

**AZ AGYI VÍZHÁZTARTÁS ÉS AZ AGYÖDÉMA
KÓRÉLETTANÁNAK MOLEKULÁRIS ÉS
FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA**

Ph. D. tézis

Dr. Vajda Zsolt



Témavezető: Prof. Dr. Dóczi Tamás

**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Idegsebészeti Klinika
2001**



Előszó

A PhD dolgozat témája az agyi vízháztartás sejt- és molekuláris szintű szabályozó mechanizmusainak valamint az agyödéma pathofizológiájának többféle módszertani megközelítésből, köztük sejt- és molekuláris biológiai illetve mágneses rezonancia spektroszkópiás (MRS) és képképző (MRI) módszerekkel való vizsgálata. A tézis 4 közleményből és angol nyelvű összefoglalásból áll. A dolgozat alapját képező munkát a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Kar Idegsebészeti Klinikájának PhD hallgatójaként végeztem 1997-től 2001-ig, Prof. Dr. Dóczi Tamás vezetésével. 1999 és 2001 között a dániai Aarhusi Egyetem Anatómiai Intézetének Sejtbiológiai Tanszékén és MR Kutatási Központjában dolgoztam, Prof. Dr. Søren Nielsen munkacsoportjában.

A dolgozat alapját a következő négy közlemény képezi:

- I. Z. Vajda, E. Berényi, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczi & E. Sulyok. Brain adaptation to water loading in rabbits as assessed by NMR relaxometry. *Pediatric Research* 46, 450-454 (1999).
- II. Z. Vajda, M. Pedersen, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, S. Nielsen. Effects of Centrally Administered Arginine-Vasopressin and Atrial Natriuretic Peptide on the Development of Brain Edema in Hyponatremic Rats. *Neurosurgery* (közlésre elfogadva).
- III. Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen and S. Nielsen. Increased Aquaporin-4 Immunoreactivity in Rat Brain in Response to Systemic Hyponatremia. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 270, 495-503 (2000).
- IV. M.-L. Elkjær, Z. Vajda, L. N. Nejsum, T.-H. Kwon, U. B. Jensen, M. Amiry-Moghaddam, J. Frøkiær and S. Nielsen. Immunolocalization of AQP9 in Liver, Epididymis, Testis, Spleen and Brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 276, 1118-1128 (2000).

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani a dolgozat alapját képező munkában közreműködő és segítséget nyújtó személyeknek és intézményeknek.

Szeretném megköszönni témavezetőm, Dóczy Tamás professzor úr segítségét, javaslatait és lelkes támogatását munkám során. Szeretném továbbá megköszönni a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Intézetének Idegsebészeti Klinikája dolgozóinak munkámhoz nyújtott segítségét.

Köszönöm Sulyok Endre professzor úrnak a Baranyai Megyei Gyermekkorház igazgatójának tanácsait és az inspiráló beszélgetéseket.

Köszönetet szeretnék mondani a Kaposvári Egyetem Diagnosztikai Intézete dolgozóinak munkámhoz nyújtott segítségükért. Külön köszönöm Berényi Ervinnek és Bogner Péternek, hogy bevezettek a mágneses rezonancia képalkotó és spektroszkópiás módszerek világába.

Hálával tartozom Søren Nielsen professzor úrnak az Aarhushi Egyetem Sejtbiológiai Tanszékéről, aki nagy lelkesedéssel és érdeklődéssel fogadott munkacsoportjában. Szintén szeretnék köszönetet mondani Jørgen Frøkiærnek és Hans-Stødtkilde Jørgensennek értékes javaslataikért. Külön köszönet Michael Pedersennek lelkes együttműködéséért.

Köszönöm Søren Nielsen/Jørgen Frøkiær munkacsoportjának segítségét: Gitte Christensen, Mette Vistisen, Inger Merete Paulsen, Zhila Nikrozi and Helle Høyer, Marie-Louise Elkjær, Lene Nejsum, Dominique Promeneur, Birgitte Mønster Christensen, Tae-Hwan Kwon, Henrik Hager és Weidong Wang.

Végül szeretnék köszönetet mondani a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának tanulmányaim támogatásáért.



Rövidítések jegyzéke

ADC	apparent diffusion coefficient – apparens diffúziós állandó
ANP	atriális natriuretikus peptid
AQP	aquaporin
AVP	arginin vazopresszin
CHIP28	channel-forming integral protein of 28 kDa – 28 kDa-os csatoma képző fehérje
CSF	cerebrospinal fluid - liquor
DWI	diffusion weighted imaging – diffúzió súlyozott képalkotás
EC	extracelluláris
IC	intracelluláris
ICV	intracerebro-ventricular
MIWC	mercurial-insensitive water channel – higanyal nem gátolható vízcsatoma
MR	magnetic resonance - mágneses rezonancia
MRI	magnetic resonance imaging – mágneses rezonanciás képalkotás
NMR	nuclear magnetic resonance – magmágneses rezonancia
SE	spin echo

