

Az ischaemiás-reperfúziós agyi károsodás korai fázisának vizsgálata szövettani, neurokémiai és funkcionális módszerekkel

Doktori tézisek

Benedek Angéla

Semmelweis Egyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Mátyus Péter, tanszékvezető egyetemi tanár, D.Sc.

Konzulens: Dr. Szénási Gábor, biológiai tudományok kandidátusa,

Hivatalos bírálók:

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Gyires Klára, tanszékvezető egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kecskeméti Valéria, egyetemi tanár

Dr. Perjési Pál, tanszékvezető, egyetemi tanár

Budapest

2008

Összefoglaló

Témavezető: Dr. Mátyus Péter MTA doktor, egyetemi tanár
Semmelweis Egyetem, Szerves Vegytani Intézet
Gyógyszertudományok Doktori Iskola

A stroke gyógyszeres kezelésére eddig tett erőfeszítések kudarca részben azzal magyarázható, hogy egy klinikai vizsgálat elindításához elegendő és megfelelően alátámasztott állatkísérletes adatok köre nehezen körvonalazható. Kísérleteink során arra kerestük a választ, hogy a preklinikai gyakorlatban alkalmazott néhány módszer mennyire pontosan tükrözi az ischaemiás-reperfúziós (IR) károsodás mértékét. Az EGIS Gyógyszergyár Preklinikai Kutatási főosztályán az IR agyi károsodást 1 órás középső agyi artéria elzárást követő különböző reperfúziós idő elteltével trifenil-tetrazólium klorid (TTC) festéssel és szövettanilag vizsgáltuk patkányban. A TTC festéssel elhaltak tartott agyrégiók idegműködését radioaktívan jelzett dopamin segítségével mértük corticostriatális agyszeletben, *in vitro*. A stroke-os állatok szenzomotoros károsodását 4 ismert neurológiai skála alapján értékeltük, és a gerendán való egyensúlyozás (beam balance), a lépéshiba (foot fault), és a lokomotoros aktivitás tesztekkel egészítettünk ki.

Az intrakardiális perfúzióval és az agyszeletben elvégzett TTC festés eredménye mind az agykéregben és a striatumban, mind a core és a penumbra tekintetében szignifikánsan különbözött egymástól. Az intrakardiális TTC perfúzió után az elhaltak tekinthető agyszövet térfogata a reperfúzió korai időszakában átmenetileg lecsökkent. 24 órás reperfúziós időnél a TTC festéssel nekrotikus agyszövetben az asztrociták elpusztultak, de a kiterjedt károsodás ellenére számos morfológiailag ép idegsejt, az EM képen ép mitokondriumok is láthatók voltak. A szöveti dopamin tartalom lecsökkent, és a dopamin turnover megnőtt az agykéregben és a striatumban, de a dopaminerg idegvégződések részben megtartották működésüket. A neurológiai skálák hasonló súlyosságúnak mérték a stroke-on átesett patkányok szenzomotoros deficitjét. A gerendán való egyensúlyozás (beam balance), a lépéshiba (foot fault), és a lokomotoros aktivitás tesztek nem alkalmasak a neurológiai skálák helyettesítésére. Összefoglalásként megállapítható, hogy az ischaemia-reperfúzió következtében kialakuló patológiás folyamatokról csak több, egymást kiegészítő módszerrel lehet hiteles képet adni.

Summary

Under the supervision of Professor Péter Mátyus, D.Sc.
Semmelweis University, Department of Organic Chemistry
Doctoral School of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences

The failure of efforts to develop a drug for the treatment of stroke can be explained, in part, by the difficulty of delineating sufficient and firm animal data required for establishing the initiation of a clinical stroke trial. Our aim was to study how precisely the ischaemic-reperfusion damage (IR) is reflected by the methods routinely applied in the preclinical practice. At Division of Preclinical Research of EGIS Pharmaceuticals Plc, we evaluated the IR damage of brain tissue using triphenyl-tetrazolium chloride (TTC) staining and histological analysis in rats after a 1-hour middle cerebral artery occlusion followed by different reperfusion periods. Neuronal function of the territory judged infarcted by TTC staining was investigated by the help of corticostriatal brain slice with radioactively labelled dopamine, *in vitro*. The animals underwent *in vivo* assessment applying 4 different neurological scales, which were completed with foot fault, beam balance, locomotor activity tests.

