

A „Sejt-autonóm és nem sejt-autonóm tényezők tanulmányozása a motoros idegsejtek degenerációja során” című pályázat záró szakmai összefoglalója.

Azonosítási szám: T-048718

Futamidő: 2005-2008

Témavezető: Siklós László

## A PÁLYÁZATBAN MEGFOGALMAZOTT MUNKATERVI PONTOK ÉS A KAPCSOLÓDÓ EREDMÉNYEK:

I. Az idegsejtek szelektív károsodásának belső, „sejt-autonóm” tulajdonságoktól történő függése. A különbözően érzékeny mozgató idegsejtek kalcium- és kalcium-kötő fehérje szintjének követése axon-átvágás után megnövelt parvalbumin szintű egerekben elektronmikroszkópos hisztokémiával, illetve fénymikroszkópos immuncitokémiával. Az eredmények vad-típusú állatok hasonló kísérleteihez való hasonlítása. Lehetőség szerint axon-átvágásra kevésbé érzékeny (slow Wallerian degeneration) transzgenikus állatok hasonló jellemzése.

Munkahipotézisünk szerint a motoneuronok sérülésének sejt-autonóm komponensében az intracelluláris kalcium-szint változásai központi jelentőségűek. A problémakör kísérletes vizsgálatára akut léziós (axotómiás), illetve target deprivációs modellt állítottunk be. Vad típusú (Balb/c) egereken a hypoglossus és az oculomotorius magokban a léziót követően a parvalbumin, a kalbindin-D28k és az intracelluláris kalcium szint változásait jellemeztük. Eredményeink igazolták, hogy a magasabb parvalbumin tartalmú oculomotorius idegsejtekben – sérülést követően – az intracelluláris kalcium szint kevésbé emelkedik a hypoglossus mag motoneuronjaihoz viszonyítva [12, 19, 22, 23]. Ebben a modellben a neuronális sérülés mértékének jellemzésére NeuN festést végeztünk, melyről kimutatták, hogy sérülés hatására az idegsejtekben az expressziója lecsökken. A kalcium-szint sejtítpushoz köthető differenciált növekedésével összhangban az oculomotorius magban a NeuN festés változását nem tudtuk kimutatni, míg a hypoglossus magban a NeuN pozitivitás jelentősen lecsökkent [12] – tehát a magasabb kalcium-kötő fehérje szint (jelen esetben parvalbumin) ténylegesen protektív lehet a vizsgált mozgató idegsejtek esetében.

A fenti eredmények alapján felvetődik a kérdés, hogy a kimutatott protektív hatás mennyire köthető ténylegesen a magasabb parvalbumin szinthez, illetve tulajdonítható-e a III. és a XII. magok mozgató idegsejtjeinek eltérő neuronális hálózatba szerveződésének? A kérdés vizsgálatára – nemzetközi együttműködésben (CaMII promótert alkalmazva) – olyan homozigóta egértörzset fejlesztettünk ki, melyek idegsejtjeiben megnövelt parvalbumin szintet tartalmaznak (PV<sup>+/+</sup>). Így, a két motoros magban a mozgató idegsejteket eredeti környezetükben, ugyanabban a kísérleti modellben, de megváltozott parvalbumin szint mellett vizsgálhattuk. A mozgató idegsejtek kalcium szintjének változásait az idegátvágást (XII. mag) illetve az enukleációt (III. mag) követő 1, 4, 7, 14 és 21. napokon követtük (elektronmikroszkóposan), amit a korábbi kísérletekhez igazodóan a műtetlen oldalra vonatkoztatott arányban fejeztünk ki. Kontrollként – a törzs-specifikus tulajdonságokból eredő különbségek kiküszöbölésére – B6/SJL egereken (melyek a PV<sup>+/+</sup> transzgenikus egerek kiinduló állatai) is elvégeztük a kísérleteket. A vad típusú állatok XII. magi mozgató idegsejtjeiben maximálisan 1.7-szeres kalcium szint növekedést mutattunk ki (az operációt követő 7. napon), ami a 3. hét végére tért vissza az alapszintre [14]. A PV<sup>+/+</sup> állatok motoneuronjaiban, sem a III. magban, sem a XII. magban kalcium szint növekedést nem találtunk, vagyis az eredményeink alapján úgy tűnik, hogy – legalább is akut sérülések során – a megemelkedett PV szint a kalcium által indukált degeneratív folyamatokkal szemben a vizsgált mozgató idegsejteket ellenállóbbá teszi [14].

