

SEMMELWEIS EGYETEM
DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2629.

PÖLÖSKEINÉ SZÉNÁSI ANNAMÁRIA

**A folyadék- és elektrolitháztartás szabályozásának élet- és kórélettana-Keringés és
vérnyomás szabályozás
című program**

Programvezető: Dr. Zsembery Ákos, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Koller Ákos, professor emeritus

AZ AGYI AUTOREGULÁCIÓ ÚJ ASPEKTUSAI

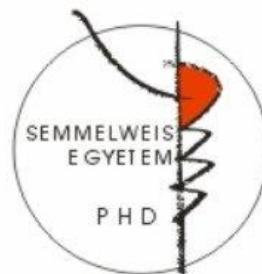
A traumás agysérülés hatása az agyi artériák
áramlás-indukálta konstriktórára: *az arachidonsav
jelút szerepe és az autoreguláció érintettsége*

Doktori értekezés

Dr. Pölöskeiné Szénási Annamária

Semmelweis Egyetem

Elméleti és Transzlációs orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Koller Ákos, DSc., professor emeritus

Hivatalos bírálók: Dr. Veresh Zoltán, Ph.D., részlegvezető adjunktus
Dr. Banga Péter Vince, Ph.D., adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Bereczki Dániel, DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Nyakas Csaba, DSc., professor emeritus
Dr. Várbíró Szabolcs, Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2021

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke

1. BEVEZETÉS	6
1.1. A Monro-Kellie doktrína.....	8
1.2. Az agyi véráramlást (CBF) befolyásoló tényezők	9
1.3. Az agyi metabolikus szabályozó mediátorok szerepe.....	10
1.4. Az agyi vérkeringés autoregulációja	13
1.5. A regionális/lokális vérkeringés szabályozása az agyban.....	14
1.6. Az arachidonsav, metabolitjai és a receptorai.....	15
1.7. Az arachidonsav és metabolitok szerepe az agyi vérkeringés szabályozásában ..	18
1.8. A traumatikus agysérülés epidemiológiája	21
1.9. A TBI és a miogén mechanizmus	24
1.10. A BK _{Ca} csatornák szerepe az agyi artériák miogén konstriktójában a TBI után	25
1.11. Terápiás lehetőségek az autoregulációs funkciók helyreállítására a traumás agysérülés után	26
1.12. Az áramlás-indukálta konstriktó változása a traumás agysérülésben.....	27
2. HIPOTÉZISEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK	28
3. MÓDSZEREK.....	29
3.1. Kísérleti állatok	29
3.2. Traumatikus agysérülés (TBI).....	29
3.3. Kísérleti állat anesztézia és műtét	29
3.4. Patkány középső agyi artériáinak izolálása és nyomás-áramlás kamrába helyezése a vasomotor válaszok vizsgálatához	31
3.5. Miogén tónus és áramlás okozta válaszok izolált agyi artériákban	34
3.6. Felhasznált vazóaktív anyagok.....	38
3.7. Kvantitatív valós idejű qRT-PCR	39
3.8. Statisztikai analízis	40
4. EREDMÉNYEK.....	41
4.1. Az izolált agyi artériák (MCA) áramlás által kiváltott átmérő válasza ép, intakt esetben és traumás agysérülés után	41
4.2. Az izolált agyi artériák (MCA) áramlás által kiváltott maximális átmérő válasza ép esetben és traumás agysérülés után	42
4.3. Az arachidonsav hatása az izolált agyi artériák (MCA) ér átmérő változásaira, ép esetben és traumás agysérülés után	43
4.4. Az izolált agyi artériák (MCA) <i>A CYP izoformák expressiója</i> ép esetben és traumás agysérülés után	44

4.5. A 20-HETE és U46619 TP receptor agonista vasomotor hatását vizsgáltuk az izolált agyi artériák (MCA) átmérő válaszára ép esetben és traumás agysérülés után	45
4.6. A stabil prosztanoid, U46619 hatása a vasomotorra a paxilline jelenlétében és hiányában. Izolált agyi artériák (MCA) átmérő válasza ép esetben és traumás agysérülés után	47
5. MEGBESZÉLÉS	49
5.1. A traumás agysérülés és következményei	49
5.2. A traumás agysérülés károsítja a nyomást és az áramlásra érzékeny vasomotor mechanizmusokat	50
5.3. Az arachidonsav jelút a vénás mikroerekben	52
5.4. A BK _{Ca} csatornák szerepének kizárása az MCA TBI utáni konstriktójának csökkenésében	54
5.5. Az arachidonsav jelút működése ép MCA-ban és TBI után	54
5.6. A TBI-károsodott mechanoszenzitív vasomotor mechanizmusok következményei a CBF autoregulációjára	56
5.7. A jelen kísérleteink korlátai és a további tervek	58
6. KÖVETKEZTETÉSEK	59
7. ÖSSZEFOGLALÁS, SUMMARY	60
8. IRODALOMJEGYZÉK	63
9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	84
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	86