Bevezetés

Általános megfontolások

Az agyi szöveti víztartalom és térfogat pontos szabályozása nélkülözhetetlen a központi idegrendszer normális működéséhez. A csontos falú koponyával körbevett agy nagyfokban érzékeny az intrakraniális nyomás legcsekélyebb növekedésére is. A kompenzatórikus mechanizmusok kimerülése emelkedett szöveti víztartalomhoz (agyödéma) vezet, melynek következményeként csökkent szöveti perfúzió és mechanikai szövetkárosodások alakulhatnak ki, súlyosabb esetben pedig az agy hemiációja miatt életveszélyes állapotot hoz létre. Az agyödéma a kialakulás pathomechanizmusa alapján vazogén (intersticiális vízfelhalmozódás) illetve celluláris (intracelluláris vízfelszaporodás) csoportra osztható és jelentős mértékben hozzájárul a központi idegrendszeri betegségek, köztük a fejsérülések, daganatok, agyvérzés, fertőzések, hydrocephalus és metabolikus zavarok, köztük a szisztémás hypo- és hypematrémia morbiditásához és mortalitásához (Fishman 1975; Klatzo 1994). Az agyödéma kórélettanával és annak molekuláris alapjaival számos tanulmány foglalkozott, keveset tudunk azonban a víz vér-agy gáton keresztüli illetve az extra- és intracelluláris kompartmentek közötti transzportjának celluláris és molekuláris mechanizmusairól. Ezen mechanizmusok részleteinek vizsgálata új, a jelenleg alkalmazott agyödémaellenes kezelési módokat effektíven kiegészítő terápiás eljárások kifejlesztéséhez segíthet hozzá.

MRI és MRS módszerek

A mágneses rezonanciás képalkotó (MRI) és spektroszkópiás (MRS) módszerek lehetővé teszik a központi idegrendszer non-invazív, élőben történő vizsgálatát. Az MRI és MRS a rutin klinikai diagnosztikában betöltött fontos szerepe mellett nagyon hasznos kísérleti módszerként szolgál az agyi vízterek funkcionális vizsgálatához és az agyödéma pathogenezisének tanulmányozásához. A víz az agyszövet 78-80 százalékát teszi ki és fizikokémiai tulajdonságai miatt meghatározza az élő rendszerek fehérjeláncainak molekuláris konfigurációját és ezáltal funkcióját. A központi idegrendszerben levő víz az agyi parenchyma extra- és intracelluláris terei valamint a liquor



cerebrospinalis és a vaszkuláris kompartment között oszlik meg. Az agyat 'tökéletlen ozmométerek' tekinthetjük, mivel az interstícium és a cytoplazma között fennálló ozmotikus egyensúly zavarai esetén a sejtek térfogatát szabályozó mechanizmusok aktiválódnak, melyek gátolják az ozmotikus grádiens követő vízáramlást, csökkentik a sejtek zsugorodását illetve duzzadását és törekszenek a normális agyi térfogat és szöveti víztartalom visszaállítására (Trachtman 1992; Gullans és Verbalis, 1993). Az agyszövetben található víz szervesen oldott részecskékkel valamint fehérjékkel, lipidekkel és glikózaminoglikánokkal – főként hyaluronsavval (Granger, 1981) – lép interakcióba, és ezen interakciók erőssége alapján különböző kötöttségi fokú, eltérő fizikai tulajdonságokkal rendelkező vizek különíthetők el.

A transzverzális (T_2) relaxáció multikomponens jellege

A biológiai szövetekben található víz protonjainak T_2 relaxációja multiexponenciális függvényvel írható le, mely multiexponenciális függvény megfelelő matematikai módszerrel komponenseire bontható. Az eltérő relaxációs idejű komponensek különböző mértékben kötött vízkompartmenteknek feleltethetők meg, így a komponensek arányának és relaxációs idejének meghatározásával az egyes kompartmentek méretére és a bennük lévő víz kötöttségi fokára következtethetünk (Menon és Allen, 1990; Menon et al, 1991). A lassan relaxálódó (azaz hosszabb T_2 idővel rendelkező) komponensek viszonylag szabad, kevésbé kötött vizet tartalmazó frakciókat jelölnek, míg a makromolekulárisan kötött víz a gyorsabban relaxálódó komponenseket adja (Mulkern et al, 1989; Berényi et al, 1998). A különböző mértékben kötött vízfrakciók létezésének kémiai alapját és az intracelluláris teret és extracelluláris mátrixot felépítő makromolekulák elektron-gazdag funkcionális csoportjai és a vízmolekulák között kialakuló hidrogénkötések adják. A vízprotonok T_2 relaxációját a vizsgált anyagban jelenlevő spinek fázisvesztése hozza létre. Nagyobb homogenitású mágneses mezőben hosszabb ideig tart a spineknek fázis koherenciájuk elvesztése. A mágneses mezőnek a hosszú láncú, polimerizált makromolekulák összetett elektronfelhője által létrehozott helyi változásai a mező inhomogenitását növelve gyorsítják a vízproton-spinek fázisvesztését ezzel rövidítve a T_2 időt.



Vagyis a vízmolekulák makromolekulákhoz történő kötődése rövidebb T_2 időt eredményez. A nagyobb mértékben (rövidebb T_2) illetve kevésbé (hosszabb T_2) kötött vízfrakció vízmolekulái illetve protonjai folyamatosan cserélődnek egymással és ha ezen a kicserélődés időskálája nagyságrenddel rövidebb a relaxációs időnél, úgy a relaxáció sebessége ($1/T_2$) a szabad és kötött vízfrakciók súlyozott átlagaként írható fel:

$$1/T_{2obs} = \Sigma(P_i / T_{2i})$$

ahol T_{2obs} a mért T_2 , P_i i-edik frakció nagysága és T_{2i} az i-edik frakció transzverzális relaxáció ideje (Fullerton et al, 1982; Cole et al, 1992).