The results of TTC staining performed by transcardiac perfusion or in brain slices were different in the cortex and striatum, and considering the size of the core and penumbra. After transcardiac TTC staining the infarct volume temporarily decreased during the early reperfusion period. At 24 hours of reperfusion astrocytes died within the area judged infarcted by TTC staining, and despite extensive tissue damage, several morphologically viable neurons and intact mitochondria were observed. Dopamine content decreased and dopamine turnover increased in the infarcted striatum, but dopaminergic nerve terminals retained functional activity. All neurological scales scored sensorimotor deficit similarly in rats after stroke. Beam balance, foot fault and locomotor activity tests can not substitute for neurological scales.

Taken together, the pathological process in consequence of an ischaemia-reperfusion challenge can be accurately assessed using a number of complementary methods.

Bevezetés

Napjainkban a stroke világszerte súlyos problémát jelent mind mortalitási szempontból, mind az egészségügyi kiadások nagysága miatt. A stroke 85%-a ischaemia eredetű, amelyet gyakran a középső agyi artéria elzáródása okoz. A kórkép fő tünetei az arcon vagy a végtagokon megjelenő ellenoldali érzéskiesés, bénulás, beszédképtelenség, látótérkiesés, és a stroke gyakran vezet rokkantsághoz vagy halálhoz. A betegség kezelésére alkalmas eszközök korlátozottak. Az agyi ischaemia-reperfúzió (IR) következtében kialakuló patológiás folyamatot befolyásoló szerek hatékonysága (neuroprotektív kezelés) - a biztató állatkísérletes eredmények ellenére - nem igazolódott a klinikai vizsgálatok során.

A keringési zavar súlyosságát és az agyműködés fennmaradásának lehetőségét három egymástól független tényező határozza meg: az érelzáródás mértéke, annak időtartama, valamint az adott területre jellemző abszolút agyi véráramlás értéke. Az agyi erek elzáródásával kialakuló ischaemiás agyi károsodás a sejtek anyagcsere-változásának összetett folyamatait indítja el, amelyek térben és időben átfedik egymást. A reperfúzió a reaktív oxigén gyökök képződésének növelésével súlyosbítja az ischaemia által érintett sejtek életfolyamatainak zavarát. A véráramlás-csökkenés fókuszpontjában (core) a sejtek irreverzibilisen károsodnak, ha az agyi vérellátás és az oxigénfelhasználás az „infarktusküszöb” alá süllyed. A core körül helyezkedik el az ún. penumbra, amely a neuroprotektív beavatkozási lehetőségek célpontját jelenti.

Vizsgálatainkhoz a humán fokális agyi ischaemia állatkísérletes modellezésére alkalmas középső agyi artéria filamentummal történő elzárásának (middle cerebral artery occlusion, MCAO) módszerét választottuk. Vizsgálataink célja az 1 órás középső agyi artéria elzárása és 0-24 óra reperfúzió következtében a striatum és az agykéreg területén kialakult szövetkárosodás és következményeinek elemzése hisztológiai, neurokémiai és funkcionális módszerekkel.