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

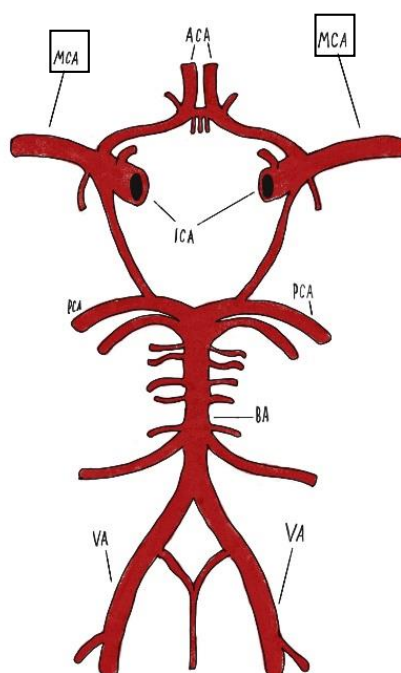
AA	arachidonsav
ACh	acetilkolin
Ang II	angiotenzin II
BBB	vér-agy gát
BK	bradykinin
BK_{Ca}	kalcium aktiválta kálium csatorna
CBF	agyi véráramlás (cerebral blood flow)
CBV	agyi vér volumen (cerebral blood volume)
COX	ciklooxygenáz
CO₂	szén-dioxid
CSF	cerebrospinális folyadék
CVR	cerebrovaszkuláris rezisztencia
Cyp450 4A	citokróm P450 4A
CYP4A1/A3	citokróm P450 4A család tagjai
DHET	dihydroxy-eikozatriénsav
EDCF	endotél eredetű konstriktor faktorok
EDHF	endotél eredetű hiperpolarizáló faktor
EET	epoxieikozatriénsav
ET1	endotelin-1
FLAIR	Fluid Attenuation Inversion Recovery technika
HET0016	20-HETE szintézis gátlója
H₂O₂	hidrogén-peroxid
MCA	középső agyi artéria (Middle Cerebral Artery)
MRI	mágneses magrezonancia vizsgálatok (Magnetic Resonance Imaging)
NE	noradrenalin
NO	nitrogén-monoxid
U46619	TXA ₂ receptor agonista
PaO₂	parciális oxigéntenzió
PAX	paxilline, kalcium aktiválta BK _{Ca} káliumcsatorna gátló
PD	passzív átmérő (diaméter)
PG	prostaglandinok

PGE₂	prostaglandin-E2
PGH₂	prostaglandin-H2
PLA₂	foszfolipáz-A2
ROS	reaktív oxigéngyök
SNP	nitropruszid-nátrium
SQ 29,548	thromboxán A ₂ receptor antagonist
SWI	szuszeptibilitás-súlyozott szekvencia
TBI	traumás agysérülés (Traumatic Brain Injury)
TP	thromboxán/prostaglandin endoperoxid receptor
TRPV4	transziens receptor potenciál vanilloid csatorna 4
TXA₂	thromboxán A ₂
WSS	érfali nyírófeszültség (wall shear stress)
20-HETE	20-hydroxy-5,8,11,14-eikozatetraénsav

1. BEVEZETÉS

A zavartalan agyi vérellátás fenntartása kulcsfontosságú a megfelelő agyműködés szempontjából. A vérellátás tekintetében az agy a legigényesebb szerv, melyben folyamatos a véráramlás: 50 ml/100g/perc. Nincs még egy szerv a testben, amely egyszerre négy nagy artériából - a két arteria carotis interna és a két arteria vertebralis - kapná a vérellátását [1-3].

Ezek az erek az agyalapon egy gyűrű alakú csőrendszerben - a circulus arteriosus Willisiben - egyesülnek, melyet laterális irányból a két arteria carotis interna, dorsalis irányból a két arteria vertebralis egyesüléséből keletkező arteria basilaris táplál (1. ábra).