Diffúzió-súlyozott képalkotás (DWI)

Minden egyes MR képpont (voxel) intenzitását a voxelben levő spinek protondenzitása, T_1 , T_2 , valamint T_2^* relaxációs folyamatai határozzák meg. A protonok különböző térerejű helyi mágneses mezőkbe diffundálása random fáziseltolódásokat hoz létre, mely fáziseltolódások összegződése az adott voxel szignáljának csökkenését eredményezi, amelyből a vízmolekulák voxelbeli diffúziós állandója (apparent diffusion coefficient, ADC) meghatározható. Az ADC változását több neurológiai kórképben, így ischémiás stroke-ban (Neumann-Haefelin et al, 2000), fejtraumában (Barzó et al, 1997), epilepsziás rohamokban (Zhong et al, 1993) és metabolikus rendellenességekben, mint szisztémás hyponatrémia (Sevick et al, 1992) megfigyelték. Az ADC változásai a sejttér fogat, az extracelluláris tér 'sűrűségének' (tortuosity) és az egyes kompartmentek diffúziós állandójának változásait tükrözik. Az ADC csökkenése az intracelluláris tér expansiójával magyarázható (celluláris ödéma), mely során az extracelluláris térben gyorsabban diffundáló vízmolekulák az alacsonyabb diffúziós konstansú intracelluláris térbe kerülnek. (Moseley et al, 1990; Mintorovitch et al, 1991). Emelkedett ADC értékek a extracelluláris/intracelluláris tér hányadosának növekedését és vazogén ödéma kialakulását jelzik (Barzó et al, 1997; Ebisu et al, 1993). A diffúziós MRI a kísérletes agyödémamodellekben, főként stroke modellekben alkalmazott neuroprotektív farmakológiai intervenciók hatásosságának tesztelése mellett, perfúziós képalkotással (PWI) kombinálva



az akut stroke trombolitikus terápiája időablakának meghatározásában játszik egyre fontosabb szerepet a klinikai gyakorlatban (Neumann-Haefelin et al, 2000b).

Az AVP és ANP agyi vízháztartásban betöltött szerepe.

Az agyi kapillárisendothelium vízpermeabilitása más, a szisztémás vízháztartásban résztvevő szervekhez hasonlóan (pl. vese gyűjtőcsatoma hámja) szabályozott (Peachey and Rasmussen, 1961; Raichle et al, 1977) és az arginin vazopresszin (AVP) illetve atriális nátriuretikus peptid (ANP) szerepe ezen szabályozásban bizonyított (Cserr and Patlak, 1991; Dóczy, 1993). Mindkét hormon és receptoraik szignifikáns koncentrációban megtalálhatóak az agyban (Heller et al, 1968; Wood, 1982; Gibson et al, 1986; Gardner et al, 1987). Dóczy és munkacsoportja agyi vízfelszaporódást talált AVP (Dóczy et al, 1982, 1984), illetve csökkent szöveti víztartalmat és nátriumkoncentrációt ANP (Dóczy et al, 1987, 1988) centrális adását követően. Az AVP-nek (Del Bigio et al, 1992; Latzkovits et al, 1993) és ANP-nek (Del Bigio and Fedoroff, 1990; Latzkovits et al, 1993) a sejtterefogat szabályozására kifejtett ellentétes hatását astrogliaanyagokban leírták. A fenti eredmények alapján a vér-agy és vér-liquor gát ozmotikus vízpermeabilitásának független, centrális agyi neuro-endokrin szabályozó mechanizmusát írták le (Cserr and Patlak, 1991; Dóczy, 1993).

Az aquaporin membrán-fehérje család

Az aquaporinok (AQP) 28-30 kDa molekulásúlyú membránfehérje család, melynek tagjai a víz fő transzport útját képezik a vese, tüdő és más folyadék kiválasztó illetve transzportáló szervekben. A központi idegrendszerben a fehérje család három tagjának jelenlétét írták le idáig. Az aquaporin-1 (AQP1) (Preston et al, 1992) a choroid plexus epithéliumában expresszálódik ahol feltételezhetően részt vesz a liquor termelésében (Nielsen et al, 1993). Az aquaporin-4 (AQP4) (Hasegawa et al, 1994; Jung et al, 1994) nagy mennyiségben van jelen az ependymasejteket és astrogliaokban, nagyfokban polarizált expressziót mutatva a szubarachnoideális és kamrai liquor tereket határoló glia limitansban illetve az ependymasejteket szubependymalisan határoló astroglia végtalpokban

)

(Nielsen et al, 1997). Az AQP4 erős expressziója figyelhető meg az agyi kapillárisokat körülvevő astroglia végtalpakban is (Nielsen et al, 1997). Az AQP4 expresszió ezen mintázata felveti a fehérje szerepét a központi idegrendszer folyadékkompartmentjei közötti víztranszportban. Ez a feltételezés megerősítést nyert az AQP4 knock-out egerekkel végzett kísérletekben, ahol ezen állatok jobb túlélését írták le különböző kísérletes agyödémamodellekben (Manley et al, 2000). Az aquaporin-9 (AQP9) mRNS-ének agyi jelenlétéről nemrégiben két független csoport is beszámolt (Tsukaguchi et al, 1998; Ko et al, 1999), a fehérje expressziójának pontos lokalizálására azonban idáig nem került sor.