A neuroprotektív vegyületek preklinikai kutatása számos ponton eltér a humán vizsgálatoktól, amelyek megnehezítik az állatkísérletes adatok értelmezését a klinikai körülmények között. Alapvető eltérések mutatkoznak abban, hogy a preklinikai

gyakorlatban általában fiatal, egészséges, többnyire hím, rágsálókon standardizált, mesterséges agyi ischaemia létrehozása történik, amelynek következtében egy jól körülhatárolható területen jön létre a szöveti károsodás. Ezzel szemben a humán vizsgálatokba bevont betegek többnyire idősebbek, rizikófaktorok és alapbetegségek által érintett, gyakran szekunder stroke-on átesett férfiak és nők. Az állatkísérletekben a vizsgálandó szert leggyakrabban intraperitoneális injekció formájában adják be. A dózisok és az így elért vérszintek gyakran magasabbak, mint a betegek által tolerálható dózis. Randomizált, vak, többkarú keresztezett állatkísérletes protokoll ritkán fordul elő. A klinikai vizsgálatok elvégzését nemzetközi rendelkezések szabályozzák, és a neurológiai vizsgálat során standardizált skálákat alkalmaznak. Ezzel szemben a preklinikai kísérletek során alkalmazott protokollok jelentős eltéréseket mutatnak. Egyaránt előfordul az egyszerű, gyorsan kivitelezhető trifenil-tetrazólium klorid (TTC) festés vagy a szövettani vizsgálat. A szenzomotoros funkciók vizsgálatára számos skála ismeretes az irodalomban, egyes skálák külön hangsúlyt fektetnek bizonyos paraméterek, így pl. a szenzoros funkciók-, a mozgászavar- és az orientáció-, az enyhe elváltozások kimutatására vagy az elhalálozás súlyozott figyelembevételére. A preklinikai kísérletek során egy vegyület neuroprotektív hatékonyságát elsődlegesen a létrehozott infarktus-terület csökkenése, ritkábban a szenzomotoros tünetek javulása mutatja. Ezzel szemben a stroke betegek rehabilitációjának szempontjából egy szer hatékonyságát a tünetek csökkenése, az életminőség javulása alapján ítélik meg.

Az IR károsodás korai fázisában elvégzett állatkísérletek fontosságát indokolja, hogy az excitotoxikus-oxidatív kaszkád befolyásolására kifejlesztett neuroprotektív szerek vizsgálata elengedhetetlen feltétele a stroke utáni életminőség javulást célzó szekvenciális terápia kidolgozásának.

Célkitűzések

Kísérleteink során a farmakológiai gyakorlatban alkalmazott módszerekkel mért szöveti és funkcionális elváltozásokat hasonlítottuk össze 1 órás középső agyi artéria elzárást követő 0-24 óra reperfüziós idő elteltével patkányban. A következő kérdésekre kerestünk a választ:

Alkalmas-e a TTC festés az agyi infarktus megbízható kimutatására?

1. Befolyásolja-e a TTC festéssel kapott eredményeket, ha a TTC festéket agyszövetben, *in vitro* vagy intrakardiálisan, *in vivo* alkalmazzuk?
2. A TTC festéssel nekrotikusnak tekinthető agyszövet hisztológiai módszerekkel is annak tekinthető-e?
3. Vannak-e működő dopaminerg idegvégződések a TTC festéssel elhaltnak ítélt területeken komplex agykéreg-striatum agyszövet preparátumban, *in vitro* mérve?

Helyettesíthetőek-e a szenzomotoros elváltozások mérésére kifejlesztett skálák egyszerűen kivitelezhető funkcionális tesztekkel?

1. Mennyire egységesek az agyi ischaemia-reperfüzió okozta funkcionális elváltozások mérésére kifejlesztett skálák eredményei?
2. Helyettesíti-e vagy kiegészítheti-e a technikailag viszonylag könnyen kivitelezhető egyensúlyozás (beam balance) és/vagy a lépéshiba (foot fault) teszt az összetett neurológiai skálák alkalmazását?
3. Van-e hatása az ischaemiás-reperfüziós károsodásnak a patkány lokomotoros aktivitására?