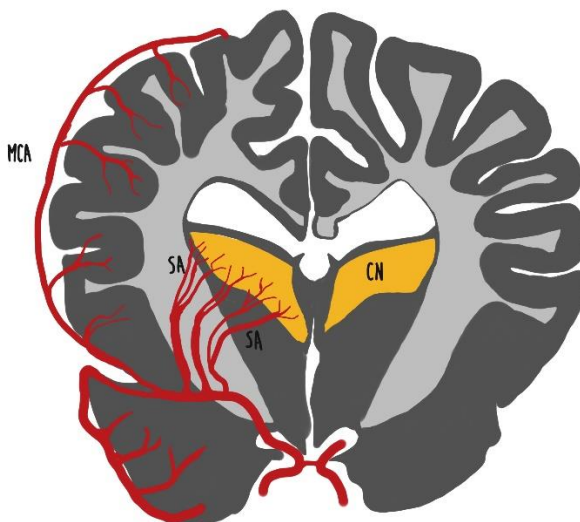


1. ábra: A circulus arteriosus Willisii sematikus rajza, kiemelve az Arteria Cerebri Media leágazását és elhelyezkedését. /A kép módosítva a Szentágothai & Réthelyi 1989: Szentágothai János, Réthelyi Miklós. Funkcionális anatómia: Az ember anatómiája, fejlődéstana, szövettana és tájanatómiája: 5. átd. kiad., Budapest: Medicina (1989). ISBN 963-241-789-5 után./ ACA: arteria communicans anterior, MCA: arteria cerebri media, ICA: arteria carotis interna, PCA: arteria cerebri posterior, BA: arteria basilaris, VA: arteria vertebralis.

A négy magisztrális nagyér által szállított vérmennyisége és nyomása, a circulus arteriosus Willisii szerkezete miatt egyenletesen eloszlik. Ez a kiegyenlítés sokszor pótolja, ha az egyik fő tápláló ér beszűkül, vagy bezárul [4, 5]. Humánban a circulus arteriosus Willisii kollaterális szerepe teljes mértékben csak akkor érvényesülhet, ha a szűkület lassú ütemben alakul ki. Az innen leágazó artériák között azonban már nincsenek összeköttetések.

Az agyi keringés egyik jellegzetessége, hogy a vaszkuláris rezisztencia alapvető meghatározói a Willisii-rendszer utáni nagyobb és kisebb agyi artériák [6-10]. Az innen származó artériák között azonban nincs anasztomózis, ami a bármely okból fellépő vérellátási zavart ki tudná egyenlíteni. Ilyen pl. a középső agyi artéria (middle cerebral artery, MCA) amely ellátja a cortex nagy részét és a köztiagyat [5, 11].

Valóban a klinikumi esetek is azt mutatják, hogy az egyes régiók vérellátási zavara nem kompenzálódik, mivel az agyi artériás rendszerből hiányoznak a szükséges méretű és elhelyezkedésű összeköttetések, anasztomózisok (2. ábra) [5].



2. ábra: A középső agyi artéria (MCA) és a perforáló ágai sematikus ábrán. A középső agyi artéria ellátja a cortex nagy részét és a köztiagyat. Stria ágak: SA és a CN: nucleus caudatus. /A kép módosítva az eredeti rajzról: Evans E, de Lahunta A. Miller A kutya anatómiája című művéből. 4. kiadás Philadelphia, PA: Elsevier; 2013; Barone R. Anatomia comparata dei mammiferi domestici. Vol. 6:

Neurologia [Házi emlősök összehasonlító anatómiája. Vol. 6: Neurológia]. 3. kiadás Bologna: Edagricole, 2003. után./

1.1. A Monro-Kellie doktrína

Az agyi keringés egyik fő meghatározója, hogy az agy egy zárt térben a koponyában helyezkedik el. Ezt felismerve, több mint két évszázaddal ezelőtt, 1804-ben, Alexander Monro publikálta megfigyeléseit az idegrendszer szerkezetéről és működéséről. Elsőként ő feltételezte, hogy a koponya ereiben keringő vér állandó térfogatú. Tekintettel arra, hogy a koponya egy merev, kemény falú szerv, és az agy állítása szerint „szinte összenyomhatatlan”, Monro arra a következtetésre jutott, hogy egészséges és kóros körülmények között a koponyában lévő vér mennyiségének stabilnak kell maradnia. Mivel az agy „anyaga” -akárcsak a testünk többi szilárd anyaga- szinte összenyomhatatlan, a fejben lévő vér mennyiségének egészséges esetben mindenkor azonosnak vagy nagyon közel azonosnak kell lennie. Ettől eltérőt mind az életben lévőknél mind a halottak boncolásakor, akkor tapasztalt, amikor a víz vagy más anyag „kiömlik” vagy „kiválasztódik” az erekből. Ezekben az esetekben az agy a „kiömlött” anyaggal, egyenlő mennyiségű vért présel ki a koponyából- írta Monro.

Ezt a hipotézist 1824-ben Monro egykori tanítványa George Kellie is alátámasztotta, embereken és állatokon végzett kísérleteivel [12-14]. Az edinburgh-i sebész hozzájárulása a doktrínához azokból a dokumentumokból ered, amelyeket egy téli vihar utáni reggelen Leithben holtan talált két személy post mortem vizsgálatáról tett közzé, a fejben belüli keringésről egy nagyon sajátos leírásban. Kellie szerint maga az agy, kevésbé összenyomható, szilárd csontházban van, amelyet pontosan megtölt, és amely megvédi a légkör súlyától és nyomásától (...) egy olyan erőtől, amelynek ezért folyamatosan működnie kell, fenntartani a fejben lévő érrendszer működését [14].

