

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

Ph. D. tézis

Dr. Vajda Zsolt



Témavezető: Prof. Dr. Dóczi Tamás

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

Elsőszó

A PhD dolgozat témája az agyi vízháztartás sejt- és molekuláris szintű szabályozó mechanizmusainak valamint az agyödéma patofiziológiájának többféle módszertani megközelítésből, köztük sejt- és molekuláris biológiai illetve mágneses rezonancia spektroszkópias (MRS) és képekítő (MRI) módszerekkel való vizsgálata. A tézis 4 közleményből és angol nyelvű összefoglalásból áll. A dolgozat alapját képező munkát a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Intézetében, a Klinikai MRI és MR spektroszkópia osztályán végeztem 1997-től 2001-ig, Prof. Dr. Dóczy 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. Répa, T. Dóczy & 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. Dóczy, E. Sulyok, J. Frøkaer, 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. Frommeur, T. Dóczy, E. Sulyok, J. Frøkaer, 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. Elkjaer, Z. Vajda, L. N. Nejsum, T.-H. Kwori, U. B. Jensen, M. Arnlj-Moghaddam, J. Frøkaer 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 Orvoskara Idegsebészeti Klinikája dolgozóinak munkámhoz nyújtott segítségét.

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

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

Hálával tartozom Søren Nielsen professzor úrnak az Aarhusi Egyetem Sejbiológiai 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 együtműködéséért.

Köszönöm Søren Nielsen/Jørgen Frøkiær munkacsoportjának segítségét: Gitte Christensen, Mette Visitsen, 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 csatorna képző fehérje
CSF	cerebrospinal fluid - liquor
DWI	diffusion weighted imaging – diffúzió súlyozott képalkotás
EC	extracelluláris
IC	intracelluláris
ICV	intracerebro-ventricular
MWIC	mercurial-insensitive water channel – higannyal nem gátolható vízcsatorna
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 (intenzív 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 kórelőletanával 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, ébren 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 fiziko-kémiai tulajdonságai miatt meghatározza az élő rendszerek fehérfélcancinak 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 ozmometemek' tekinthetjük, mivel az interstícium és a cytoplazma között fennálló ozmotikus egyensúly zavarai esetén a sejtek térfogatát szabályozó mechanizmusok aktiválódnak, melyek gátolják az ozmotikus grádienszt követő vízirramlást, csökkentik a sejtek zsugorodását illetve duzzadását és töreksznek a normális agyi térfogat és szöveti víztartalom visszaállítására (Trachtenman 1992; Guilans és Verbatis, 1993). Az agyszövetben található víz szervesen oldott részecskékkel valamint fehérjékkel, lipidekkel és glikozaminoglikánokkal – főként hialuronsavval (Granger, 1981) – lép interakcióba, és ezen interakciók erőssége alapján különböző kötöttségi fokú, eltérő fizikai tulajdonságokkal rendelkező vízterek különíthetők el.

A transzverzális (T_2) relaxáció multikomponens jellege

A biológiai szövetekben található víz protonjainak T_2 relaxációja multikomponenciális függvényvel írható le, mely multikomponenciális függvény megfelelő matematikai módszerrel komponenseire bontható. Az eltérő relaxációs idejű komponensek különböző mértékben kötött vízkompartimenteknek feleltethetők meg. Így a komponensek arányának és relaxációs idejének meghatározásával az egyes kompartmentek méretére és a bennük lévő víz kötöttségi fokára következtelhetünk (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 (Mulken et al, 1989; Berényi et al, 1998). A különböző mértékben kötött vízfракciók létezésének kémiai alapját és az intracelluláris tereit 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 elektronfelője 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 vízfракció vízmolekulái illetve protonjai folyamatosan cserélődnek egymással és ha ezen a kiscserélődés időskálájára nagyságrenddel rövidebb a relaxációs időnél, úgy a relaxáció sebessége ($1/T_2$) a szabad és kötött vízfракciók súlyozott átlagaként írható fel:

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

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

Difúzió-súlyozott képalkotás (DWI)