)

Célkitűzések

A dolgozatban az agyi vízháztartás élettanát és az agyödéma kórélettanát vizsgáltuk különböző megközelítésekből, mágneses rezonancia képalkotó (MRI) és sejtbioológiai módszerek felhasználásával.

1.) A dolgozat első részében MRI és MRS segítségével vizsgáltuk az agyi vízkompartmentekben az agyödéma kialakulása alatt létrejövő változások dinamikáját:

I. tanulmányban a különböző fokban kötött agyi vízfrakciókban az agyödéma kialakulása alatt bekövetkező változásokat vizsgáltuk a T_2 proton relaxációs görbe biexponenciális elemzésével, hyponatrémiás nyúlmodellben.

II. tanulmányban patkányoknak centrálisan adott AVP-nek és ANP-nek az agyödéma kialakulására gyakorolt hatását vizsgáltuk *in vivo* diffúzió súlyozott képalkotással és az T_1 -víz mapek segítségével.

2.) A dolgozat második részében az aquaporin (AQP) membrán vízcsatorna család központi idegrendszerben expreszálódó tagjainak az agyi vízháztartásban és az agyödéma pathogenezisében betöltött lehetséges szerepét vizsgáltuk, biokémiai és sejtbioológiai módszerek felhasználásával:

III. tanulmányban az agyi AQP4 szisztémás hyponatrémiát kísérő agyödémában kialakuló esetleges protektív downregulációjának lehetőségét vizsgáltuk meg patkányokban.

Végül *IV. tanulmányban* az AQP9 eloszlását vizsáltuk patkány agyában és egyéb szerveiben RT-PCR, Southern blotting, immunoblotting, immunohisztokémia és immunoelektron microszkópia segítségével.

Eredmények

A PhD dolgozatban mágneses rezonancia képalkotó (MRI) és spektroszkópiás (MRS) módszerek felhasználásával követtük nyomon az agyi vízterekben agyödéma kialakulása alatt bekövetkező változásokat, kísérletes agyödémamodellekben. Megvizsgáltuk továbbá a közelmúltban felfedezett aquaporin (AQP) membrán vízcsatoma család központi idegrendszerben expresszálandó tagjai közül az AQP4-nek és AQP9-nek az agyi vízháztartásban és az agyödéma kórtanában betöltött lehetséges szerepét.

Az agyi szöveti vízprotonok transzverzális (T_2) relaxációjának multiexponenciális analízise lehetővé teszi gyors (T_{21}) és lassú (T_{22}) relaxációs komponensek elkülönítését, mely komponensek makromolekulárisan kötött illetve szabad vízfrakcióknak feleltethetők meg. Nyulakban létrehozott progresszív hyponatrémiában a kötött vízfrakció gyors csökkenése volt megfigyelhető 3 illetve 24 órával a hyponatémia kezdetét után, ezt követően, a 48 órás hidrációs periódus végére a frakció nagysága ismét a kezdeti érték közelébe emelkedett. A kifejlődő nagyfokú hyponatémia ellenére az agyi víztartalomban nem történt megfigyelhető változás. Ezen megfigyelések alapján a celluláris és szöveti makromolekuláris mátrixhoz különböző fokban kötött vízfrakciók közötti redistribúció fontos szerepet játszik a szisztémás ozmotikus zavarokban működő adaptációs mechanizmusokban.

A szisztémás vízháztartásban kulcsszerepet betöltő két fehérje hormon, az arginin vazopresszin (AVP) és atriális nátriuretikus peptid (ANP) agyi térfogatszabályzásban betöltött szerepének vizsgálata munkacsoportunk kutatási területei között hagyományosan kiemelt helyen áll. A fenti hormonoknak az agyödéma kifejlődésében játszott szerepének *in vivo* vizsgálatára diffúzió-súlyozott mágneses rezonanciás képalkotást (DWI) és T_1 -víztartalom map-eket használtunk. Diffúzió-súlyozott MRI-vel meghatározható a vizsgált szövet apparens diffúziós koefficiense (ADC), melynek változása az extra- és intracelluláris vízterek hányadosában bekövetkező változásokkal arányos. Patkányoknak intracerebroventrikulárisan (icv.) adott fiziológiás sóoldat illetve AVP hatására nem