Módszerek

Kísérleteinkhez hím, SPRD patkányokat használtunk. Az állatokat 1 órás középső agyi artéria elzárásnak (MCAO) és különböző időtartamú reperfúzióknak vetettük alá, majd az ér által ellátott szenzomotoros agykéreg és striatum szövettani és funkcionális elváltozásait vizsgáltuk.

A középső agyi artéria (arteria cerebri media) műtéti elzárását Longa és munkatársai által kifejlesztett módszer kismértékű módosításával hajtottuk végre éteres altatás mellett. Az érintett erek véráramlását 60 perces okklúziót követően a filamentum kíméletes eltávolításával állítottuk vissza (reperfúzió).

Az ischaemiás-reperfúziós károsodás mértékének meghatározására TTC festést alkalmaztunk, amelyet kétféle módon valósítottuk meg: *in vivo* módszer esetén 4 % TTC oldatot juttattunk a keringésbe intrakardiálisan, míg az *in vitro* módszer esetén az agyvelőkből 1 mm vastagságú koronális metszeteket készítettünk és 2 % TTC oldattal festettük meg. A metszetek értékelése számítógépes képfeldolgozó szoftver (Digi Cell 4.0) használatával történt.

Annak igazolására, hogy a TTC festék, az Evanskék festékhez hasonlóan képes eljutni az MCAO útján elzárt majd reperfundált agyi területre, az Evanskék festék alkalmazása után 1 perccel a TTC 4 %-os vizes oldatát juttattuk be a keringésbe, szintén intrakardiálisan.

Általános morfológiai vizsgálatainkhoz toluidinkék festéssel és Luxol Fast Blue festéssel Klüver-Barrera szerint festettünk meg a paraffinos blokkból készített metszeteket. A neurodegeneráció célzott kimutatását Fluoro-Jade festéssel végeztük Schmued szerint. A gliasejt alakjának fenntartásában szerepet játszó intermedier filamentumok (glial fibrillary acidic protein, GFAP) vizsgálatára GFAP immunhisztokémiai festést alkalmaztunk. Morfológiai vizsgálatainkat elektronmikroszkópos elemzéssel egészítettük ki. A striatum dopaminerg idegsejtjeit a dopamin szintézisében résztvevő tirozin-hidroxiláz enzim kimutatásán alapuló immunhisztokémiai módszer segítségével vizsgáltuk.

A kortikostriatális agyszületben lévő szöveti dopamin és metabolitjainak mennyiségét

amperometriás detektorral ellátott nagy hatékonyságú folyadékkromatográfiával mértük. A kortikostriális leszálló pálya működését a kétrészes perfúziós kamrában elhelyezett komplex agyszelet preparátumban tanulmányoztuk, amely összefüggő szeletként foglalja magában a prefrontális agykérget, a corpus callosum és a striatum egy részét. A kísérlet során a sikeres 1 órás MCA okklúzió és 24 órás reperfúzió átesett állatokban az agykéreg elektromos téringerlésének hatására a striatumból felszabadult [³H] jelzett dopamin radioaktivitását (Bq/g) mértük folyadék-szcintillációs β -számláló segítségével.

A kísérlet során az 1 órás MCA okklúzió és 24 órás reperfúzió átesett állatok esetén az IR károsodás által okozott szenzomotoros deficitet négyféle különbözőképpen differenciált és súlyozott skálát (Reglődi-, Hunter-, Garcia- és Bederson-féle skála) alkalmaztunk. A kiválasztott neurológiai skálák alapja a testtartási rendellenességek és mozgáskoordinációs zavarok vizsgálata, valamint az izomtónus csökkenés, a szenzoros funkciók, a spontán mozgásaktivitás és az általános állapot értékelése. A szenzomotoros funkciók vizsgálatát lépéshiba, gerendán való egyensúlyozás és lokomotoros tesztekkel egészítettük ki, majd az adatok egymáshoz való korrelációját vizsgáltuk.