A hipotézisnek eredeti formájában voltak ugyan hiányosságai (nem írtak az agykamrákról és a gerincvelői folyadékról), de ezekre már a kortárs kutatók is rávilágítottak. Például 1846-ban George Burrows az agyi keringési zavarokról szóló könyvében bevezetett néhány változtatást Monro és Kellie hipotézisébe, feltételezve,

hogy az agyi vértér fogat változhat, de csak az agy és a cerebrális folyadék térfogatának javára vagy kárára) és a javítás után megszületett a Monro-Kellie doktrína [13, 15, 16].

A doktrína szerint a koponyaűri nyomást az intracraniális térben elhelyezkedő 3 kompartment határozza meg:

- az agyszövet,
- a vér, és a
- liquor cerebrospinalis.

Ez azt jelenti, hogy egyik tényező térfogata sem változhat - például nőhet meg - anélkül, hogy egy másik (vagy akár kettő kompartment) térfogata ne csökkenjen [4] mivel az intracranialis tér a szilárd koponya miatt meghatározott térfogatú.

Ez a hipotézis elméleti alapokat teremtett a megnövekedett koponyaűri nyomás és a csökkent cerebrospinalis folyadék (CSF) térfogat tekintetében.

1.2. Az agyi véráramlást (CBF) befolyásoló tényezők

Az agyat egy merev falú, csontos koponya veszi körül. Ez alapvetően befolyásolja az agy vérellátási viszonyait és ezen keresztül az élettani szerepeit is. Fokozott védelmet jelent a koponyán kívüli történésekkel szemben, például hőmérséklet, mechanikai behatások. Ugyanakkor speciális állandóságot biztosít az intracraniális térben zajló fizikai-kémiai folyamatok számára is [4, 5].

Az agyi véráramlást (CBF) befolyásoló legfontosabb tényezők:

- az intracraniális nyomás,
- az agyi artériás nyomás,
- az agyi vénás nyomás,
- a vér viszkozitása,
- és az agyi erek keresztmetszete.

Ez utóbbi, az agyi erek keresztmetszete (az ér átmérője) az összes tényező közül a legmeghatározóbb, nemcsak az agy egészének, de egy adott régió véráramlási viszonyait tekintve is.

1.3. Az agyi metabolikus szabályozó mediátorok szerepe

Kezdetben a metabolikus szabályozásában az ionok és gázok szerepét ismerték fel [17, 18]. A teljes agyi véráramlást befolyásoló legfontosabb kémiai tényezők: az artériás vér parciális oxigén és parciális szén-dioxid tenziója [19].

Szén-dioxid (CO₂) és pH

Az 1800-as évek óta dokumentált tény, hogy az artériás vér parciális oxigén és szén-dioxid nyomásának változása az emlősök agykéreg ereiben, nagymértékű reverzibilis véráramlás-változásokat okoznak. Ugyan régóta felfedezett, hogy a szén-dioxid erős agyiér tágító hatású, de a pontos mechanizmusa nem volt ismert. Elsőként Sándor és mtsai 1994-ben írták le hogy a CO₂ okozta dilatáció az agyi erekben döntően a nitrogén monoxid (NO) mediációjával jön létre [20]. A szisztémás vérkeringésben áramló vér CO₂ gáztenziójának változtatását kísérletekben, tesztként lehet használni az agyi erek reaktivitásának vizsgálatára [21].

Az agyi erek simaizomtónusát csökkenti és a teljes agyi véráramlást fokozza az artériás vérben érkező szén-dioxid parciális nyomásának emelkedése azáltal, hogy az agyi extracelluláris tér pH-értékét a savas irányba tolja el [20-22].

A pH csökkenése következtében az érfali simaizomsejtek K⁺_{ATP} csatornái és K⁺_{Ca}-csatornái kinyílnak, ezért K⁺ kiáramlás indul meg az izomsejt belsejéből, így a sejt hiperpolarizálódik, a hiperpolarizáció következtében az izomsejt feszültségfüggő Ca²⁺ csatornái zárulnak az intracelluláris Ca²⁺ szint csökken, ennek következtében a simaizomsejt tónusa is csökken, kialakul a vazodilatáció [23].

O₂ (hypoxia)

Az oxigén hiánya, az agyi keringés egyik fontos reguláló tényezője. A hypoxia agyi értágító, áramlásfokozó hatása részben lokális metabolikus és neurális mechanizmusok összessége [24].

Adenozin

Metabolikus tényezőként az adenozin [25] játszik kiemelt szerepet, ugyanis hypoxia hatására az agyszövetben és a plazmában jelentősen megnő a koncentrációja.