)

történt változás az ADC-ben, míg icv. adott ANP az ADC gyors emelkedését váltotta ki, jelezve az extracelluláris tér arányának növekedését. Az icv. injekciót követő hypoozmotikus vízterhelés és az annak következményeként kifejlődő szisztémás hyponatremia az ADC gyors esését váltotta ki mindhárom kísérleti csoportban, jelezve az intracelluláris kompartment növekedését. A hyponatremia kezdeti periódusában az ANP képes volt mérsékelni az intracelluláris tér növekedését, ez a hatás azonban rövid távúnak bizonyult és a másfél órás vízterheléses protokoll végén nem volt különbség az icv. fiziológias sóoldattal illetve ANP-vel kezelt állatok agyának ADC-je között. Az icv. AVP-vel kezelt csoport agyának ADC-je a hyponatremiás protokoll kezdetén nem mutatott különbséget az icv. sóval kezelt állatokéhoz viszonyítva, azonban a hyponatremia progressziójával az ADC csökkenése szignifikánsan nagyobb volt az AVP csoportban, jelezve a nagyobb mértékű intracelluláris vízfelhalmozódást ebben a csoportban. A T_1 -vízmap-ek használata lehetővé tette az agyi szöveti víztartalom élőben történő meghatározását a kísérleti protokoll kezdetén és végén. Mindhárom kísérleti csoportban emelkedett szöveti víztartalom volt mérhető, szignifikánsan magasabb értékekkel az icv. AVP kezelt csoportban az icv. sóoldattal kezelt csoporttal összehasonlítva, megerősítve munkacsoportunk korábbi eredményeit.

A fenti tanulmányokban alkalmazott multikompartment- T_2 , diffúzió súlyozott MRI és T_1 -vízmap technológiák kombinációja lehetővé teszi az agyszövet víztartalmának és annak az egyes szöveti vízkompartmentek közötti eloszlásának élőben történő vizsgálatát. Ebből következően ezen technológiák fontos szerepet játszanak a különböző neuropathológiai állapotokhoz társuló agyödéma elleni gyógyszerek kifejlesztésében és ezek hatásának tesztelésében, mind állatkísérletes mind terápiás szinten.

Az aquaporin-4 (AQP4) molekuláris membrán vízcsatoma immunoreaktivitásában és lokalizációjában szisztémás hypoantremia hatására bekövetkező változások felvetik az agyban jelenlévő AQP4 vízcsatoma modifikációjának lehetőségét, mely potenciális védekező mechanizmusként funkcionálhat az intracelluláris vízfelhalmozódás megelőzésében. Ezen megfigyelés, valamint közelmúltban publikált

)

tanulmányok eredményei, melyekben kimutatták az aqp4 gén deléciójának az agyödéma kifejlődése elleni protektív hatását és hogy az AQP4 foszforilációja csökkenti a fehérje vízáteresztő képességét, az AQP4 membrán vízcsatormát az intracelluláris vízfelhalmozódás és agyödéma kialakulása elleni farmakológiai beavatkozás potenciális célpontjává teszi.

Az aquaporin-9 (AQP9) vízcsatorna mRNS-ének agyban való expresszációját patkányban a közelmúltban több laboratórium is közölte. A fehérje lokalizációjára poliklonális antitesteket fejlesztettünk ki. Az AQP9 fehérjét, más szervek mellett, az agykamrákat bélelő ependymasejtekben és a medio-bazális hypothalamus tanycytáiban lokalizáltuk, immunoblottingal és immunhisztokémiai módszerekkel. Az AQP9 fenti lokalizációjának élettani jelentőségének tisztázására további tanulmányokat tervezünk elvégezni.

)

Irodalom

- Barthwal R, Hohn-Berlage M, Gersonde K. In vitro proton T1 and T2 studies on rat liver: analysis of multiexponential relaxation processes. *Magn Reson Med.* 1986; 3:863-75.
- Barzó P, Marmarou A, Fatouros P, Hayasaki K, Corwin F. Contribution of vasogenic and cellular edema to traumatic brain swelling measured by diffusion-weighted imaging. *J Neurosurg.* 1997; 87(6):900-7.
- Berényi E, Repa I, Bogner P, Dóczi T, Sulyok E. Water content and proton magnetic resonance relaxation times of the brain in newborn rabbits. *Pediatr Res.* 1998; 43(3):421-5.
- Cserr HF, Patlak CS. Regulation of brain volume under isoosmotic and anisoosmotic conditions. In: *Advances in Comparative and Environmental Physiology*, edited by R. Gilles, E.K. Hoffman and L. Bolis. Berlin: Springer-Verlag, 1991, vol. 9, p. 61-80.
- Del Bigio MR, Fedoroff S. Swelling of astroglia in vitro and the effect of arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide. *Acta Neurochir Suppl.* 1990; 51:14-6.
- Del Bigio MR, Fedoroff S, Quattiere LF. Morphology of astroglia in colony cultures following transient exposure to potassium ion, hypoosmolarity and vasopressin. *J Neurocytol.* 1992; 21(1):7-18.
- Dóczi T, Szerdahelyi P, Gulya K, Kiss J. Brain water accumulation after the central administration of vasopressin. *Neurosurgery.* 1982; 11(3):402-7.
- Dóczi T, László FA, Szerdahelyi P, Joó F. Involvement of vasopressin in brain edema formation: further evidence obtained from the Brattleboro diabetes insipidus rat with experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 1984; 14(4):436-41.
- Dóczi T, Joó F, Szerdahelyi P, Bodosi M. Regulation of brain water and electrolyte contents: the possible involvement of central atrial natriuretic factor. *Neurosurgery.* 1987; 21(4):454-8.
- Dóczi T, Joó F, Szerdahelyi P, Bodosi M. Regulation of brain water and electrolyte contents: the opposite actions of central vasopressin and atrial natriuretic factor (ANF). *Acta Neurochir Suppl.* 1988; 43:186-8.
- Dóczi T. Volume regulation of the brain tissue--a survey. *Acta Neurochir.* 1993; 121(1-2):1-8.
- Dóczi TP, Joó F, Balás I. Atrial natriuretic peptide (ANP) attenuates brain oedema accompanying experimental subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir.* 1995; 132:87-91.
- Does MD, Snyder RE. T2 relaxation of peripheral nerve measured in vivo. *Magn. Res. Imaging* 1995; 13:575-580.
- Dogterom J, Snijdwint FGM, Buijs RM. The distribution of vasopressin and oxytocin in the rat. *Neurosci. Lett.* 1978; 9:341-346.