A „slow-Wallerian-degeneration (<sup>S</sup>Wld)” egerek felfedezése egy új utat nyitott a neuroprotektív stratégiák kidolgozásában, miután kimutatták, hogy a <sup>S</sup>Wld gén bevitelével akut és krónikus stressz-helyzetekben is protektív hatású, melynek mechanizmusa viszont többnyire tisztázatlan. A jelenség a mozgató idegsejtek degenerációja szempontjából azért került az érdeklődés középpontjába, mert úgy tűnik, hogy a motoneuronális degeneráció során az axonok sérülése igen korai (talán kiinduló?) jelenség. Kísérleteink során azt vizsgáltuk, hogy ez az <sup>S</sup>Wld mutációtól függő védekező mechanizmus összefüggésbe hozható-e a mutáns axonok egy megváltozott intracelluláris kalcium háztartásával. Kísérleteinket az ischiadicus ideg ronsolásán alapuló modellen végeztük, melyben irodalmilag ismert, hogy a sérüléshez közeli Schmidt-Lanterman befűződések alatt a fiziológiai körülmények során tapasztalható kalcium gradiens az lézió hatására eltűnik. Az irodalmi adatokat csak statisztikai sokaságú populáción tudtuk igazolni: a vad típusú állatokban a sérülés hatására az idegrostok 22%-ban figyelhető meg a kalcium gradiens eltűnése. Az <sup>S</sup>Wld állatokon, ezzel szemben, az akut stressz nem okozott változást az ellenoldali (műtetlen) rostokhoz viszonyítva [11].

II. Az idegsejtek károsodásának „nem sejt-autonóm” sajátságoktól történő függése. A különbözően ellenálló motoros magvakban (hypoglossus, oculomotorius) tapasztalható mikroglia és citokin reakció immuncitokémiai jellemzése krónikus stressz során (SOD1 transzgenikus állatban) és akut stresszben (anti-motoneuronális IgG injektálása után).

A motoneuronok sérülésében a környező (glia) sejtek és az ezekkel asszociálható citokin reakciók lehetséges szerepének tanulmányozására, krónikus stressz során, a motoneuron betegség SOD1(G93A) transzgenikus modelljét használtuk. Próbakísérleteink után, a III. mag (glia) sejtreakciói kvantifikálhatóságának (méret miatti) nehézsége miatt, valamint a XII. mag és a gerincvelői IX. lamina hasonló reakciója miatt vizsgálatainkat a gerincvelőre korlátoztuk. Az egerekben a betegség tünetei lassan fejlődnek ki, a motoneuronok pusztulása ezzel arányosan lassan megy végbe, így a gliareakció ezekhez viszonyított időzítése jól meghatározható. Az általunk vizsgált G98A mutációval rendelkező törzsből a klinikai tünetek 90-95 napos kor körül kezdődnek. A klinikai tünetek kialakulása előtt 15, 39 és 80 napos korban, valamint a tünetek kialakulása után 110 és 140 napos korban követtük – többek között – a CD11b (mikroglia marker), CD68 (makrofág marker) és az MCP1 (monocita kemotaktikus protein) expresszióját és megoszlását RT-PCR és immuncitokémiai módszerekkel [10]. Mindhárom marker szignifikáns, életkorfüggő emelkedést mutatott a klinikai tünetek kialakulását követően, a betegség progressiójával arányosan, ami megerősíti, hogy az immun/gyulladásos folyamatok a motoneuron betegség patomechanizmusának szerves részét képezik. További eredményünk, hogy emelkedett MCP1 reakció már 15 napos korban, CD68 reakció leghamarabb 39 napos korban, és szignifikáns CD11b reakció 80 napos korban már kimutatható, amikor nemcsak a klinikai tünetek hiányoznak, hanem számottevő sejtpusztulás sem detektálható [10]. Ez felveti, hogy ez a korai immunreakció a későbbi sejtpusztulás látenszen működő kiváltó oka lehet.