Az adenzin szöveti koncentrációjának növekedése agyi értágulatot és szöveti véráramlás fokozódást eredményez. Az adenzin receptorok a vér-agy gáton kívül helyezkednek el. Állatkísérletekben a hypoxiával kiváltott pialis vazodilatációt gátolni lehet az adenzinreceptorok blokkolásával [26, 27].

Neurális tényezők

Számos adat ugyanakkor arra utal, hogy a hypoxia okozta agyi véráramlásfokozásban lokális metabolikus faktorok szerepe nem kizárólagos, hanem nagy részben a neurális tényezők is felelősek [23, 28]. Majd a neuronok metabolizmusának végtermékeit ismerték fel.

Neurovaszkuláris coupling

Később, a XIX. és XX. században ismertté váltak az agyi érfalra ható, gyors szabályozást létrehozó neuronális eredetű mediátorok. Ezek a perivasculáris idegekkel és sejtekkel, - az astrocytákkal és pericytákkal- hozzák létre a neurális szabályozást [28, 29]. Az astrocyták lényegében hídként viselkednek a neuronok és az agyi mikroerek között. Feladatuk, hogy továbbítsák a neuronoktól érkező elektromos szignálokat az agyi erek falához. Így a lokális véráramlás fokozódásához szükséges energiaforrásokat biztosítani tudják [30]. A nagyobb agyi artériák, arteriolák átmérőjének (ellenállásának) neurális szabályozásában elsősorban a perivascularis rostoknak, a mikrocirkulációt biztosító erek: kapillárisok átmérőjének szabályozásában a perivasculáris rostoknak, astrocytáknak és a pericytáknak van kiemelt szerepe.

Endotélium eredetű mediátorok szerepe az agyi értónus szabályozásában

Endotél eredetű hiperpolarizáló faktor (EDHF)

Az 1980-ban felfedezett endotélium majd az abból származó faktorok, az agyi vérkeringés szabályozást teljesen új megvilágításba helyezték.

A kis artériák esetében az acetilkolin hatására főként az endotél eredetű hiperpolarizáló faktor (EDHF) szabadul fel, ami simaizomsejt membránját hiperpolarizálja ami az ATP-független K^+ csatornák megnyitását eredményezi ezáltal dilatációt okozva [31].

Nitrogén-monoxid (NO)

A szervezet leghatásosabb természetes vazodilatátor anyagának tartják a nitrogén-monoxidot (NO). Az NO rendkívül jelentős agyi értágító, lokális szöveti áramlást fokozó hatású. Az agyi erek endotéliuma felől, a perivascularis nitrit-oxidárg idegvégződések felől és az agysejtek metabolizmusa során, az agysejtek felől is elérheti az érfali simaizomréteget. A nitrogén-monoxid három ismert módon befolyásolja az agyivéráramlást: közvetlen értágító hatása révén, az artériás hypoxia okozta agyi vazodilatáció és az artériás hypercapnia vazodilatátor hatásában játszott szerepe révén. Az agyi artériás NO koncentráció a shear stress kialakulása során is megnő. A shear stress az érfali simaizomsejtekben lévő mechanoszenzitív ioncsatornákra kifejtett hatása révén csökkenti az intracelluláris Ca^{2+} szintet, és így vált ki vazodilatációt [32].

Az endotél eredetű agyi vazodilatátorok közül lényeges megemlíteni még az érfal permeabilitását, kifejezetten a vér-agy gát permeabilitását szelektíven fokozó **bradikinin (BK)**. Az agyi erek endotéliumában és a parenchymájában jelen lévő peptid hormont [33, 34].

Prostaglandinok

A cerebrovaszkuláris szabályozás fontos mediátorai pl. a vazodilatátor prosztanoidok: a prosztaciklin PGI_2 , PGE_2 , és a PGD_2 .

Az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelésével az endotélsejtek részéről aktiválódnak a foszfolipáz- A_2 (PLA $_2$), és a ciklooxygenáz (COX) enzimek ami a reaktív oxigén speciek (ROS) és a vazokonstriktor prosztanoidok termelését indítja meg amelyeket a szakirodalom **endotél eredetű konstriktor faktoroknak (EDCF)** nevez.

A prosztaciklin-H-szintáz által létrehozott vasoaktív prosztanoidok közül a tromboxán A_2 (TXA $_2$) és a prosztaciklin $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) kiemelten vesznek részt a vasomotor működésben [35].

Endotelin-1 (ET1)

Az endotélum eredetű agyi vazokonstriktorok legismertebb molekulája az Endotelin-1 (ET1), amely permanensen képes emelni a szisztémás artériás nyomást. Az érfali simaizomsejtekben helyezkedik el az ET1 receptora mely a foszfolipáz-C enzimhez

kapcsolódik és az intracelluláris Ca^{2+} koncentráció emelésével fejtik ki konstriktor hatásukat [36].