- Ebisu T, Naruse S, Horikawa Y, Ueda S, Tanaka C, Uto M, Umeda M, Higuchi T. Discrimination between different types of white matter edema with diffusion-weighted MR imaging. *J Magn Reson Imaging*. 1993; 3(6):863-8.
- Fatouros PP, Marmarou A, Kraft KA, Inao S, Schwarz FP. In vivo brain water determination by T1 measurements: effect of total water content, hydration fraction, and field strength. *Magn Reson Med*. 1991; 17(2):402-13.
- Fatouros PP, Marmarou A. Use of magnetic resonance imaging for in vivo measurements of water content in human brain: method and normal values. *J Neurosurg*. 1999; 90(1):109-15.
- Fishman RA. Brain edema. *N Engl J Med*. 1975; 293(14):706-11.
- Gardner DG, Vlasuk GP, Baxter JD, Fiddes JC, Lewicki JA. Identification of atrial natriuretic factor gene transcripts in the central nervous systems of rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987; 84:2175-2179.
- Gibson TR, Wildey GM, Manaker S, Glembotski CC. Autoradiographic localization and characterization of atrial natriuretic peptide binding sites in the rat central nervous system and adrenal gland. *J. Neurosci*. 1986; 6:2004-2011.
- Granger HJ. Physicochemical properties of the extracellular matrix. In Hargens AR (ed) *Tissue Fluid Pressure and Composition*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1981; pp 43-61.
- Gullans SR, Verbalis JG. Control of brain volume during hyperosmolar and hyposmolar conditions. *Annu Rev Med*. 1993; 44:289-301.
- Han Z, Wax MB, Patil RV. Regulation of Aquaporin-4 Water Channels by Phorbol Ester-dependent Protein Phosphorylation. *J. Biol. Chem*. 1998; 273:6001-6004.
- Hasegawa H, Ma T, Skach W, Matthay MA, Verkman AS. Molecular cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J. Biol. Chem*. 1994; 269:5497-5500.
- Heller H, Hasan SH, Saifi AQ. Antidiuretic activity in the cerebrospinal fluid. *J. Endocrinol*. 1968; 41:273-280.
- Holliday MA, Kalayci MN, Harrah J. Factors that limit brain volume changes in response to acute and sustained hyper- and hyponatremia. *J. Clin. Invest*. 1968; 47:1916-1928.
- Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P. Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1994; 91:13052-13056.
- Kanda F, Samacki P, Erieff AI. Atrial natriuretic peptide inhibits amiloride-sensitive sodium uptake in rat brain. *Am. Physiol. Soc*. 1992; R279-R283.
- Kashgarian M, Biemesderfer D, Caplan M, Forbush B. Monoclonal antibody to Na,K-ATPase: immunocytochemical localization along nephron segments. *Kidney. Int*. 1985; 28:899-913.



Katay L, Litzkovits L, Fonagy A, Janka Z, Lajtha A. Effects of arginine vasopressin and atriopeptin on chloride uptake in cultured astroglia. *Neurochem.Res.* 1998; 6:831-6.

Kellermayer M, Ludány A, Jobst K, Szűcs G, Trombitás K, Hazlewood CF. Compartmentation of proteins and K⁺ within the living cell. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986; 83(4):1011-5.

Klatzo I. Evolution of brain edema concepts. *Acta Neurochir Suppl.* 1994; 60:3-6.

Ko SB, Uchida S, Naruse S, Kuwahara M, Ishibashi K, Marumo F, Hayakawa T, Sasaki S. Cloning and functional expression of rAQP9L a new member of aquaporin family from rat liver. *Biochem.Mol.Biol.Int.* 1999; 47:309-318.

Latour LL, Svoboda K, Mitra PP, Sotak CH. Time-dependent diffusion of water in a biological model system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91(4):1229-33.

Litzkovits L, Cserr HF, Park JT, Patlak CS, Pettigrew KD, Rimanoczy A. Effects of arginine vasopressin and atriopeptin on glial cell volume measured as 3-MG space. *Am J Physiol.* 1993; 264:C603-8.

Le Bihan D, Turner R, Moonen CT, Pekar J. Imaging of diffusion and microcirculation with gradient sensitization: design, strategy, and significance. *J Magn Reson Imaging.* 1991; 1:7-28.

Ling GN, Cope FW. Potassium ions: is the bulk of intracellular K absorbed? *Science* 1969; 163:1335-1336.

Ling GN. A revolution in the physiology of the living cell. Krieger Publishing Co, Florida, Malabar, 69-110, 1992.

Manley GT, Fujimura M, Ma T, Noshita N, Filiz F, Bollen AW, Chan P, Verkman AS. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nature Medicine* 2000; 6:159-163.