Minden egyes MR képpont (voxel) intenzitását a voxelben levő spinek protondensitása, T_1 , T_2 , valamint T_2^* relaxációs folyamatai határozzák meg. A protonok különböző téreirejű helyi mágneses mezőkbe diffundálása random fáziseltolódásokat hoz létre, mely fáziseltolódások összegződése az adott voxel szignáljának csökkenését eredményezi, amelyből a vízmolekulák voxelbeli difúziós állapotja (apparent diffusion coefficient, ADC) meghatározható. Az ADC változását több neurológiai körképben, így ischémiás stroke-ban (Neumann-Haeffelin et al, 2000), fejtraumában (Barzó et al, 1997), epilepsziás rohamokban (Zhong et al, 1993) és metaboikus rendellenességekben, mint szisztémás hyponatémia (Sevick et al, 1992) megfigyeltek. Az ADC változásai a sejtfogat, az extracelluláris tér 'sűrűségének' (tortuosity) és az egyes kompartmentek difúziós állapotjának változásait tükrözik. Az ADC csökkenése az intracelluláris tér expanziójával magyarázható (celluláris ödéma), mely során az extracelluláris térben gyorsabban diffundáló vízmolekulák az alacsonyabb difúziós konstansú intracelluláris térbe kerülnek (Moseley et al, 1990; Mintorovich 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 difúziós MRI a kísérletes agydémamodellekben, 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-Haeffelin et al, 2000b).

Az AVP és ANP agyi vízháztartásban betöltött szerepe.

Az agyi kapillárisendothelium vízpermeabilitása más, a szisztémás vízháztartásban résztvevő szervekhez hasonlóan (pl. vese gyűjtőcsatorna hámlia) szabályozott (Peachey and Rasmussen, 1961; Raichle et al, 1977) és az anginin vazopresszin (AVP) illetve atrialis nátruretikus peptid (ANP) szerepe ezen szabályozásban bizonyított (Cserr and Pallak, 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 vízfelszaporodást 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 sejtfogatot szabályozására kifejtett ellentétes hatását astroglialenyészetekben 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 Pallak, 1991; Dóczy, 1993).

Az aquaporin membrán-fehéjre család

Az aquaporinok (AQP) 28-30 kDa molekulasúlyú membránfehéjre 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 jelentését 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 ependymasejtekben és astrogliaokban, nagyfokban polarizált expressziót mutatva a szubarachnoidális és kamrai liquorereket határoló glia limitansban illetve az ependymasejteket szubependymalisan határoló astroglia végtalpokban

(Nielsen et al, 1997). Az AQP4 erős expressziója figyelhető meg az agyi kapillársokot körülvevő astroglia végtalpakban is (Nielsen et al, 1997). Az AQP4 expresszió ezen mintázata felveli a fehérje szerepét a központi idegrendszer folyadékcompartmentjei közötti víztranszportban. Ez a feltételezés megerősítést nyert az AQP4 knock-out egerekkel végzett kísérletekben, ahol ezen állatok jobb túlélését írták le különböző kísérletes agydémamodellekben (Manley et al, 2000). Az aquaporin-9 (AQP9) mFNS-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.

Céltűzések

A dolgozatban az agyi vízháztartás élettanát és az agydéma kórelőfordulását vizsgáltuk különböző megközelítésekben, mágneses rezonancia képalkotó (MRI) és sejtbiofizikai módszerek felhasználásával.

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

I. tanulmányban a különböző fokban kötött agyi vízfракciókban az agydéma 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 agydéma kialakulására gyakorolt hatását vizsgáltuk *in vivo* diffúzió súlyozott képalakítással és az T_1 -víz mappek segítségével.

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

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

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

Eredmények

A PhD dolgozatban mágneses rezonancia képalkotó (MRI) és spektroszkópiás (MRS) módszerek felhasználásával követjük nyomon az agyi vízterekben agyödéma kialakulása alatt bekövetkező változásokat, kísérletes agyödémamodellekben. Megvizsgáljuk továbbá a közelműltben felfedezett aquaporin (AQP) membrán vízcsaloma család központi idegrendszerben expresszáldó tagjai közül az AQP4-nek és AQP9-nek az agyi vízháztartásban és az agyödéma kórban betöltött lehetséges szerepét.

Az agyi szöveti vízprotonok transzverzális (T_2) relaxációjának multieponenciális analízise lehetővé teszi gyors (T_{21}) és lassú (T_{22}) relaxációs komponensek elkülönítését, mely komponensek makromolekulárisan kötött illetve szabad vízfракcióknak felelhetnek meg. Nyulokban létrehozott progresszív hyponatrémiában a kötött vízfракció 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 kifejldő nagyfokú hyponatémia ellenére az agyi vízterekben nem történt megfigyelhető változás. Ezen megfigyelések alapján a celluláris és szöveti makromolekuláris mátrixhoz különböző fokban kötött vízfракciók közötti redisztribúció fontos szerepet játszik a szisztémás ozmotikus zavarokban működő adaptációs mechanizmusokban.