Munkahipotézisünk tesztelésére, hogy közvetlen összefüggés állapítható-e meg a mozgató idegsejtek kalcium-kötő fehérje tartalmával jellemzett „sejt-autonóm” tulajdonsága és a környéki immunreakció mértékével jelzett „nem sejt-autonóm” sajátságok között, PV+/- és vad típusú állatokat alkalmaztunk. Kísérletesen, az ischiadicus ideg átvágásával indukált sérülés motoneuronális és környéki változásait vizsgáltuk. A műtétet követően a sérülés környékén indukált lokális immunreakciót (CD11b-vel mért mikroglia aktivációt) vizsgálva megállapítottuk, hogy a reakció mértéke igen nagy heterogenitást mutat úgy az egyes állatok tekintetében, mint a mintavétel helyét illetően. Ezért, egy olyan időpontot kiválasztva, amikor már intenzív gyulladási reakció volt kimutatható (4. nap), egy olyan automatizált módszert

fejlesztettünk ki, amivel az immuncitokémiai módszerekkel kimutatható immunreakció mértéke reprodukálhatóan kvantifikálható volt [16, 17, 18, 19, 20]. Ebben a műtét utáni időpontban megállapítottuk, hogy a két állattörzsben a mikroglia reakció mértéke nem különbözik. A kidolgozott módszerrel a CD11b reakció, és a motoneuronális MCP1 reakció mértékét a két törzsben az idő függvényében, az operációt követő 1, 4, 7, 14 és 21. napokon vizsgáltuk meg, és kimutattuk, hogy a CD11b reakció mértéke a PV<sup>+/+</sup> állatokban szignifikánsan hamarabb csökken, mint a vad típusú állatokban. Továbbá, az MCP1 reakció erősségének csökkenése még a CD11b jel erősségének csökkenését is megelőzi. Elektronmikroszkópos morfológiai és kalcium hisztokémiai vizsgálatokkal igazoltuk ugyanakkor, hogy a PV<sup>+/+</sup> állatok sérült motoros idegsejtjeiben a léziót követő 7. napon (amikor a gyulladásos reakció maximumot mutatott) nem detektálható szignifikáns kalcium szint emelkedés – szemben a vad típusú állatokkal, melyek spinális motoneuronjaiban ugyanakkor, közel 2x-es szint emelkedés volt mérhető [15]. Jelen adataink összhangban vannak korábbi kísérleteinkkel, és kiegészítő magyarázattal szolgálnak azokhoz, melyekben kimutattuk, hogy a SOD1 transzgenikus állatokban a PV overexpresszió csak mérsékelten sikeres védekezést eredményez, vagyis a megnövelt PV szint ténylegesen „csak” pufferként hat. Így ha a stressz tartós, és/vagy a környéki immunreakció irányultsága károsító, ez még a kalcium-indukált destruktív folyamatokkal szemben megnövelt ellenálló-képességű sejtek pusztulását is eredményezheti. Ugyanakkor az eredmények ráirányítják a figyelmet arra a lehetőségre, hogy a motoneuron betegségben (vagy modelljeiben) a motoneuronok védelmére a környező gliasejteket is „kezelní” kell.

A mikroglia sejtek aktív szerepének és „kezelhetőségének” vizsgálatára a modellezett motoneuron betegség lefolyása során célzott kísérletet végeztünk, melyhez a SOD1(G93A) és a PU.1 knockout (PU.1<sup>-/-</sup>) egereket használtuk. A PU.1<sup>-/-</sup> egerek nem képesek myeloid és lymphoid sejtek kialakítására, születésükkor nem tartalmaznak makrofág, neutrophil, T és B sejteket, mikroglia sejteket sem, és csak úgy maradnak életben, ha a születést követően néhány napon belül egy donor állatoktól csontvelőt kapnak. Első kísérletünkben, a PU.1<sup>-/-</sup> egereknek SOD mutáns csontvelő adásával megmutattuk, hogy a SOD1(G93A) eredetű mikroglia sejtek önmagukban nem képesek degenerációt indukálni, mivel a transzplantált egerek normálisan fejlődtek, és nem mutattak ALS-jellegű betegség tünetet sem. A SOD1(G93A) x PU.1<sup>-/-</sup> egerekben viszont, a mutáns SOD egerekhez hasonlóan, azokéhoz hasonló ütemben fejlődtek ki a betegség tünetei, amennyiben SOD1(G93A) eredetű csontvelőt kaptak. Ezekhez az állatokhoz viszonyítva, ha a SOD1(G93A) x PU.1<sup>-/-</sup> keresztezett egerek a születést követően vad típusú donortól kaptak csontvelőt a modell-betegség progressziója szignifikánsan lelassult. Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy a neuronális degeneráció során a mikroglia sejtek terápiás beavatkozások reális célpontjai lehetnek [2].