Az adatok statisztikai értékelésére Statistica 6.0 programot használtunk és a csoportok közötti szignifikáns eltérések megállapítására a kísérlet jellegének megfelelően választottuk ki a statisztikai módszert (TTC festés és lokomotor aktivitás vizsgálat: ANOVA, Duncan post hoc teszt; HPLC mérés és kortikostriális szelet technika: ANOVA, Tukey-Kramer post hoc teszt; neurológiai skálák korrelációja: Pearson korreláció).

Eredmények

Intrakardiális TTC festéssel, *in vivo* már a filamentum eltávolítása után közvetlenül kiterjedt core térfogatot mértünk. Ezt követően a core nagysága fokozatosan, mintegy 50%-kal csökkent 16 órás reperfúziós időig, majd 16 és 24 óra reperfúziós idő között ugrásszerűen megnövekedett. *In vitro* TTC festés esetén a core térfogat elhanyagolhatóan alacsony a filamentum eltávolítása után közvetlenül és 1 órás

reperfúziós idő elteltével. Jelentősebb méretű core térfogatot 4 óra reperfúzió után mértünk, amely fokozatosan emelkedett 24 óráig.

A két festés eredményének összehasonlításakor megállapítható, hogy a 0 és 1 órás reperfúziós időpontokban az *in vivo* festéssel mért szöveti károsodás szignifikánsan nagyobb volt. A reperfúzió későbbi időpontjait tekintve, a kép összetett: míg 8 órás reperfúzió elteltével hasonló kiterjedésű a core és a penumbra nagysága mindkét agyi régióban, ezzel szemben 4 óránál a striatum core és 16 óránál az agykéregben mért penumbra különbözik egymástól. 24 óra reperfúziós elteltével, bár a teljes károsodott terület nagysága (mindkét agyi régióban mért core és penumbra összege) nem különbözik a két festés esetén, de a striatumban mérhető penumbra kivételével a core térfogata nagyobb, a penumbra térfogata, pedig kisebb az *in vivo* TTC festés után. Az Evanskék festéssel igazoltuk, hogy a TTC eljut a középső agyi artéria vérellátási területére a reperfúziót követően.

Morfológiai vizsgálataink progresszíven előrehaladó szövettani elváltozásokat mutattak a jobb oldali középső agyi artéria által ellátott agyi régiókban. Kiterjedt károsodást láttunk 24 óra reperfúzió elteltével, amely nagyszámú nekrotikus, apoptotikus és zsugorodott (sötét) idegsejteket foglalt magában. Az idegsejtekre jellemzően a pericelluláris terek kitágultak, a citoplazmában mikrovakuolumokat ismertünk fel, a kromatinállomány feldarabolódott emellett a neuropilben jelentős ödéma (status cribrosus) alakult ki. Számos morfológiailag életképesnek tűnő idegsejtet mutattunk ki a TTC festéssel nekrotikusnak ítélt agykérgi és striatális területeken. Az IR következtében a tirozin-hidroxiláz enzimmel kimutatott dopaminerg szintén súlyosan károsodtak, azonban helyenként morfológiailag ép idegvégződések mutathatók ki. Az ellenoldali agykéregben enyhe ödéma és néhány degenerálódott idegsejtet láttunk.

24 óra reperfúzió elteltével az IR állatokban a műtött (jobb) oldalon lévő, TTC festéssel nekrotikusnak tekinthető agykéregben a dopamin mennyisége szignifikáns mértékben lecsökkent. A dopamin szöveti tartalom szignifikánsan csökkent mindkét oldali striatumban (TTC festéssel fehér és piros). A dopamin turnover az MCAO által közvetlenül nem érintett hemispheriumban lévő (bal oldali) agykéreg kivételével mindegyik agyi régióban, szignifikáns mértékben megnövekszik.