A szisztémás vízháztartásban kulcsszerepet betöltő két fehérje hormon, az arginin vazopresszin (AVP) és atrális nátrüreikus peptid (ANP) agyi térfogat szabályzásban 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 képalakítást (DWI) és T_1 -viztartalom map-eket használtunk. Diffúzió-súlyozott MRI-vel meghatározható a vizsgált szövet apparens diffúziós koeficiense (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 hyposzmotikus vízterelés és az annak következményeként kifejldő szisztémás hyponatémia az ADC gyors esését váltotta ki mindhárom kísérleti csoportban, jelezve az intracelluláris kompartment növekedését. A hyponatémia 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. fiziológiás sóoldattal illetve ANP-vel kezelt állatok agyának ADC-je között. Az icv. AVP-vel kezelt csoport agyának ADC-je a hyponatémias protokoll kezdetén nem mutatott különbséget az icv. sóval kezelt állatokéhoz viszonyítva, azonban a hyponatémia progressziójával az ADC csökkenése szignifikánsan nagyobb volt az AVP csoportban, jelezve a nagyobb mértékű intracelluláris vízfelhalmozódást ebben a csoportban. A T_1 -vizmap-ek használata lehetővé tette az agyi szöveti víztartalom élöben 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 -vizmap technológiák kombinációja lehetővé teszi az agyszövet víztartalmanak és annak az egyes szöveti vízkompartmentek közötti eloszlásának élöben 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 vízcsaloma immunoreaktivitásában és lokalizációjában szisztémás hyponatémia hatására bekövetkező változások felvetik az agyban jelenlévő AQP4 vízcsaloma modifikációjának lehetőségét, mely potenciális védő mechanizmusként funkcionálhat az intracelluláris vízfelhalmozódás megelőzésében. Ezen megfigyelés, valamint közelműltben publikált

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

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

Irodalom

- Barthwal R, Hohn-Berthage 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, Mammarrou 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, Pataik 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, Quatieri 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 edema 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, Kratt 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, Willdey GM, Manaker S, Glenbocki 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 hypoosmolar 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, Sarnacki P, Erieff AI. Atrial natriuretic peptide inhibits amiloride-sensitive sodium uptake in rat brain. *Am J Physiol*. 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, Latzkovits 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.
- Kellemayer M, Luddany 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 AQP9L 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.
- Latzkovits L, Cserr HF, Park JT, Pallak 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, Pallak 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.
- Mintorovich J, Moseley ME, Chilcote 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, Mintorovich J, Chilcote 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.

Mulkern RV, Bleier AR, Adzarnil 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, Horikawa 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, Kasstrup 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 absorptive 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, Rodriguez 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, Scramin 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, Mintorovich J, Aheff AI, Kucharczyk J, Tsunoda 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, Pinter 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.

Szafar 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 osmolar disturbances: II. *Pediatr Nephrol* 1992; 6:104-12.

Tsukaguchi H, Shayakul C, Berger UV, Mackenzie B, Devadas 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. Vaida, E. Berényi, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczy & E. Sulyok. Brain adaptation to water loading in rabbits as assessed by NMR relaxometry. *Pediatric Research* 46, 450-454 (1999) IF: 2,671
- Z. Vaida, M. Pedersen, T. Dóczy, 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 előgadván) IF: 2,8
- Z. Vaida, D. Promeneur, T. Dóczy, 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. Elkjaer, Z. Vaida, L. N. Neisum, T.-H. Kwon, U. B. Jensen, M. Arny-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. Vaida, A. Büki, F. Verő, Z. Horváth, J. Sándor & T. Dóczy. 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. Vaida, T. Dóczy & 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. Vaida, S. Nielsen, E. Sulyok & T. Dóczy. Aquaporins in cerebral volume regulation and edema formation. *Orvosi Hetilap* 142, 223-225 (2001).
- Z. Vaida, D. Promeneur, T. Dóczy, 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. Vaida, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczy & 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. Vaida, P. Bogner, I. Repa, T. Dóczy, 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. Vaida, D. Promeneur, T. Dóczy, 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. Vaida & E. Sulyok. Investigations of the Physical Properties of Brain Water by Means of MFI. Pannonian Symposium on CNS Injury, Pécs, 2000.
- Z. Vaida, D. Promeneur, T. Dóczy, 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. Vaida, D. Promeneur, T. Dóczy, 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.