A fenti kísérleteink eredményei, melyet a (moto)neuronális degeneráció akut léziós és transzgenikus egér (krónikus stressz) modelljein végezve kaptunk, mind arra utaltak, hogy a mozgató idegsejtek sérülése, és – megfelelően súlyos inzultus esetén – a pusztulása egy olyan folyamat, melynek végső kimenetelét a sérült idegsejtek belső tulajdonságai mellett a környező, immunfeladatokat is ellátó (glia) sejtek határozzák meg. A motoneuron betegség SOD1 modelljében igazoltuk, hogy a sérült mozgató idegsejtek környező (mikro)glia sejtjeinek vad típusú idegsejtekre történő cseréje a sejtpusztulási folyamatot lelassítja, és az állatok élettartamát megnöveli. Ezen állatkísérlettel analóg beavatkozást terveztünk, illetve végeztünk motoneuron betegségben (ALS-ben) szenvedő betegeken, melytől a betegség progressziójának lassulását vártuk. A 6 betegen elvégzett komplikált, az ikertestvér donoroktól nyert csontvelő átültetésen alapuló eljárás azonban nem váltotta be a hozzáfűzött reményeket: a csontvelő átültetett ALS betegek esetében a betegség lefolyásának üteme

(csoport átlag szinten) nem különbözött szignifikánsan a megfelelően választott (nem csontvelő transzplantált ALS) kontroll populáció alapján számítottól [1]. A negatív eredmény számos, egyelőre nem meghatározható okra vezethető vissza, melyek egyike – feltehetően – olyan releváns ismeretbeli hiányosság, ami további alapkutatási irányultságú kutatásokat kényszerít ki. Ugyanakkor, a kutatást lezáró kóronctani és genetikai vizsgálatok egyik pozitív eredményeként kimutattuk, hogy a donor eredetű, elsősorban CD68 pozitív sejtek a primer gerincvelői sérülés helyén dúsulnak fel. Ez a felismerés – természetesen további részletesebb vizsgálatok után – alkalmas adhat ebben a betegségben egy új típusú terápiás beavatkozásra, mely során a donor sejteket szállítóeszközként használva megfelelő trofikus faktorokat juttathatunk közvetlenül a sérülés helyére [1, 22, 23, 24, 25].

III. A különböző fenotípust mutató modellekben, vagy fajokban az eltérő rezisztencia lehetséges okainak keresése. A különbözően ellenálló motoros idegsejtek serkentő/gátló beidegzési arányának és/vagy kalcium-kötő fehérje tartalmának és/vagy kalcium pumpa/csatorna összetételének, vagy még nem definiálható, lényegbevágó tulajdonságainak jellemzése különböző fenotípust mutató egér-, vagy különböző állatfajon alapuló transzgenikus modellen és kontroll állatokon, illetve az eredmények lehetőség szerinti összevetése hasonlóan jellemzett humán kóronctani mintákéval.

Kísérleteinket a motoneuron betegség legelterjedtebben használt, a SOD1(G93A) mutáción alapuló egér- és patkány állatmodelljein végeztük. Még ezen két igen közeli törzs esetén is az azonos mutáció eltérő fenotípust mutatott: míg az egérben a betegség első tünetei invariábilisan a hátsó végtagokon jelentek meg, addig patkányban – az emberi betegséget jobban megközelítően - a tünetek az első vagy a hátsó végtagokban is elkezdődhetnek. Minthogy korábbi kísérleteink során igazoltuk a mikroglia aktiváció (CD11b) és az MCP1 expresszió szerepét a betegség patogenezisében, vizsgálatainkat e két markernek a betegség előrehaladásával arányos időbeli változása analízisére fókuszáltuk (~18, ~40, ~80, ~100 napos kor, illetve végstádium).

