkánk során kísérleteinket néhány nagyobb, egymással azonban szorosan összefüggő témakör köré csoportosítva próbáltunk választ kapni a vér-agy gát működésének sajátosságaira fiziológiás és patológias körülmények között.

2.1. A vér-agy gát permeabilitásának szabályozásában a junkcionális fehérjék kiemelt szerepet játszanak, azonban szerepük nem korlátozódik kizárólag strukturális feladatok ellátására. A junkcionális fehérjék vizsgálata során elsősorban arra kerestünk választ, hogy az endoteliális növekedési faktor miként befolyásolja az agyi endotélsejtek junkcionális fehérjéinek expresszióját, illetve milyen morfológiai és funkcionális változásokat indukál ezekben a sejtekben. Továbbá kíváncsiak voltunk arra is, hogy az occludin expressziója csak az endotélsejtekre korlátozódik-e, vagy a vér-agy gát kialakításában szintén fontos szerepet játszó asztrociták is képesek lehetnek ezen junkcionális fehérje kifejezésére.

2.2. Céljaink között szerepelt az agyi endotélsejtekben zajló szignalizációs mechanizmusok egyes sajátosságainak feltárása is. Itt egyrészt a glutamát receptorok és transzporterek, illetve szerotonin transzporter expresszióját kívántuk megvizsgálni. Egy igen izgalmas kérdésnek bizonyult annak vizsgálata, hogy a ZO-2 junkcionális fehérje a strukturális szerep mellett képes-e jeltovábbító útvonalak aktív részese is lenni. Választ kerestünk arra is, hogy milyen G-fehérjék expresszálódnak agyi endotélsejtekben, illetve a kis G fehérjék közül a Rho valamint a kalcium milyen szerepet játszanak az endotélsejtek működésének szabályozásában.

2.3. Fontos célkitűzés volt az agyi endotélsejtek működésének feltárása patológias körülmények között. A hipoxia/reoxigenáció illetve az oxidatív stressz hatásainak vizsgálata során a paracelluláris permeabilitás növekedés mechanizmusainak és a genotoxikus hatásoknak a feltárása volt a cél. További vizsgálataink során arra kerestünk választ, hogy a hipovolémiás sokk, a dohányfüst egyes összetevői, a TLR2/6 receptor agonisták, illetve a hiperozmózis hogyan befolyásolják a junkcionális komplexum működését, és az indukált változásokat milyen jeltovábbító útvonalak közvetítik. Mivel a központi idegrendszer nem rendelkezik nyirokkeringéssel, a vér-agy gátnak fontos szerepe van rosszindulatú daganatok agyi metasztatizálásának kialakulásában is. Az egyik legnagyobb százalékban agyi metasztatizist képező daganat a melanóma, így céljaink között szerepelt a melanóma sejtek vér-agy gáton történő transzmigrációjának molekuláris szintű vizsgálata is.

3. MÓDSZEREK

Kísérleteink nagy részét in vitro modelleken végeztük, amelyek közül kiemelkedő gyakorisággal alkalmaztuk a különböző patológias folyamatok vizsgálatára adaptált in vitro vér-agy gát modellt. Ennek a modellnek az alapját az agyi endotélsejtek tenyésztése képezi. Számos molekuláris biológiai módszert (polimeráz láncreakció, valós idejű polimeráz láncreakció, géncsendesítés, Northern-blot) és fehérje vizsgálómódszert is alkalmaztunk (Western-blot, immunprecipitálás, ellenanyag-mátrix, far-Western, zimográfia, proteomikai analízis, kétdimenzionális elektroforézis Western-blottal kombinálva, foszforiláció vizsgálata, fehérje turnover meghatározása). A mikroszkópos vizsgálatok átölelnek fény- és elektronmikroszkópos, illetve atomi erő mikroszkópos vizsgálatokat. A hemorrágiás sokk vizsgálatához, amit vér-agy gát permeabilitás mérésekkel, illetve kapilláris izolálással kombináltunk, egy in vivo modellt használtunk.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Junkcionális fehérjék expressziójának sajátosságai

4.1. Munkánk során kimutattuk, hogy az endotélsejtek mellett a vér-agy gát felépítésében fontos szerepet játszó asztrociták is képesek occludint expresszálni, aminek jelenléte valószínűleg összefügg e sejtek differenciáltsági fokával. Bár az occludin asztrocitákban is elsősorban a membránban helyezkedik el, a szolubilitás vizsgálatok azt mutatták, hogy a membránhoz való kötöttségük nem azonos az endoteliális occludinéval. Később más munkák is igazolták, illetve kiegészítették megfigyeléseinket. Különösen érdekesek azok a kutatások, amelyek során kimutatták, hogy egyes központi idegrendszeri megbetegedésekben, mint amilyen az Alzheimer kór, jelentősen megnövekszik azon asztrociták száma, amelyek junkcionális fehérjét expresszálnak. Ezen túlmenően, gyulladásos mediátorok is képesek indukálni az occludin expresszióját. Mindezen eredmények ellenére az occludin asztrocitákban betöltött szerepe még tisztázásra vár.