Matsubara A, Laake JH, Davanger S, Usami S, Ottersen OP. Organization of AMPA receptor subunits at a glutamate synapse: a quantitative immunogold analysis of hair cell synapses in the rat organ of Corti. *J. Neurosci.* 1996; 16:4457-4467.

Melton JE, Patlak CS, Pettigrew KD, Cserr HF. Volume regulatory loss of Na, Cl, and K from rat brain during acute hyponatremia. *Am J Physiol.* 1987; 252:F661-9.

Menon RS, Allen PS. Application of continuous relaxation time distributions to the fitting of data from model systems and excised tissue. *Magn Reson Med.* 1991; 20:214-27.

Menon RS, Rusinko MS, Allen PS. Multiexponential proton relaxation in model cellular systems. *Magn Reson Med.* 1991; 20:196-213.

Mintorovitch J, Moseley ME, Chileuitt L, Shimizu H, Cohen Y, Weinstein PR. Comparison of diffusion- and T2-weighted MRI for the early detection of cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Magn Reson Med.* 1991; 18(1):39-50.

Moseley ME, Cohen Y, Mintorovitch J, Chileuitt L, Shimizu H, Kucharczyk J, Wendland MF, Weinstein PR. Early detection of regional cerebral ischemia in

- cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy. *Magn Reson Med.* 1990; 14(2):330-46.
- Mulkem RV, Bleier AR, Adzamlı IK, Spencer RG, Sándor T, Jolesz FA. Two-site exchange revisited: a new method for extracting exchange parameters in biological systems. *Biophys J.* 1989; 55(2):221-32.
- Nakao N, Yokote IH, Nakai K, Komai N. Effect of atrial natriuretic peptide on ischemic brain edema: changes in brain water and electrolytes. *Neurosurgery* 1990; 27:39-44.
- Naruse S, Aoki Y, Takei R, Honkawa Y, Ueda S. Effects of atrial natriuretic peptide on ischemic brain edema in rats evaluated by proton magnetic resonance method. *Stroke* 1991; 22:61-65.
- Neumann-Haefelin T, Kastrup A, de Crespigny A, Yenari MA, Ringer T, Sun GH, Moseley ME. Serial MRI after transient focal cerebral ischemia in rats: dynamics of tissue injury, blood-brain barrier damage, and edema formation. *Stroke* 2000; 31:1965-72.
- Neumann-Haefelin T, Moseley ME, Albers GW. New magnetic resonance imaging methods for cerebrovascular disease: emerging clinical applications. *Ann. Neurol.* 2000; 47:559-570.
- Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Agre P. Distribution of the aquaporin CHIP in secretory and resorptive epithelia and capillary endothelia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90:7275-9.
- Nielsen S, Chou C-L, Marples D, Christensen EI, Kishore BK, Knepper MA. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1995; 92:1013-1017.
- Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OP. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J. Neurosci.* 1997; 17:171-180.
- Peachey LD, Rasmussen H. Structure of the toad's urinary bladder as related to its physiology. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1961; 10:529-553.
- Peled S, Cory DG, Raymond SA, Kirschner DA, Jolesz FA. Water diffusion, T2, and compartmentation in frog sciatic nerve. *Magn. Res. Med.* 1999; 42:911-918.
- Peruzzo B, Pastor FE, Blazquez JL, Schobitz K, Pelaez B, Amat P, Rodríguez EM. A second look at the barriers of the medial basal hypothalamus. *Exp. Brain Res.* 2000; 132:10-26.
- Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* 1992; 256:385-7.
- Raichle ME, Grubb RL Jr, Eichling JO. Osmotically induced changes in brain water permeability. *Acta Neurol Scand Suppl.* 1977; 64:494-5.
- Rash JE, Yasumura T, Hudson CS, Agre P, Nielsen S. Direct immunogold labeling of aquaporin-4 in square arrays of astrocyte and ependymocyte

plasma membranes in rat brain and spinal cord. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1998; 95:11981-11986.

Rosenberg GA, Scremin O, Estrada E, Kyner WT. Arginine vasopressin V1-antagonist and atrial natriuretic peptide reduce hemorrhagic brain edema in rats. *Stroke* 1992; 23:1767-73.

Sarfara D, Fraser CL. Effects of arginine vasopressin on cell volume regulation in brain astrocyte in culture. *Am J Physiol.* 1999; 276:E596-601.

Sevick RJ, Kanda F, Mintorovitch J, Arieff AI, Kucharczyk J, Tsuruda JS, Norman D, Moseley ME. Cytotoxic brain edema: assessment with diffusion-weighted MR imaging. *Radiology.* 1992; 185:687-90.

Sobel WT, Cameron IG, Inch WR, Pintar MM. Modeling of proton spin relaxation in muscle tissue using nuclear magnetic resonance spin grouping and exchange analysis. *Biophys J.* 1986; 50:181-91.

Stejskal EO, Tanner JE. Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient. *J. Chem. Phys.* 1965; 288-292.

Szafer A, Zhong J, Gore JC. Theoretical model for water diffusion in tissues. *Magn Reson Med.* 1995; 33:697-712.

Trachtman H. Cell volume regulation: a review of cerebral adaptive mechanisms and implications for clinical treatment of osmolal disturbances: II. *Pediatr Nephrol.* 1992; 6:104-12.