A transzgenikus patkányokban az MCP1 festés – mely a gerincvelőben csak a mozgató idegsejtekben volt detektálható – legkorábban 40 napos korban volt kimutatható, a festődés erőssége 70-80 napos korban érte el a maximumot, és közel 100 napos korra a festődés eltűnt (inverz U alakú időfüggés). A mikroglia aktivációt kvalitatíve a CD11b denzitás változása és morfológiai jelek alapján jellemeztük, mely 50-70 napos korban, az MCP1 festődés megjelenéséhez viszonyítva némi késéssel jelentkezett a patkányokban. A mikroglia proliferáció az MCP1 jel eltűnése után is, az állatok haláláig növekedett, bár mindvégig a ventro-laterálisan elhelyezkedő motoneuronok környékére korlátozódott [26]. A transzgenikus egerekben az MCP1 festés minden vizsgált időpontban kimutatható volt, és nem korlátozódott a mozgató idegsejtekre. A festés erőssége (kvalitatíve) a korai vizsgált időpontok (~18 nap) magas értékéről lecsökkent egy minimális értékre az állatok 40-80 napos korára, majd újra emelkedni kezdett, mely az állatok elpusztulásáig tartott [26]. Ezt a nem várt U-alakú időfüggést RT-PCR mérésekkel is igazoltuk [10]. Az egerekben a szignifikáns mikroglia aktiváció az MCP1 expresszió minimális értéke körüli időpontban (~80) volt először kimutatható, ami az állatok hátralevő élettartama alatt folyamatosan növekedett, és kiterjedt az egész gerincvelői szürke állományra. Az MCP1 reakció ellentétes kifejlődése ugyanazon mutáció hatására olyan közeli fajokban, mint a patkány és az egér, valamint az aktivált mikroglia eloszlás különbözősége, a motoneuron betegség transzlációs kutatása számára adhat használható információt.

IV. A neurodegeneráció mechanizmusa általánosíthatósági szempontjai. (Kidolgozás alatt álló) kollaborációs lehetőségek függvényében további ALS- és nem-ALS neurodegenerációs

transzgenikus modellek beszerzése, vagy beállítása és a megfelelő struktúrák I-II. szempontok szerinti jellemzése.

A munkatervi ponthoz köthető vizsgálatainkat két irányban végeztük. Állatkísérleteket a Huntington betegség transzgenikus modelljén végeztünk: A HD R6/2 hím egereket (Jackson Laboratories) B6CBAF1/J nőstény állatokkal pároztatva a transzgenikus kolóniát helyileg, az SZTE Neurológiai Klinikájával kooperációban tenyésztettük. A vizsgálataink célja – a betegség egy korai stádiumában és végstádiumban – a striatum közepes méretű tüskés neuronjainak jellemzése az intracelluláris kalcium-eloszlás szempontjából az általunk rutinszerűen alkalmazott ultrastrukturális módszerekkel. Az eddig feldolgozott állatokban a kalcium szint tekintetében nagy heterogenitást tapasztaltunk, és nem kaptunk publikálható konzekvens eredményeket.

További vizsgálatokat – szintén az SZTE Neurológiai Klinikájával együttműködve – Parkinson betegségben szenvedők substantia nigrájából (SN) származó posztmortem mintáin végeztünk. A motoneuron betegség és modelljeiben tapasztaltakhoz illeszkedően azt találtuk, hogy a parvalbumin tartalmú SN sejtek nem mutatnak sérülésre, apoptózisra utaló jeleket (PARP aktiváció, NF- $\kappa$ B nukleáris transzlokáció), ennek megfelelően ellenállóbbak a betegséggel szemben [30].