4.2. Kimutattuk, hogy az endoteliális növekedési faktor jelentős fenotípus változást képes indukálni agyi endotélsejtekben. ECGF hiányában a sejtek orsószerű alakot vesznek fel, amely mögött az aktin filamentumok átrendeződése áll. Ezen túlmenően csökken ezen sejtek fibronektin termelése, hasonlóképpen csökken a junkcionális fehérjék expressziója és megnövekedik a sejtek metalloproteináz aktivitása. A morfológiai változásoknak funkcionális következményei is vannak: ECGF hiányában a sejtek alacsonyabb proliferációs aktivitással, viszont magasabb migrációs potenciállal rendelkeznek. Ezen változásoknak olyan fontos fiziológias és patológiás folyamatokban lehet fontos szerepe, mint a vaszkulogenezis vagy tumor progresszió.

A szignáltranszdukció sajátosságainak vizsgálata az agyi endotélsejtekben

4.3. Az endoteliális szignalizáció vizsgálata során kimutattuk, hogy az agyi endotélsejtek metabotróp, illetve ionotróp glutamát receptorokat, közöttük funkcionális NMDA receptorokat expresszálnak. Az NMDA receptorok aktiválása a CAM-PK II foszforilációjához vezet. E folyamatnak olyan megnövekedett extracelluláris glutamát koncentrációval járó folyamatokban lehet szerepe, mint amilyen az agyi iszkémia. Bár vannak olyan kísérletek, amelyekben nem sikerült a glutamát szerepét kimutatni, egyre több adat utal a glutamát szabályozó szerepére agyi endotélsejtekben. Így például a glutamát NMDA receptoron keresztül képes oxidatív stresszt kiváltani, hozzájárulva a barrier diszfunkcióhoz és a leukocita adhézióhoz. Ezen túlmenően az NR1 receptorok szabályozzák a t-PA által indukált agyi endoteliális szignalizációt, és szerepet játszanak a monocita transzmigrációban is.

Felismertük, hogy a glutamát receptorok mellett az agyi endotélsejtek glutamát transzportereket is képesek expresszálni, ami arra utal, hogy e sejtek fontos szerepet tölthetnek be az extracelluláris glutamát koncentráció szabályozásában. Kimutattuk továbbá, hogy az agyi endotélium aktív szerotonin transzporterrel is rendelkezik.

4.4. A különböző receptorok aktiválása számos intracelluláris jeltovábbító folyamatot indít el, és ezek igen fontos elemei a G-fehérjék. Ez vezetett minket arra, hogy megvizsgáljuk, hogy az agyi endotélsejtek milyen G-fehérjéket expresszálnak. A G_{α} , $G_{i1\alpha}$, $G_{i2\alpha}$, $G_{i3\alpha}$, $G_{q/11\alpha}$ és $G_{0\alpha}$ expressziójának igazolása mellett kísérleteink rávilágítottak arra is, hogy a klasszikus G fehérjék mellett, az endoteliális szabályozásban fontos szerepet játszhat a Rho. Kimutattuk, hogy az alacsony Ca^{2+} koncentráció által indukált junkcionális károsodás mediálásában fontos szerepet játszik a Rho-kináz.

4.5. Munkánk egyik legizgalmasabb része a ZO-2 fehérje vizsgálata volt. A ZO-2 a szoros kapcsolatok egyik klasszikus alkotóeleme, amelyről úgy gondolták, hogy elsősorban strukturális feladatokat lát el. Munkánk során kimutattuk, hogy a ZO-2 képes a magba vándorolni, és ott kapcsolódni a SAF-B nevű nukleáris fehérjével. A ZO-2 magban való felszaporodását elősegíthetik olyan stressz faktorok, mint a magas hőmérséklet vagy nehézfémek (kadmium). A nukleáris ZO-2 szerepének vizsgálatára olyan sejtvonalat hoztunk létre, amelyben megnövekszik a magokban levő ZO-2 mennyisége. A ZO-2 magban történő expresszáltatása következtében megnövekedett az M2 típusú piruvát kináz mennyisége, amely a piruvát kináznak egy olyan izoformája, amelyik nagy mennyiségben fordul elő daganatos sejtekben. Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a megnövekedett M2-PK a ZO-2-t magban expresszáló sejtekben magasabb proliferációs rátával társult,

azonban a ZO-2-nek az M2-PK szabályozásában betöltött közvetlen szerepe még tisztázásra vár. A megnövekedett proliferációval párhuzamosan destabilizálódtak a szoros kapcsolatok, amit a junkcionális fehérjék lokalizációjának változása és a csökkent TEER jelzett. Eredményeink egyértelműen kimutatták, hogy a ZO-2 strukturális feladatok ellátása mellett fontos szerepet játszik a jeltovábbításban és a génexpresszió szabályozásában is. Ezt támasztják alá más kutatások is, amelyek során kimutatták, hogy a ZO-2 elsősorban a PDZ doménjein keresztül más nukleáris fehérjékkel is képes kapcsolódni. Ilyen a YAP2 (Yes kinase-associated protein 2), a ZASP és a TAZ. A számos azonosított nukleáris fehérje ellenére, amelyekhez a ZO-2 kapcsolódni képes, a nukleáris ZO-2 pontos élettani szerepe nem kellően ismert még.