Kortikostriatális szeletben mérve az intakt és az IR állatok striatumából megközelítőleg azonos, a nyugalmi értékéhez viszonyítva kb. 6-7-szeres triciált dopamin kiáramlás látható az agykéreg elektromos téringerlésének hatására. A féloldali MCAO eredményeképpen kevesebb a nyugalmi periódus alatt kiáramló és az elektromos ingerlés hatására felszabaduló jelzett dopamin mennyisége, valamint a kísérlet végén a szövetekben visszamaradó jelzett izotóp mennyisége.

Az ACM okklúzió közel azonos mértékben csökkenti agykéregben és striatumban csúcs alatti terület nagyságát az intakt állatokhoz képest. A legnagyobb csúcs alatti terület csökkenést az ipszilaterális striatumban mértük az intakt állatokéhoz viszonyítva.

A sikeres 1 órás MCA okklúzió és 24 órás reperfúzió átesett állatok lokomotoros aktivitásának vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy az állatok környezet iránti érdeklődése csökken az idő előrehaladásával, de szignifikánsan csak a harmadik 5 percben csökken. Intakt és IR állatok között csak a teljes 15 perc alatt kapott lokomotoros aktivitás értékek között kaptunk szignifikáns különbségeket.

A sikeres 1 órás MCA okklúzió és 24 órás reperfúzió átesett állatok esetén a neurológiai vizsgálati skálák összértéke korrelált mindegyik skála összpontszámával, kivéve a Garcia- és a Bederson-féle skála esetén. A skálák összpontszáma a skálát alkotó paraméterek a Reglődi-féle skálán mintegy 75 %-ával, a Hunter-féle skálán 80%-ával, és a Garcia-féle skála esetén mintegy 85%-ával korrelál. A Bederson-féle kumulatív skála egyetlen paramétert pontoz, ezért korreláció nem vizsgálható. A korrelációs vizsgálatok szintén nem értelmezhetőek olyan paraméterek esetén, amelyeknél az állatok között nem tudunk különbséget tenni, pl. a tenyérbe helyezett állat átfordulása.

A lépéshiba és az egyensúlyozás tesztek segítségével mért szenzomotoros deficit mértéke különbözik, azaz az 1 órás ACM okklúzió és 24 órás reperfúzió alávetett állatok esetén. A lépéshiba eredménye nem mutat korrelációt egyetlen skála összértékével sem, azonban az egyensúlyozás átlagos időtartama a Reglődi-féle skála szerint a mellső láb helyzetében látható testtartási rendellenességgel, a Hunter-féle skálán szereplő bordázott gerendán való kapaszkodás és testtartás tekintetében, a

Garcia-féle skálán a végtagok helyzetének pontozásával van szignifikáns összefüggésben.

Következtetések

A középső agyi artéria műtéti okklúziójával létrehozott tranziens agyi ischaemia után az *in vivo* (intrakardiális) és az *in vitro* (agyszeletben történő) TTC festés eredménye a 8 óránál rövidebb reperfúziós időknél markánsan különbözött; az *in vivo* festés esetében a károsodás térfogata átmenetileg csökkent a reperfúzió megkezdése után. A TTC festéssel szokásosan nekrotikusnak tekintett agyszövet számos morfológiailag életképesnek tekinthető idegsejtet foglalt magában. Tehát az ischaemiát követő korai reperfúziós időszakban a TTC formazárási redukálása valószínűleg akkor szűnik meg, amikor az agyszövet anyagcseréje átmenetileg vagy véglegesen leáll. A TTC festés nem alkalmas az irreverzibilis agyi károsodás pontos mérésére.

Az 1 órás középső agyi artéria elzárást követő 24 óra reperfúzió után a tirozinhidroxiláz immunhisztokémia kimutatta, hogy a striatum dopaminerg idegvégződései jelentősen károsodtak. Az IR hatására a dopamin turnover fokozódott az azonos oldali agykéregben és striatumban, valamint az ellenoldali striatumban is. Az agykéreg elektromos ingerlése megközelítőleg azonos mennyiségű [³H]dopamint szabadított fel az intakt és az IR striatumból, vagyis a striatális dopaminerg idegvégződések működőképesei maradtak az ischaemiát követő korai reperfúziós időszakban a TTC-vel nem festődő agyszövetben is.