1.4. Az agyi vérkeringés autoregulációja

Az artériás nyomás 60 Hgmm alá csökkenése csökkenti, 160 Hgmm fölé emelkedése pedig növeli az agyi véráramlást. A 60-160 Hgmm artériás nyomástartományban azonban az agyi véráramlás változatlan marad, ezt az állandóságot a miogén- és áramlás-függő autoregulációs mechanizmusok biztosítják [2, 37, 38]. Az autoregulációs mechanizmusok az érfalban találhatók. Itt történik a hemodinamikai erők változásainak, **így a nyomásnak** [39-43] és az **áramlásnak** [44-48] az érzékelése.

Ezek a jellemzők az agyi véráramlás egyik fontos szabályozó mechanizmusát az **autoregulációt** eredményezik, így viszonylag állandó áramlás alakul ki az agyban, a szisztémás vérnyomás változásaival szemben (~ 60–160 Hgmm tartományban). Valóban, korábbi kutatások in vivo mérési technikái igazolták, hogy az agyi véráramlás csak kismértékben növekszik lineáris módon [1, 7]. Rosenblum úgy gondolta, hogy a lineáris növekedés annak megfelelően alakul ki, ha a nyomás és az áramlás is egyszerre növekszik az érben [1, 7, 49, 50]. Lényeges hangsúlyozni, hogy a véráramlás nem exponenciális, hanem lineáris növekedésű mellyel együtt jár az emelkedő vérnyomás tünete is. Ennek hatására, védőmechanizmusként a már említett agyi autoreguláció jelensége alakul ki [1].

Az agyi artériák nyomásérzékeny miogén reakciójának jelenlétét már korán felismerték [1, 45, 46, 51-56], ugyanakkor további kutatások idővel kimutatták, hogy nemcsak a miogén válasz játszik kiemelt szerepet az autoregulációs szabályozásban [39, 43, 57-59]. Az utóbbi évtizedben előtérbe kerültek az áramlásérzékeny autoregulációs mechanizmusok szerepéről szóló kutatások is [44, 51, 60]. Valószínűsíthető, hogy mindkét mechanizmusra szükség van az autoreguláció teljesértékű működéséhez.

Ez esetben az agyi artériák konstriktív képességének biztosítása lényeges szempont. Ugyanis az erek konstriktív képessége növeli az érellenállást és ezzel megakadályozza a véráramlás növekedését, amikor a perfúziós nyomás is megnövekszik [44]. Az intraluminális nyomás növekedése és az intraluminális áramlás gyorsulásának egyidejű bekövetkezése esetén a nyomásnövekedésre aktiválódó miogén mechanizmus vazokonstriktív hoz létre [39, 40, 43, 57]. Továbbá, az agyi artériákra specifikusan a

fokozott áramlás szintén konstriktiót hoz létre [44, 46]. Összességében, amikor a szisztémás nyomás megváltoztatja az agyi erek átmérőjét, valószínűsíthetően a nyomás és az áramlás együttes hatása határozza meg az agyi vérátáramlás változásait [61-64].

Az agyi véráramlás autoregulációs szabályozását már az 1900-as évek elejétől kezdve sokan különféle kísérletekben, változatos állatfajokban és humán vizsgálatokban kutatták. Különböző in vivo technikák felhasználásával - például az artériás beáramlás és a vénás kiáramlás mérésével, autoradiográfiával, radioaktív mikrogömbök eloszlásával, valamint a közelmúltban hangsúlyt kapott mágneses rezonancia (MRI) és az ultrahangos képalkotó technikák segítségével - próbálták feltárni az autoregulációs szabályozás mechanizmusát [7, 65-73]. A CBF autoregulációjában regionális és szegmentális különbségeket fedeztek fel [74].

Mindez felveti az agy térbeli jellemzőinek kérdéskörét is az autoreguláció tekintetében. Valójában regionális különbségek mutatkoztak az agyi autoregulációs válaszokban. Az autoreguláció határait átlépő változások következtében kialakuló hipertónia volt detektálható a macskaagyban. Ugyanakkor ezen eltérések mellett az agytörzsben nem lehetett kimutatni a megnövekedett nyomást, bizonyítva az agytörzsi autoreguláció hatékonyabb voltát [72, 74, 75]. Lényeges, hogy az autoregulációs funkciókat tekintve a humán agyi vérkeringésben is mutatkoznak regionális különbségek [76, 77].

1.5. A regionális/lokális vérkeringés szabályozása az agyban

Az autoreguláció talaján regionálisan is van szabályozás, melyben - endotéliális, metabolikus és neurális mechanizmusok révén - az agyi véráramlás szabályozását komplex, több szinten működő mechanizmusok végzik. Továbbá, a közelmúltban az is kiderült, hogy a glia sejtek, ezek közül is az asztrociták és a pericyták is szerepet játszanak a vérkeringés szabályozásban [1, 2, 6, 53, 54, 78-85].