Az agyi endotélsejtek patológiás körülmények között: extracelluláris stressz faktorok hatása

Mivel a vér-agy gát a központi idegrendszer védvonalának egyik legelső eleme, számos stresszfaktor hatásának van kitéve, ami a vér-agy gát működésének zavarához vezethet, és ez súlyos következményekkel járhat a központi idegrendszer számára. Kísérleteink során arra a kérdésre kerestünk választ, hogy különböző stressztényezők, mint amilyen az oxidatív stressz, a hipovolémiás sokk vagy az ozmotikus stressz miként hatnak az agyi endotélsejtekre. Ezen túlmenően megvizsgáltuk daganatos sejtek és az agyi endotélsejtek közötti kölcsönhatás mechanizmusának néhány elemét is. Mivel a vér-agy gát részletes biokémiai vizsgálata in vivo csak korlátozottan lehetséges, elsősorban in vitro kísérleteket végeztünk, amelyekhez primér agyi endotélsejt tenyészeteket, illetve agyi endotélsejt vonalakat használtunk. Ezek a sejtek tenyészetben is megőrzik in vivo jellegzetességeiket, mint a vonWillebrand faktor expressziója, junkcionális fehérjék expressziója vagy efflux transzporterek expressziója.

4.6. Munkánk során megvizsgáltuk a hipoxia/reoxigenáció, illetve az oxidatív stressz agyi endotélsejtekre gyakorolt hatásának különböző aspektusait. Kísérleteink során fény derült arra, hogy az oxidatív stressz által okozott permeabilitás növekedés molekuláris hátterében az interendoteliális kapcsolatokat alkotó fehérjék változásai állnak: csökken az occludin mennyisége, és károsodnak a junkcionális fehérjék közötti kapcsolatok is, mint amilyen a cadherin-catenin kapcsolat. A változások még kifejezettebbek, ha az oxidatív stressz alacsony glükóz szinttel társul. Kimutattuk, hogy a hipoxia által agyi endotélsejtekben aktivált jeltovábbító rendszerek között szerepel az ERK1/2 MAP kináz útvonal.

4.7. In vivo kísérleteinkkel bebizonyítottuk, hogy a hipoxia/reoxigenációhoz hasonlóan a hipovolémiás sokk is a vér-agy gát permeabilitásának fokozódásához vezet, elsősorban annak dekompenzált stádiumában. A permeabilitás elsősorban a kis molekulásúlyú anyagokkal szemben növekedett, ami arra utal, hogy elsősorban a paracelluláris permeabilitás nő meg. A folyamat hátterében itt is az occludin interendoteliális junkciókból való eltűnése áll. Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a vérzéses sokk terápiája során érdemes figyelmet fordítani a vér-agy gát működésére, mivel a megnövekedett permeabilitás könnyen felboríthatja a központi idegrendszer hoemosztázisát, és súlyosbíthatja a betegség lefolyását.

4.8. A Toll-szerű receptorok expressziójának vizsgálata során kimutattuk, hogy az agyi endotélsejtek elsősorban TLR2-t, TLR3-at, TLR4-et és TLR6-ot expresszálnak. Az oxidatív stressz és a gyulladásos folyamatok közötti szoros kapcsolatra mutat rá megfigyelésünk, miszerint az oxidatív stressz növeli a TLR2, TLR3, TLR4 és TLR6 expresszióját. Ezen túlmenően kimutattuk, hogy a TLR2/6 agonista zymosan képes saját receptorainak expresszióját fokozni. A TLR2/6 receptorok aktiválása növeli az endotél rétegek permeabilitását is. E jelenséget magyarázhatja a zymosan sejt-sejt kapcsolatokra kifejtett hatása: a kezelés eredményeképpen a szoros kapcsolatok két transzmembrán alkotóelemének, az occludinnak és a claudin-5-nek a mennyisége is csökken a sejtekben, és a fehérjék számos helyen eltűnnek a sejt-kapcsoló szerkezetek területéről. Az occludin esetében bekövetkezett változásokat kivédi az U0126 nevű ERK1/2 kináz gátlószer, míg a claudin-5 eltűnését NF- κ B gátlószerrel (PDTC) és U0126-tal sem sikerült megakadályozni. Oxidatív stresszel kombinálva a zymosan még kifejezettebb változásokat okoz: a kettős kezelés hatására fokozódott az occludin mennyiségének csökkenése és a fehérje teljes mértékben eltűnt a szoros kapcsolatok területéről. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a Toll-szerű receptorok az agyi endotélsejtekben is szerepet játszhatnak az oxidatív stressz által kiváltott sejt-károsító hatások közvetítésében.

4.9. Összefüggést mutattunk ki az oxidatív stressz és a dohányfüst egyes alkotóelemeinek hatása között is. Önmagában úgy a nikotin, mint a policiklusos aromás szénhidrogének csak nagy

koncentrációban és hosszan tartó kezelés esetén károsítják az interendoteliális junkciókat, ám ez a károsító hatás fokozottabb, ha dohányfüst fő alkotóelemei mellett a sejtek oxidatív stressznek is ki vannak téve. További, proteomikai vizsgálataink során azt találtuk, hogy a cigarettafüst komponensei elsősorban metabolikus enzimek, sokk indukálta fehérjék, illetve szignalizációs fehérjék expresszióját változtatják. Kísérletsorozatunk eredményei arra utalnak, hogy a cigarettafüst komponensei nem okoznak közvetlen, akut változásokat az agyi endotélsejtek működésében, azonban hosszan tartó hatás, különösen oxidatív stresszel társulva jelentős károsodásokat okozhat a vér-agy gát működésében. Munkánk hozzájárul a dohányzással kapcsolatos kockázatok felbecsüléséhez neurológiai megbetegedések, különösen agyi iszkémia esetén.