Az ischaemia-reperfúzió szenzomotoros működésekre kifejtett befolyásoló hatását négyféle, az irodalomban elfogadott neurológiai módszerrel mértük, ezek eredményeit egymással, valamint a lépéshiba, az egyensúlyozás és a lokomotoros aktivitás tesztek eredményeivel hasonlítottuk össze. Megállapítottuk, hogy a vizsgált neurológiai skálák összértékei egymással jól korreláltak, tehát az IR károsodás mértékét arányosan hasonló súlyosságúnak mérik. A lépéshiba, és az egyensúlyozás tesztek eredménye nem korrelált egyik neurológiai skála eredményével sem, tehát egyik teszt sem alkalmas a neurológiai skálák helyettesítésére.

Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó közlemények

1. **Benedek A**, Móricz K, Jurányi Z, Gigler G, Lévay G, Hársing LG Jr, Mátyus P, Szénási G, Albert M. (2006) Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 1116: 159-165. IF: 2,341
2. Matucz E, Móricz K, Gigler G, **Benedek A**, Barkóczy J, Lévay G, Hársing LG Jr, Szénási G. (2006) Therapeutic time window of neuroprotection by non-competitive AMPA antagonists in transient and permanent focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 1123: 60-67. IF: 2,341
3. Gigler G, Móricz K, Ágoston M, Simó A, Albert M, **Benedek A**, Kapus G, Kertész S, Végh M, Barkóczy J, Markó B, Szabó G, Matucz E, Gacsályi I, Lévay G, Hársing LG Jr, Szénási G. (2007) Neuroprotective and anticonvulsant effects of EGIS-8332, a non-competitive AMPA receptor antagonist, in a range of animal models. *Br J Pharmacol*, 152: 151-160. IF: 3,825

Az értekezés témaköréhez kapcsolódó egyéb publikációk

1. **Benedek A**, Móricz K, Gigler G, Hársing LG Jr, Szénási G, Mátyus P, Albert M. Fokális, ischaemiás-reperfúziós károsodás progressziójának szövettani vizsgálata patkányban. Semmelweis Egyetem PhD-napok, Budapest, 2004. (poszter)
2. **Benedek A**. Analysis of the progression of focal cerebral damage induced by ischemia and reperfusion in rats. XXIV. Advanced Course of Medicinal Chemistry and "E. Duranti" Seminar for PhD students, Urbino, Italy, 2004. (poszter)
3. **Benedek A**, Móricz K, Albert M, Gigler G, Hársing LG Jr, Szénási G, Mátyus P. Morphological and functional investigation of TTC-stained brain tissue in the early phase of reperfusion after transient focal cerebral ischaemia in rats. Giornate Dottorato, Mini-symposium organized by University of Milan and Semmelweis University, Milano, Italy, 2004. (előadás).
4. **Benedek A**, Móricz K, Jurányi Z, Albert M, Gigler G, Hársing LG Jr, Mátyus P, Szénási G. Evaluation of early brain damage by TTC staining and histology after transient focal cerebral ischaemia in rats. 14th European Stroke Conference, Bologna, Italy, 2005. (poszter) *Cerebrovasc Dis*, (2005) 19: 116.
5. **Benedek A**, Móricz K, Jurányi Z, Albert M, Gigler G, Hársing LG Jr, Mátyus P, Szénási G. A korai ischaemiás-reperfúziós agyi károsodás értékelése TTC festéssel

és szövettani módszerekkel. Magyar Élettani Társaság LXIX. Vándorgyűlése, Budapest, 2005. (poszter és előadás) - poszterkategória nyertes