Néhányuk a lokális véráramlási szükségletet elégíti ki [44, 56, 86-88]. Mások biztosítják, hogy a merev koponyaacsontban elhelyezkedő agyban, megfelelő legyen a teljes vér átáramlás mértéke. Ez utóbbi kiemelt szempont, mert gátolhatja a koponyaűri

nyomás növekedését azáltal, hogy megakadályozza, hogy az agyi erekbe hirtelen nagyobb mennyiségű vér kerüljön [44].

Az 1970-es évek végén Kontos és mtsai. vizsgálták a macska pialis keringését. Megállapították, hogy a Willis körétől az arteria pialisig terjedő nagy felszíni erek - a legfeljebb 200 mikrométeres arteriolák - a cerebrovaszkuláris rezisztencia ~ 30% -át adják. Ezért feltehető, hogy a 120 és 160 Hgmm közötti intraluminális nyomás között elsősorban ezek az erek felelősek az autoreguláció működéséért [7]. Hasonló megállapításokat figyeltek meg a patkány agyi keringésével kapcsolatban is [9]. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az agyban a CBF szabályozásában mind a nagy artériák, mind a kis arteriolák részt vesznek. Így az érrendszeri válaszkészség hierarchiára épülve adja az alapját a többi bonyolult szabályozásnak.

Mindezek mellett az agyi véráramlást szabályozó érfali miogén és endoteliális mechanizmusok összjátéka lényeges tényező az optimális szöveti véráramlás fenntartásában.

1.6. Az arachidonsav, metabolitjai és a receptorai

Az arachidonsav és az észterezett arachidonát minden emlős sejtjeiben megtalálható. Ez a többszörösen telítetlen zsírsav nagyon fontos biokémiai szerepet tölt be, többek között a bioaktív lipid közvetítők, például prosztaglandinok és leukotriének közvetlen előfutára. A 20 szénatomos zsírsavat négy kettős kötéssel először 1909-ben Percival Hartley izolálta és azonosította az emlősök szöveteiből. Ezután az 1930-as években sikerült megérteni az arachidonsav sajátosságait és megismerni a szerkezetét valamint a bioszintézisének útját [89].

Azóta további kutatások során kiderült az is, hogy arachidonsav útvonal kulcsszerepet játszik a szív- érrendszeri megbetegedésekben, a karcinogenezisben és számos gyulladásoos betegség kialakulásában is, például: asztmában, ízületi gyulladásban. Az arachidonsav metabolizmusa során a kovalens kötések katalizálásával három fő foszfolipáz enzim, a foszfolipáz-A2 (PLA2), a többszörösen telítetlen zsírsav (PLC) és a foszfolipáz-D (PLD) felelős az arachidonsav felszabadulásáért a membránhoz kötött foszfolipidekből. A prosztaglandinok a ciklooxygenázokkal (COX) az AA-t

protanoidokká, prosztaciklinné és tromboxánná metabolizálják. A lipooxygenázok (LOX) az arachidonsavat leukotriénekké és hidroxí-eikozatetraénsavvá (HETE) metabolizálják. A P450 epoxigenázok az arachidonsavat HETE-vé és négy eikozatetraénsavvá (EET) metabolizálják. Ezután az oldható epoxid-hidroláz [90] az összes eikozatetraénsavat tovább metabolizálja kevésbé aktív dihydroxy-eikozatriénsavakká (DHET)[91] (3. ábra).

A kutatások során először a ciklooxygenázok (prostanoidokat, azaz prosztoglandinokat (PG) és tromboxán A₂-t (TXA₂) termelnek) voltak az első olyan enzimek, amelyekről bizonyították, hogy metabolizálják az AA-t. A plazmamembránból lipid szabadul fel a foszfolipázok által, majd ezt követően a COX enzimek metabolizmusa által PGG₂-vé és PGH₂-vé alakul. Ez utóbbiakat ezután a specifikus PG-szintázok prosztoglandinokká metabolizálják [91, 92]. Két különböző ciklooxygenáz izoforma létezik. A legtöbb sejtben konstitutívan expresszáldó COX-1 általános funkciókat betöltő prosztanoidok forrása. A COX-2-t (más néven PTGS2-t) viszont gyulladási inger, hormonok és növekedési faktorok indukálják [92].

A lipooxygenáz (LOX) útvonal volt a második eikozanoid és gyulladási útvonal, amelyet felfedeztek. Az enzimek leukotriéneket (LT-eket) termelnek, amelyeket először 1979-ben írt le Bengt I. Samuelsson, aki ezért 1982-ben fiziológiai és orvosi Nobel-díjat kapott [93].

A harmadik AA metabolizáló útvonal a citokróm P450 (CYP) útvonal, amelyet először 1980-ban írtak le. A CYP enzimsalád számos alosztályt tartalmaz [94], de az AA metabolizmusában az ω-hidroxiláz és az epoxigenáz aktivitás a legfontosabb.