4.10. A vér-agy gát működésére irányuló vizsgálataink során több esetben is kiderült, hogy az occludin mennyisége csökken agyi endotélsejtekben patológiás körülmények között. Lebontási mechanizmusainak vizsgálata során kimutattuk, hogy az occludin kötődni képes az itch nevű ubiquitin ligázhoz, amelynek következtében az occludin ubiquitinálódhat – ami a proteasóma számára egy lebontási szignált jelent. Az occludin turnover is igen gyorsnak bizonyult egy transzmembrán fehérjéhez képest: a teljes occludin mennyiség kicserélődött mintegy 3 óra alatt. Később más kutatások is megerősítették az occludin proteasomális lebontásának jelentőségét például irritábilis colon szindrómában.

4.11. A junkcionális károsodások mellett a hipoxia/oxidatív stressz genotoxikus károsodásokat is okozhat, még mielőtt a sejtek viabilitása csökkenne: szignifikánsan megnő a mikronukleuszok, a kromoszómális aberrációk és az apoptotikus sejtek száma, és csökken az endotélsejtek proliferációs rátája. Ha az oxidatív stresszhez glükóz hiánya is társult, az apoptotikus sejtszám növekedése még kifejezettebb válik. Kimutattuk, hogy oxidatív stressz hatására megnő a p53 fehérje expressziója, ami még tovább fokozódik, ha az oxidatív stresszt glükóz mentes körülmények között alkalmazzuk.

4.12. Az asztrociták is érzékenyek hipoxia/reoxigenációra, de endotélsejtekkel összehasonlítva azt tapasztaltuk, hogy kontroll körülmények között az asztrocitákban kisebb a mikronukleuszos, apoptózis és mitotikus sejtek száma. Bár a hipoxia/reoxigenáció fokozta az apoptotikus és mikronukleuszos sejtek számát, ez az érték alacsonyabb az endotélsejtekben hasonló körülmények között észlelténél. E jelenség magyarázata az asztrocitákban igen effektíven működő glutation redox rendszer, illetve magas a mangán szuperoxid diszmutáz és a kataláz aktivitás lehet. Az asztrociták szoros kölcsönhatásban vannak a velük szomszédos sejtekkel, és ennek szerepe lehet a neurovaszkuláris egység oxidatív stresszel szembeni ellenállóképességének kialakításában. Így például kimutatták, hogy az asztrociták javítják az agyi endotélsejtek oxidatív stresszel szembeni védekező képességét, és fontos szerepet játszanak a neuronoknak a védekezéshez szükséges prekursor molekulákkal való ellátásában, mint amilyenek a glutation prekursorok. Eredményeink alátámasztják az asztroglia jelentős szerepét az agy védekező mechanizmusainak kialakításában.

4.13. Mivel klinikumban alkalmazott módszer a vér-agy gát reverzibilis megnyitására, megvizsgáltuk a hiperozmotikus stressz hatását is. Eredményeink alapján a mannitollal kiváltott hiperozmotikus stressz igen erőteljes tirozin foszforilációt indukál agyi endotélsejtekben. A foszforiláció általunk azonosított célfehérjei a β -catenin, illetve az Axl receptor tirozin kináz. A β -catenin tirozin foszforilációja a cadherintől való disszociációjához és redisztribúciójához vezet. A folyamat egyik mediátora kísérleteink eredményei alapján az Src-kináz. Mivel a β -catenin a junkcionális komplexum egyik fontos alkotóeleme, Src mediálta foszforilációja szerepet játszhat a mannitol indukálta reverzibilis vér-agy gát megnyílásban. Hiperozmotikus mannitol hatására tirozin foszforilálódik és ezáltal aktiválódik az Axl-t is. Kimutattuk, hogy az Axl az Akt-on keresztül fejt ki hatását, és szerepe van az agyi endotélsejtek apoptózisának szabályozásában. Aktiválódás mellett azonban az Axl le is bomlik, amelynek révén két 50-55 kDa C-terminális peptid keletkezik. Kimutattuk, hogy a lebomlás két lépcsőben megy végbe, az első lépésben metalloproteinázok hasítják az Axl, amit egy proteasóma függő lépés követ. Kimutattuk, hogy az Axl foszforilációja és lebontása egymástól független folyamatok. Mivel az Axl más sejtekben igen jelentős celluláris folyamatokat szabályoz, e tirozin kináz vizsgálata agyi endotélsejtekben is ígéretes.

4.14. A vér-agy gát - tekintettel arra, hogy a központi idegrendszer nem rendelkezik nyirokkeringéssel - meghatározó szerepet játszik rosszindulatú daganatok agyi metasztázisainak kialakulásában. Mivel a daganatos sejtek transzmigrációjára vonatkozóan kevés adat áll rendelkezésre, megvizsgáltuk, hogy az egyik legnagyobb százalékban agyi metasztázist képző tumor, a melanóma sejtei miként vándorolnak át a vér-agy gáton. Kimutattuk, hogy az adhéziót követően a melanóma

sejtek képesek átvándorolni az agyi endotélsejt rétegeken, és ezen folyamat során az interendoteliális kapcsolatok sérülnek. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a vándorlás paracellulárisan, az endotélsejtek között (is) történhet. A transzmigráció során a melanóma sejtek jelentős mennyiségű proteázt szabadítottak fel, amelyek közül nekünk a szepráz nevű szerin-proteázt sikerült azonosítanunk.

5. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

Munkánk elsősorban alapkutatási jellegű volt, amelynek fő célja a vér-agy gát működésének molekuláris szintű megértése volt. Kísérleteink tervezésénél azonban fontos szempont volt, hogy a kísérleti körülmények valamilyen in vivo folyamatot tükrözzenek, mint amilyen az agyi hipoxia vagy gyulladásos megbetegedések. Így, ha nem is várható eredményeinknek azonnali klinikai hasznosítása, a feltárt mechanizmusok alapjául szolgálhatnak új terápiás stratégiák kidolgozásához.