#### A FUTAMIDÓ ALATT MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA:

1. Appel SH, Engelhardt JI, Henkel JS, Siklós L, Beers DR, Yen AA, Simpson EP, Luo Y, Carrum G, Heslop HE, Brenner MK, Popat U: Hematopoietic stem cell transplantation in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, 71:1326-1334(2008)
2. Beers DR, Henkel JS, Xiao Q, Zhao W, Wang J, Yen AA, Siklós L, McKercher SR, Appel SH: Wild-type microglia extend survival in PU.1 knockout mice with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.*, 103:16021-16026(2006)
3. Engelhardt JI, Soós J, Obál I, Siklós L, Henkel JS, Appel SH: Immune-inflammatory reactions in ALS. 3rd European ALS Consortium Research Workshop, Umea, Sweden, June 10-12, 2005. Abstract Book, P9.
4. Engelhardt J, Siklós L: Immun-gyulladásos jelenségek a neurodegeneratív betegségekben. Ideg- és Elmeorvosok Társaságának 34. nagygyűlése, Szeged, 2005. október 13-15. *Cephalalgia Hungarica*, No.15, 50-51(2005)
5. Engelhardt JI, Soós J, Víg L, Siklós L: Subcellular localization of IgG from the sera of ALS patients in the nervous system. *Acta Neurologica Scandinavica*, 112:126-133(2005)
6. Gyenes A, Berger Á, Csákvári E, Kurunczi A, Siklós L, Párducz Á: Microglia activation following nerve injury in the oculomotor nucleus: effect of hormonal environment. Magyar Idegtudományi Társaság Konferenciája, 2007. január 24-27, Szeged.
7. Gyenes A, Berger Á, Paizs M, Siklós L, Párducz Á: 17 $\beta$ -ösztradiol és DHEA hatása az idegi károsodást követő gyulladásos folyamatokra. A Magyar Biokémiai Egyesület 2008. évi Vándorgyűlése, Szeged, 2008. augusztus 31-szeptember 3.
8. Gyenes A, Hoyk Z, Csákvári E, Paizs M, Siklós L, Párducz Á: Microglia activation following nerve injury in the oculomotor nucleus: effect of 17 $\beta$ -estradiol and dehydroepiandrosterone. 5th International Meeting – Steroids and Nervous System. Torino, February 13-18, 2009.

9. Gyenes A, Hoyk Z, Csákvári E, Siklós L, Párducz Á: Effects of estradiol on the microglia reaction following nerve injury. *Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle*, 59(suppl.1):24(2006)
10. Henkel JS, Beers DR, Siklós L, Appel SH: The chemokine MCP-1 and the dendritic and myeloid cells are increased in the mSOD1 mouse model of ALS. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 31:427-437(2006)
11. Morreale G, Adalbert R, Conforti L, Walker S, Roderick L, Siklós L, Bootman M, Coleman M: Intra-axonal calcium changes after axotomy. Abstracts of the conference on „Molecular and cellular mechanisms of axon degeneration”, The Babraham Institute, Cambridge, September 10-12, 2006.
12. Obál I, Engelhardt JI, Siklós L: Axotomy induces contrasting changes in calcium and calcium-binding proteins in oculomotor and hypoglossal nuclei of Balb/c mice. *The Journal of Comparative Neurology*, 499:17-32(2006)
13. Obál I, Soós J, Henkel J, Appel S, Siklós L, Engelhardt J: Immun/gyulladásos reakció ALS-ben. Ideg- és Elmeorvosok Társaságának 34. nagygyűlése, Szeged, 2005. október 13-15. *Cephalalgia Hungarica*, No.15, 100(2005)
14. Paizs M, Engelhardt JI, Katarova Z, Gyenes A, Siklós L: Reduced calcium increase after axotomy in hypoglossal motor neurons of mice with increased parvalbumin level. Magyar Idegtudományi Társaság XII. Konferenciája, 2009. január 22-24, Budapest.
15. Paizs M, Engelhardt JI, Katarova Z, Siklós L: Parvalbumin upregulation reduces calcium increase in spinal motor neurons and decreases the duration of inflammatory reaction after acute lesion. Magyar Idegtudományi Társaság XII. Konferenciája, 2009. január 22-24, Budapest.
16. Paizs M, Engelhardt JI, Siklós L: Immune/inflammatory reactions in the spinal cord after axotomy. *Clinical Neuroscience/Ideggyógyászati Szemle*, 59(suppl.1):51(2006)
17. Paizs M, Engelhardt JI, Siklós L: Quantitative assessment of relative changes of immunohistochemical staining by light microscopy in specified anatomical regions. *Journal of Microscopy*, in press (2009)
18. Paizs M, Engelhardt JI, Siklós L: Measurement of relative changes in immunohistochemical staining by light microscopy in neuronal tissue. Magyar Idegtudományi Társaság XII. Konferenciája, 2009. január 22-24, Budapest
19. Paizs M, Siklós L: In vivo neuroprotection assay: study the role of parvalbumin in motoneuronal injury. Annual lecture series in memory of F.B. Straub, November 15-17, 2006, Szeged.
20. Paizs M, Siklós L: Neuroprotective effect of parvalbumin in acute lesion of the spinal cord. Annual lecture series in memory of F.B. Straub, December 3-5, 2008, Szeged.
21. Reményi P, Masszi T, Borbényi Z, Soós J, Siklós L, Engelhardt JI: CIDP cured by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *European Journal of Neurology*, 14:e1-e2(2007)
22. Siklós L: Attempts to understand motor neuron disease with special emphasis on the role of calcium. Babraham Seminar Series – Summer, 2006. The Babraham Institute, Cambridge, UK
23. Siklós L: A kalcium az idegi folyamatok valutája ... és ha megbomlik a fizetési egyensúly? Mindentudás Egyeteme – Szeged. 2008. április 9.