6. **Benedek A**, Móricz K, Hevesi Tóth B, Gigler G, Hársing LG Jr, Kéry Á, Szénási G. Antioxidant and neuroprotective effects of *Epilobium parviflorum* Schreb, Small Flowered Willow herb extract. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság, Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, 2005. (poszter)
7. **Benedek A**, Móricz K, Jurányi Z, Albert M, Gigler G, Hársing LG Jr, Mátyus P, Szénási G. Alkalmas-e a TTC festés a korai ischaemiás-reperfúziós agyi károsodás jellemzésére? Magyar Stroke Társaság és Neuroszonológiai Társaság VII. Konferenciája, Eger, 2005.- poszter kategória II. díj. Agyérbetegségek, (2005) 11: 10 (poszter és előadás)
8. **Benedek A**, Nagy K, Móricz K, Gigler G, Szénási G, Mátyus P, Hársing LG Jr, Jurányi Z. [³H]Dopamine release in corticostriatal slices after transient cerebral ischemia in rats. International Brain Research Organisation Workshop - Magyar Idegtudományi Társaság XII. Konferenciája, Budapest, 2006. (poszter) Ideggyógy Sz, (2006) 59: 11.
9. Gigler G, Móricz K, Albert M, Matucz E, Ágoston M, Simó A, **Benedek A**, Barkóczy J, Hársing LG Jr, Szénási G. Neuroprotective efficacy of EGIS-8332, a non-competitive AMPA antagonist in transient focal cerebral ischemia and multiple sclerosis tests in rats. Budapest Spring Neuropathology Conference, Budapest, 2004. (poszter)
10. Móricz K, Gigler G, Albert M, Matucz E, Ágoston M, Simó A, **Benedek A**, Barkóczy J, Hársing LG Jr, Lévy G, Szénási G. Effects of EGIS-8332, an AMPA antagonist, in transient focal cerebral ischemia and multiple sclerosis in rats. 7th International Congress of Neuroimmunology, Venice, Italy, 2004. (poszter) J Neuroimmunol, (2004) 154: 86.
11. Móricz K, Gigler G, Albert M, **Benedek A**, Ágoston M, Matucz E, Lévy G, Hársing LG, Szénási G. Az EGIS-8332, egy nem-kompetatív AMPA antagonista neuroprotektív hatása fokális agyi ischaemia és sclerosis multiplex modellben, patkányon. Magyar Idegtudományi Társaság XI. Konferenciája, Pécs, 2005. (poszter) Ideggy Szemle, (2005) 58: 68.
12. Móricz K, Gigler G, Matucz E, Ágoston M, **Benedek A**, Lévy G, Hársing LG Jr, Szénási G. EGIS-8332: A terápiás ablak meghatározása patkányokon végzett permanens és tranzienst fokális agyi ischaemia teszten. Magyar Stroke Társaság és Neuroszonológiai Társaság VII. Konferenciája, Eger, 2005. (poszter) Agyérbetegségek, (2005)11: 21 (poszter)
13. Barkóczy J, Ling I, Simig G, Gigler G, Simó A, **Benedek A**, Móricz K, Ágoston M, Végh M, Kapus G, Kertész S, Lévy G, Hársing LG Jr, Szénási G. Neuroprotective effect of EGIS-11229, a 2,3-benzodiazepine type AMPA

antagonist. 230th American Chemical Society Meeting, Washington DC, USA, 2005. (poszter)

14. Hársing LG Jr, **Benedek A**, Albert M, Jurányi Z. Release of [³H]dopamine in corticostriatal slices after transient middle cerebral artery occlusion in rats. Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Washington, USA, 2006. (poszter)
15. Szénási G, **Benedek A**, Nagy K, Móricz K, Albert M, Gigler G, Hársing LG, Jr., Jurányi Z. Survival of dopaminergic nerve terminals in the cortex and striatum after transient cerebral ischaemia followed by 24 hours of reperfusion in rats. 7th World Congress of Neuroscience, IBRO, Melbourne, Australia, 2007 (poszter)