A junkcionális fehérjék szabályozása egy sikerrel kecsegtető célpont lehet. Az occludin fokozott proteaszomális lebontása például jelentős szerepet játszik az irritábilis colon szindróma kialakulásában, így célszerűnek tűnik a folyamat gátlásának megkísérlése ebben a kórképpben. Eredményeink ugyanakkor rámutatnak, hogy vérzéses sokkban, vagy a központi idegrendszer gyulladásos megbetegedéseinek terápiája során is érdemes figyelmet szentelni a vér-agy gát integritásának védelmére. Különösen érdekes lehet az Axl mint terápiás célpont, hiszen olyan fontos celluláris folyamatokban vesz részt, mint a sejtmigráció. Ezen a területen gyógyszerfejlesztő céggel együttműködve teszteljük az Axl inhibitorok lehetséges alkalmazását.

Reményeink szerint a melanóma agyi metasztatizái kialakulásának gátlásában lehet hasznosítani az általunk feltárt proteolitikus mechanizmusokat, különös tekintettel a szeprázra. Specifikus szepráz inhibitorok – amelyek fejlesztése irodalmi ismereteink szerint folyamatban van – szükségesek az elképzelések alátámasztásához.

A vér-agy gátat érintő különböző patológiás folyamatok vizsgálatára adaptált in vitro vér-agy gát modell a gyógyszeripar érdeklődésére is számot tarthat. A modell alkalmas különböző farmakonok és a vér-agy interakcióinak vizsgálatára, mint például: gyógyszerjelöltek permeabilitást befolyásoló hatása, illetve a vér-agy gáton való átjutásának közepes áteresztőképességű tesztelése, efflux transzporterekkel való kölcsönhatása, és az agyi metasztatizisképzés illetve daganatos sejtek endoteliális adhéziójának vizsgálata. Ezeken a területeken aktív együttműködést is folytatunk biotechnológiai cégekkel.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A tudományos kutatás ma már alapvetően csapatmunka, ezért ezúton is szeretném kifejezni köszönetemet és hálámat minden kollégának, akivel kutatómunkám során együtt dolgoztam.

Köszönettel tartozom egykori tanárainknak, elsősorban dr. Módy Jenő professzornak, aki diákkörös koromban a természettudományos gondolkodással, és a megismerés örömeivel megismertetett.

Szerencsésnek mondhatom magam, hogy a néhai Dr. Joó Ferenc irányítása alatt kezdhettem meg kutatómunkámat, aki a vér-agy gát rejtelsei mellett betekintést engedett a tudományos élet kulisszatitkaiba is.

Szeretném megköszönni a szakmai és sokszor emberi segítséget közvetlen munkatársaimnak, elsősorban Dr. Deli Máriának, NTK Dúngnak, Dr. Farkas Attilának, Dr. Wilhelm Imolának, Dr. Nagyörszi Péternek, Fazakas Csillának, Haskó Jánosnak, Molnár Juditnak.

Köszönettel tartozom Dr. Ormos Pál akadémikusnak, aki a Biofizikai Intézet igazgatójaként támogatta a neurobiológusok, és ezáltal az én munkámat is, valamint Dr. Párducz Árpádnak és Dr. Siklós Lászlónak.

Hálás vagyok Dr. Joachim Wolff professzornak, aki mindig nagyvonalúan támogatta tudományos törekvéseimet, valamint Dr. Hans-Christian Bauer professzornak és Dr. Hannelore Bauernak, akik laboratóriumában töltöttem posztdoktori éveimet, és akikhez a mai napig szoros szakmai és baráti kötelékek fűznek.

Szeretném megköszönni családom minden tagjának a szeretetet és a támogatást, hogy megértően viselték a kutatómunkával járó távolléteket. Nélkülük ez a munka aligha jöhetett volna létre.

7. FÜGGELÉK

A dolgozatban felhasznált közlemények

1. Fabian G, Szabo CA, Bozo B, Greenwood J, Adamson P, Deli MA, Joo F, Krizbai IA, Szucs M. Expression of G-protein subtypes in cultured cerebral endothelial cells. NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL 33:(2) pp. 179-185. (1998)
IF1998: 1,781 Független idéző: 12 Függő idéző: 8 Összesen: 20

2. Krizbai IA, Deli MA, Pestenacz A, Siklos L, Szabo CA, Andras I, Joo F. Expression of glutamate receptors on cultured cerebral endothelial cells. JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH 54:(6) pp. 814-819. (1998)
IF1998: 2,874 Független idéző: 78 Függő idéző: 2 Összesen: 80

3. Bauer H, Stelzhammer W, Fuchs R, Weiger TM, Danninger C, Probst G, Krizbai IA. Astrocytes and neurons express the tight junction-specific protein occludin in vitro. EXPERIMENTAL CELL RESEARCH 250:(2) pp. 434-438. (1999)
IF1999: 3,256 Független idéző: 24 Függő idéző: 1 Összesen: 25

4. Brust P, Friedrich A, Krizbai IA, Bergmann R, Roux F, Ganapathy V, Johannsen B. Functional expression of the serotonin transporter in immortalized rat brain microvessel endothelial cells. JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY 74:(3) pp. 1241-1248. (2000)
IF2000: 4,900 Független idéző: 21 Függő idéző: 4 Összesen: 25