24. Siklós L: Ami legyűrte minden idők egyik legjobb baseball játékosát: a mozgató idegrendszer betegsége. *Természet Világa*, 138:227-230(2007)
25. Siklós L, Engelhardt JI: From the petri dish to the bedside: attempts to understand motor neuron disease. Annual lecture series in memory of F.B. Straub, November 16-18, 2005, Szeged.
26. Siklós L, Paizs M, Henkel J, Beers DR, Appel SH: Microglial activation and MCP-1 staining pattern develop differently with disease progression in the spinal cord of SOD1 mutant mouse and rat. (International conference on "Mutant SOD and familial ALS: from the molecule to man", Mario Negri Institute of Pharmacological Research, Milan, Italy, September 13-16, 2007.)
27. Siklós L, Párducz Á, Engelhardt JI, Gyenes A, Paizs M: Non-cell-autonomous aspects of the degeneration of motor neurons – new basis of attempts of neuroprotection. Magyar Idegtudományi Társaság Konferenciája, 2007. január 24-27, Szeged.
28. Soós J, Engelhardt JI, Obál I, Siklós L, Kim S, Appel SH: Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in ALS. 3rd European ALS Consortium Research Workshop, Umea, Sweden, June 10-12, 2005. Abstract Book, O19.
29. Soós J, Obál I, Kim S, Henkel J, Appel S, Siklós L, Engelhardt J: Poli(ADP-ribóz) polimeráz (PARP) a motoneuron károsodás pathomechanizmusában. Ideg- és Elmeorvosok Társaságának 34. nagygyűlése, Szeged, 2005. október 13-15. *Cephalalgia Hungarica*, No.15, 104-105(2005)
30. Soós J, Obál I, Siklós L, Majtényi K, Havas L, Engelhardt J: A PARP, NF-kB és parvalbumin expresszió a substantia nigra (SN) dopaminerg sejtjeiben Parkinson kórban. Ideg- és Elmeorvosok Társaságának 34. nagygyűlése, Szeged, 2005. október 13-15. *Cephalalgia Hungarica*, No.15, 105-106(2005)
31. Turchányi B, Hamar J, Tömböl T, Siklós L: Capsaicin delays regeneration of the neuromuscular junction of rat extensor digitorum longus muscle after ischemia. *Muscle and Nerve*, 33:556-567(2006)
32. Vigh L, Smith RG, Soós J, Engelhardt JI, Appel SH, Siklós L: Sublethal dose of 4-hydroxynonenal reduces intracellular calcium in surviving motor neurons in vivo. *Acta Neuropathologica*, 109:567-575(2005)

#### A MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK STATISZTIKÁJA:

Konferencia kivonat: 22

In extenso tudományos közlemény: 8

Ismeretterjesztő közlemény: 1

Ismeretterjesztő televíziós előadás: 1

A közlemények kumulatív impakt faktora: 34.98

A közleményekre eddig kapott hivatkozások száma: 94