Tsukaguchi H, Shayakul C, Berger UV, Mackenzie B, Devidas S, Guggino WB, van Hoek AN, Hediger MA. Molecular characterization of a broad selectivity neutral solute channel. *J.Biol.Chem.* 1998; 273:24737-24743.

Weed LH, McKibben PS. Experimental alteration of brain bulk. *Am. J. Physiol.* 1919; 48:531-558.

Wells T. Vesicular osmometers, vasopressin secretion and aquaporin-4: a new mechanism for osmoreception? *Mol. Cell. Endocrinol.* 1998; 136:103-107.

Wen H, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Agre P, Ottersen OP, Nielsen S. Ontogeny of water transport in rat brain: postnatal expression of the aquaporin-4 water channel. *Eur J Neurosci.* 1999; 11:935-945.

Wood JH. Neuroendocrinology of cerebrospinal fluid: peptides, steroids, and other hormones. *Neurosurgery* 1982; 11:293-305.

Yeung VT, Ho SK, Leung DH, Stadlin A, Nicholls MG, Cockram CS. Binding of atrial and brain natriuretic peptides to cultured mouse astrocytes from different brain regions and effect on cyclic GMP production. *Glia* 1993; 4:243-247.

Zaidi SM, Heller H. Can neurohypophysial hormones cross the blood-cerebrospinal fluid barrier? *J. Endocrinol.* 1974; 60:195-196.

Zhong J, Petroff OA, Prichard JW, Gore JC. Changes in water diffusion and relaxation properties of rat cerebrum during status epilepticus. *Magn Reson Med.* 1993; 30:241-6.

Közlemények részletes listája

A PhD dolgozat alapjául szolgáló közlemények:

Z. Vajda, E. Berényi, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczi & E. Sulyok. Brain adaptation to water loading in rabbits as assessed by NMR relaxometry. *Pediatric Research* 46, 450-454 (1999) IF: 2.671

Z. Vajda, M. Pedersen, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær & S. Nielsen. Effects of Centrally Administered Arginine-Vasopressin and Atrial Natriuretic Peptide on the Development of Brain Edema in Hyponatremic Rats. *Neurosurgery* (közlésre elfogadva) IF: 2.8

Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen & S. Nielsen. Increased Aquaporin-4 Immunoreactivity in Rat Brain in Response to Systemic Hyponatremia. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 270, 495-503 (2000) IF: 3.161

M.-L. Elkjær, Z. Vajda, L. N. Nejsum, T.-H. Kwon, U. B. Jensen, M. Amiry-Moghaddam, J. Frøkiær & S. Nielsen. Immunolocalization of AQP9 in Liver, Epididymis, Testis, Spleen and Brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276, 1118-1128 (2000) IF: 3.161

További közlemények:

Z. Vajda, A. Büki, F. Vető, Z. Horváth, J. Sándor & T. Dóczi. Transcranial Doppler-determined pulsatility index in the evaluation of endoscopic third ventriculostomy (preliminary data). *Acta Neurochirurgica (Wien)* 141, 247-250 (1999). IF: 1.040

E. Sulyok, Z. Nyúl, P. Bogner, E. Berényi, I. Repa, Z. Vajda, T. Dóczi & G. Sedin. Brain water and proton magnetic resonance relaxation in preterm and term rabbit pups: their relation to tissue hyaluronan. *Biology of the Neonate*, in press. IF: 0.888

Z. Vajda, S. Nielsen, E. Sulyok & T. Dóczi. Aquaporins in cerebral volume regulation and edema formation. *Orvosi Hetilap* 142, 223-225 (2001).

Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen & S. Nielsen. The role of aquaporins in cerebral volume regulation and edema formation. In: S. Hohmann, S. Nielsen (editors) *Molecular Biology and Physiology of Water and Solute*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000, in press

E. Berényi, Z. Vajda, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczi & E. Sulyok. Brain adaptation to water loading in rabbits as assessed by NMR relaxometry. *Pediatric Nephrology* 13(7), 1999. IF: 1.158 (Abstract)

Z. Nyúl, E. Berényi, Z. Vajda, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczi, G. Sedin & E. Sulyok. Brain water in fetal and newborn rabbits as assessed by H^1 -NMR relaxometry: its relation to tissue hyaluronan. *Pediatric Nephrology* 13(7), 1999. IF: 1.158 (Abstract)

Nemzetközi konferenciák:

Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen & S. Nielsen. Assessment of aquaporin-4 in rat brain in response to systemic hyponatremia. Pannonian Symposium on CNS Injury, Pécs, 2000.

E. Berényi, Z. Vajda & E. Sulyok. Investigations of the Physical Properties of Brain Water by Means of MRI. Pannonian Symposium on CNS Injury, Pécs, 2000.

Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen & S. Nielsen. Assessment of aquaporin-4 in rat brain in response to systemic hyponatremia. 3rd International Conference on Molecular Biology and Physiology of Water and Solute Transport. Göteborg, Sweden, 2000.

Z. Vajda, D. Promeneur, T. Dóczi, E. Sulyok, J. Frøkiær, O.P. Ottersen & S. Nielsen. Regulation of brain AQP4 water channel in rats with hyponatremia and brain edema. 29th Annual Meeting of the Society of Neuroscience, Miami Beach, Florida, 1999.