5. Krizbai IA, Bauer H, Amberger A, Hennig B, Szabo H, Fuchs R, Bauer HC. Growth factor-induced morphological, physiological and molecular characteristics in cerebral endothelial cells. EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY 79:(9) pp. 594-600. (2000)
IF2000: 2,801 Független idéző: 16 Függő idéző: 3 Összesen: 19

6. Traweger A, Fang D, Liu YC, Stelzhammer W, Krizbai IA, Fresser F, Bauer HC, Bauer H. The tight junction-specific protein occludin is a functional target of the E3 ubiquitin-protein ligase itch. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 277:(12) pp. 10201-10208. (2002)
IF2002: 6,696 Független idéző: 79 Függő idéző: 5 Összesen: 84

7. Bresgen N, Karlhuber G, Krizbai I, Bauer H, Bauer HC, Eckl PM. Oxidative stress in cultured cerebral endothelial cells induces chromosomal aberrations, micronuclei, and apoptosis. JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH 72:(3) pp. 327-333. (2003)
IF2003: 3,374 Független idéző: 21 Függő idéző: 6 Összesen: 27

8. Krizbai IA, Deli MA. Signalling pathways regulating the tight junction permeability in the blood-brain barrier. CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY 49:(1) pp. 23-31. (2003)
IF2003: 1,153 Független idéző: 23 Függő idéző: 10 Összesen: 33

9. Traweger A, Fuchs R, Krizbai IA, Weiger TM, Bauer HC, Bauer H. The tight junction protein ZO-2 localizes to the nucleus and interacts with the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein scaffold attachment factor-B. JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 278:(4) pp. 2692-2700. (2003)
IF2003: 6,482 Független idéző: 69 Függő idéző: 4 Összesen: 73

10. Farkas A, Szatmari E, Orbok A, Wilhelm I, Wejksza K, Nagyoszi P, Hutamekalin P, Bauer H, Bauer HC, Traweger A, Krizbai IA. Hyperosmotic mannitol induces Src kinase-dependent phosphorylation of beta-catenin in cerebral endothelial cells. JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH 80:(6) pp. 855-861. (2005)

IF2005: 3,239 Független idéző: 7 Függő idéző: 3 Összesen: 10

11. Krizbai IA, Lenzser G, Szatmari E, Farkas AE, Wilhelm I, Fekete Z, Erdos B, Bauer H, Bauer HC, Sandor P, Komjati K. Blood-brain barrier changes during compensated and decompensated hemorrhagic shock. SHOCK 24:(5) pp. 428-433. (2005)

IF2005: 3,122 Független idéző: 9 Függő idéző: 1 Összesen: 10

12. Krizbai IA, Bauer H, Bresgen N, Eckl PM, Farkas A, Szatmari E, Traweger A, Wejksza K, Bauer HC. Effect of oxidative stress on the junctional proteins of cultured cerebral endothelial cells. CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY 25:(1) pp. 129-139. (2005)

IF2005: 2,022 Független idéző: 41 Függő idéző: 5 Összesen: 46

13. Bresgen N, Jaksch H, Bauer HC, Eckl P, Krizbai I, Tempfer H. Astrocytes are more resistant than cerebral endothelial cells toward geno- and cytotoxicity mediated by short-term oxidative stress. JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH 84:(8) pp. 1821-1828. (2006)

IF2006: 3,476 Független idéző: 1 Összesen: 1

14. Balint Z, Krizbai IA, Wilhelm I, Farkas AE, Parducz A, Szegletes Z, Varo G. Changes induced by hyperosmotic mannitol in cerebral endothelial cells: an atomic force microscopic study. EUROPEAN BIOPHYSICS JOURNAL WITH BIOPHYSICS LETTERS 36:(2) pp. 113-120. (2007)

IF2007: 2,238 Független idéző: 3 Függő idéző: 4 Összesen: 7

15. Wilhelm I, Farkas AE, Nagyoszi P, Varo G, Balint Z, Vegh GA, Couraud PO, Romero IA, Weksler B, Krizbai IA. Regulation of cerebral endothelial cell morphology by extracellular calcium. PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY 52:(20) pp. 6261-6274. (2007)

IF2007: 2,528 Független idéző: 3 Függő idéző: 6 Összesen: 9

16. Hutamekalin P, Farkas AE, Orbok A, Wilhelm I, Nagyoszi P, Veszelka S, Deli MA, Buzas K, Hunyadi-Gulyas E, Medzihradszky KF, Meksuriyen D, Krizbai IA. Effect of nicotine and polyaromatic hydrocarbons on cerebral endothelial cells. CELL BIOLOGY INTERNATIONAL 32:(2) pp. 198-209. (2008)

IF2008: 1,619 Független idéző: 5 Függő idéző: 4 Összesen: 9

17. Traweger A, Lehner C, Farkas A, Krizbai IA, Tempfer H, Klement E, Guenther B, Bauer HC, Bauer H. Nuclear Zonula occludens-2 alters gene expression and junctional stability in epithelial and endothelial cells. DIFFERENTIATION 76:(1) pp. 99-106. (2008)

IF2008: 3,180 Független idéző: 13 Függő idéző: 2 Összesen: 15

18. Wilhelm I, Nagyoszi P, Farkas AE, Couraud PO, Romero IA, Weksler B, Fazakas C, Dung NTK, Bottka S, Bauer H, Bauer HC, Krizbai IA. Hyperosmotic stress induces Axl activation and cleavage in cerebral endothelial cells. JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY 107:(1) pp. 116-126. (2008)

IF2008: 4,500 Független idéző: 2 Függő idéző: 3 Összesen: 5

19. Nagyoszi P, Wilhelm I, Farkas AE, Fazakas C, Dung NTK, Hasko J, Krizbai IA. Expression and regulation of toll-like receptors in cerebral endothelial cells. NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL 57:(5) pp. 556-564. (2010)
IF2010: 3,601 Független idéző: 1 Függő idéző: 2 Összesen: 3

20. Bauer HC, Traweger A, Zweimueller-Mayer J, Lehner C, Tempfer H, Krizbai I, Wilhelm I, Bauer H. New aspects of the molecular constituents of tissue barriers. JOURNAL OF NEURAL TRANSMISSION 118:(1) pp. 7-21. (2011)
IF2010: 2,597 Független idéző: 2 Függő idéző: 2 Összesen: 4

21. Fazakas C, Wilhelm I, Nagyoszi P, Farkas AE, Hasko J, Molnar J, Bauer H, Bauer HC, Ayaydin F, Dung NTK, Siklos L, Krizbai IA. Transmigration of melanoma cells through the blood-brain barrier: role of endothelial tight junctions and melanoma-released serine proteases. PLOS ONE 6:(6) Paper e20758. (2011)
IF2010: 4,411

22. Lehner C, Gehwolf R, Tempfer H, Krizbai I, Hennig B, Bauer HC, Bauer H. Oxidative stress and blood-brain barrier dysfunction under particular consideration of matrix metalloproteinases. ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING 15:(5) pp. 1-19. (2011)
IF2010: 8,209 Független idéző: 7 Függő idéző: - Összesen: 7

23. Wilhelm I, Fazakas C, Krizbai IA. In vitro models of the blood-brain barrier. ACTA NEUROBIOLOGIAE EXPERIMENTALIS 71:(1) pp. 113-128. (2011)
IF2010: 1,533

ΣIF = 79,592

A témához kapcsolódó, a dolgozatban fel nem használt közlemények

1. Deli MA, Joo F, Krizbai I, Lengyel I, Nunzi MG, Wolff JR. Calmodulin/calmodulin-stimulated protein kinase II is present in primary cultures of cerebral endothelial cells. JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY 60: pp. 1960-1963. (1993)
IF1993: 4,223 Független idéző: 12 Függő idéző: 18 Összesen: 30

2. Krizbai I, Deli MA, Lengyel I, Maderspach K, Pakaski M, Joo F, Wolff JR. In situ hybridization with digoxigenin labelled oligonucleotide probes: detection of CAMK-II gene expression in primary cultures of cerebral endothelial cells. NEUROBIOLOGY 1: pp. 235-240. (1993)
Független idéző: 3 Összesen: 3

3. Krizbai I, Szabó G, Deli M, Maderspach K, Lehel C, Oláh Z, Wolff JR, Joó F. Expression of protein kinase C family members in the cerebral endothelial cells. JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY 65: pp. 459-462. (1995)
IF1995: 4,852 Független idéző: 25 Függő idéző: 7 Összesen: 32

4. Szabo CA, Krizbai I, Deli MA, Abraham CS, Joo F. Receptor-mediated regulation by histamine of the acid phosphatase activity in cultured cerebral endothelial cells. INFLAMMATION RESEARCH 45:(Suppl. 1) pp. S60-S61. (1996)
IF1996: 2,231 Függő idéző: 4 Összesen: 4

5. Szabo CA, Krizbai I, Deli MA, Abraham CS, Joo F. Effects of histamine on the acid phosphatase activity of cultured cerebral endothelial cells. In: COURAUD PO, SCHERMAN D (szerk.) BIOLOGY AND PHYSIOLOGY OF THE BLOOD-BRAIN BARRIER: TRANSPORT, CELLULAR INTERACTIONS, AND BRAIN PATHOLOGIES. New York ; London: Plenum Press, 1996. pp. 241-243. (ISBN:978-0306453625)

6. Kis B, Szabó CA, Pataricza J, Krizbai IA, Mezei Zs, Gecse Á, Telegdy Gy, Papp JGy, Deli MA. Vasoactive Substances Produced by Cultured Rat Brain Endothelial Cells. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY 368:(1) pp. 35-42. (1999)
IF1999: 2,047 Független idéző: 12 Függő idéző: 18 Összesen: 30

7. Veszélka S, Pásztói M, Farkas AE, Krizbai I, Ngo TK, Niwa M, Abrahám CS, Deli MA. Pentosan polysulfate protects brain endothelial cells against bacterial lipopolysaccharide-induced damages. NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL 50:(1) pp. 219-228. (2007)
IF2007: 2,975 Független idéző: 18 Függő idéző: 8 Összesen: 26

8. Vajda S, Bartha K, Wilhelm I, Krizbai IA, Adam-Vizi V. Identification of protease-activated receptor-4 (PAR-4) in puromycin-purified brain capillary endothelial cells cultured on Matrigel. NEUROCHEMISTRY INTERNATIONAL 52:(6) pp. 1234-1239. (2008)
IF2008: 3,228 Független idéző: 2 Összesen: 2

9. Vegh AG, Fazakas C, Nagy K, Wilhelm I, Krizbai IA, Nagyoszi P, Szegletes Z, Varo G. Spatial and temporal dependence of the cerebral endothelial cells elasticity. JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION 24:(3 (Sp. Iss. SI)) pp. 422-428. (2011)
IF2010: 2,286

10. Sziraki I, Erdo F, Beery E, Molnar PM, Fazakas C, Wilhelm I, Makai I, Kis E, Heredi-Szabo K, Abonyi T, Krizbai I, Toth GK, Krajcsi P. Quinidine as an ABCB1 Probe for Testing Drug Interactions at the Blood-Brain Barrier: An In Vitro In Vivo Correlation Study. J BIOMOL SCREEN.;16:(8) pp. 886-94. (2011)
IF2010: 2,500

11. Glavinas H, von Richter O, Vojnits K, Mehn D, Wilhelm I, Nagy T, Janossy J, Krizbai I, Couraud P, Krajcsi P. Calcein assay: a high-throughput method to assess P-gp inhibition. XENOBIOTICA 41:(8) pp.:712-9. (2011)
IF2010: 2,707

Egyéb közlemények

1. Pestean A, Krizbai I, Bottcher H, Párducz Á, Joó F, Wolff JR. Identification of the Ulex europaeus agglutinin-I-binding protein as a unique glycoform of the neural cell adhesion molecule in the olfactory sensory axons of adult rats. NEUROSCIENCE LETTERS 195:(2) pp. 117-120. (1995)

IF: 2,318 Független idéző: 16 Függő idéző: 2 Összesen: 18

2. Krizbai I, Joo F, Pestean A, Preil J, Botcher H, Wolff JR. Localization and biochemical characterization of acid phosphatase isoforms in the olfactory system of adult rats. NEUROSCIENCE 76:(3) pp. 799-807. (1997)

IF1997: 3,594 Független idéző: 5 Összesen: 5

3. Nemeth L, Szabo CA, Deli MA, Kovacs J, Krizbai IA, Abraham CS, Joo F. Intracarotid histamine administration results in dose-dependent vasogenic brain oedema formation in newborn pigs. INFLAMMATION RESEARCH 46:(Suppl. 1) pp. S45-S46. (1997)

IF1997: 1,773 Függő idéző: 4 Összesen: 4

4. Szabo CA, Deli MA, Nemeth L, Krizbai I, Kovacs J, Abraham CS, Joo 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. New York: Plenum Publishing Corporation, 1997. pp. 479-483. (ISBN:978-0306457050)

5. Nemeth L, Szabo CA, Deli MA, Kovacs J, Krizbai IA, Abraham CS. Cerebral microvascular acid phosphatase isoenzymes may contribute to the histamine-induced changes in the blood-brain barrier permeability. NEUROSCIENCE RESEARCH COMMUNICATIONS 24:(3) pp. 125-133. (1999)

IF1999: 0,989 Függő idéző: 2 Összesen: 2

6. Wolff JR, Liu WL, Bottcher H, Krizbai I, Joó F, Saftig P, Párducz Á. Non-conventional role of lysosomal acid phosphatase in olfactory receptor axons: colocalization with growth-associated phosphoprotein-43. NEUROSCIENCE 79:(3) pp. 887-891. (1997)

IF1997: 3,594 Független idéző: 3 Összesen: 3

7. Krizbai IA, Katarova Z, Szabó G, Párducz Á, Wolff JR. Modulation of the truncated GAD25 by estrogen in the olfactory bulb of adult rats. NEUROREPORT 11: pp. 791-794. (2000)

IF2000: 2,696 Független idéző: 4 Függő idéző: 1 Összesen: 5

8. Pardutz A, Krizbai IA, Multon S, Vecsei L, Schoenen J. Systemic nitroglycerin increases nNOS levels in rat trigeminal nucleus caudalis. NEUROREPORT 11:(14) pp. 3071-3075. (2000)

IF2000: 2,696 Független idéző: 53 Függő idéző: 15 Összesen: 68

9. Webersinke G, Bauer HC, Danninger C, Krizbai IA, Schittny JC, Thalhamer J, Bauer H. Use of genetically modified glial cells overexpressing laminin alpha 1-chain peptides in neurite outgrowth studies. CELLULAR AND MOLECULAR NEUROBIOLOGY 20:(6) pp. 605-621. (2000)

IF2000: 2,093 Független idéző: 1 Összesen: 1

10. Letoha T, Somlai C, Takacs T, Szabolcs A, Jarmay K, Rakonczay Jr Z, Hegyi P, Varga I, Kaszaki J, Krizbai I, Boros I, Duda E, Kusz E, Penke B. A nuclear import inhibitory peptide ameliorates the severity of cholecystokinin-induced acute pancreatitis. WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 11:(7) pp. 990-999. (2005)

Független idéző: 16 Függő idéző: 8 Összesen: 24

11. Szabo H, Novak Z, Farkas A, Krizbai I. Gyulladásos mediatorok indukálta proteolitikus aktivitás szabályozása légúti epitelsejtekben. ALLERGOLOGIA ES KLINIKAI IMMUNOLOGIA 8: pp.192-196 (2005)

12. Szabo H, Novak Z, Bauer H, Szatmari E, Farkas A, Wejksza K, Orbok A, Wilhelm I, Krizbai IA. Regulation of proteolytic activity induced by inflammatory stimuli in lung epithelial cells. CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY 51:(Suppl. S) pp. OL729-OL735. (2005)

IF2005: 1,018 Független idéző: 3 Összesen: 3

Össz IF: 127,412

Független idézetek: 610