Számos CYP enzim azonban vegyes hidroláz és epoxigenáz funkcióval rendelkezik, és különféle termékeket képesek előállítani. A CYP enzimek ω-hidroxiláz aktivitása az AA-t hidroxí-eikozatetraénsavvá (HETE) alakítja át. A 20-HETE az egyik legjobban tanulmányozott metabolit, kimutatták, hogy amellet, hogy hozzájárul az érrendszeri működéshez, gyulladásgátló hatással is rendelkezik [95].

A CYP enzimek, például a CYP2J és a 2C család epoxigenáza aktiválja az AA epoxidokat, ill. epoxieikozatriénsavakat (EET-ek; 5,6-EET, 8,9-EET, 11,12-EET és 14,15-EET). A bioaktív EET-k a májban képződnek és az érrendszerben és a

szívizomsejtekben is kimutathatók. Az epoxieikozatriénsavakat főként az oldható epoxid-hidrolázt [90] metabolizálja a megfelelő diolokká vagy dihidroxi-eikozatriénsavakká (DHET) [96, 97]. A diolokat eredetileg kevésbé aktívnak tartották, mint az epoxidokat, de ma már világos, hogy az epoxidok és a diolok bizonyos körülmények között akár antagonisztikus hatást is kifejthetnek. Mivel a kutatások szerint az epoxieikozatriénsavak dilatációt váltanak ki az érben, ez az útvonal és metabolitjai jelenleg a szív- és érrendszeri betegségek, de akár a magasvérnyomás, a szívelégtelenség és a stroke kezelésében is kiemelt szempontot játszhatnak [98, 99]. Valamint a CYP-eredetű AA metabolitok hozzájárulhatnak a tumor növekedéséhez, progressziójához és a metasztázisok kialakulásához is [100].

A prosztoglandinok a membránban lokalizált G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktiválásával fejtik ki hatásukat. A prosztanoid receptorok alcsaládja 8 tagból áll; a PGD receptor (DP1), a PGF receptor (FP); a PGI receptor (IP), a tromboxán receptor (TP) és az E prosztanoid receptor 4 altípusa (EP1-4) [101]. Az alternatív "splicing" tovább bonyolítja a helyzetet és a humán tromboxán receptor (TP) két további izoformájáért (TP α , TP β) felelős. Léteznek még az FP (FP α , FP β) receptorok, valamint az EP3 (nyolc változattal), amelyek csak a C-terminális farkukban különböznek egymástól [102]. Ezenkívül létezik egy különálló G-fehérjéhez kapcsolt receptor, azaz kemoattraktáns receptor-homológ molekula (CRTH2 vagy DP2), amely a kemokin receptorok családjába tartozó, de a PGD₂-vel aktiválható T-helper 2 sejteken expresszálódik [102, 103].

A prosztanoid receptorok számos intracelluláris jelátviteli útvonalhoz kapcsolódnak, amelyek közvetítik a receptoraktiváció sejtfunkciókra gyakorolt hatását. Például az EP2, EP4, IP és DP1 receptorok a G-en keresztül aktiválják az adenil-ciklázt, hogy növeljék az intracelluláris cAMP-t, míg az EP1 és FP aktiválása a Gq-n keresztül a foszfatidil-inozitol metabolizmusához kapcsolódik, ami az inozitol-trifoszfát képződéséhez vezet az intracelluláris szabad kalcium mobilizálásával [104, 105].

Az in vitro kísérletek során a PGH₂-t és TXA₂-t csak ritkán használják TP agonistaként (fiziológiás körülmények között fennálló instabilitásuk miatt) ezért a megfelelő helyettesítő az 9,11-Dideoxi-11 α , 9 α -epoxi-metanoprostaglandin F2 α (U46619) [106].

Az PGF₂ α , PGE₂, carbacyclin és a STA2 szintén TP-receptor agonisták. Óvatosan kell eljárni a rendkívül erős TP agonistákkal mint például az I-BOP, és az EP-171 kísérletben való alkalmazásakor mivel 16-p-halofenoxicsoportjuk miatt várhatóan rezisztensek a 15-OH prosztaglandin-dehidrogenáz általi in vivo dezaktivációra [106, 107].

1.7. Az arachidonsav és metabolitok szerepe az agyi vérkeringés szabályozásában

A vaszkuláris eredetű mediátorok szerepe az agyi értónus szabályozásában kiemelten fontos. Ahogy már korábban is leírtam az endotél és simaizom sejtekben a foszfolipáz A₂ a membránlipidekből arachidonsavat tesz szabaddá: az arachidonsavból pedig bonyolult enzimatikus rendszerek segítségével igen sok egyéb molekula keletkezik, melyeknek igen sok funkciója van [80].

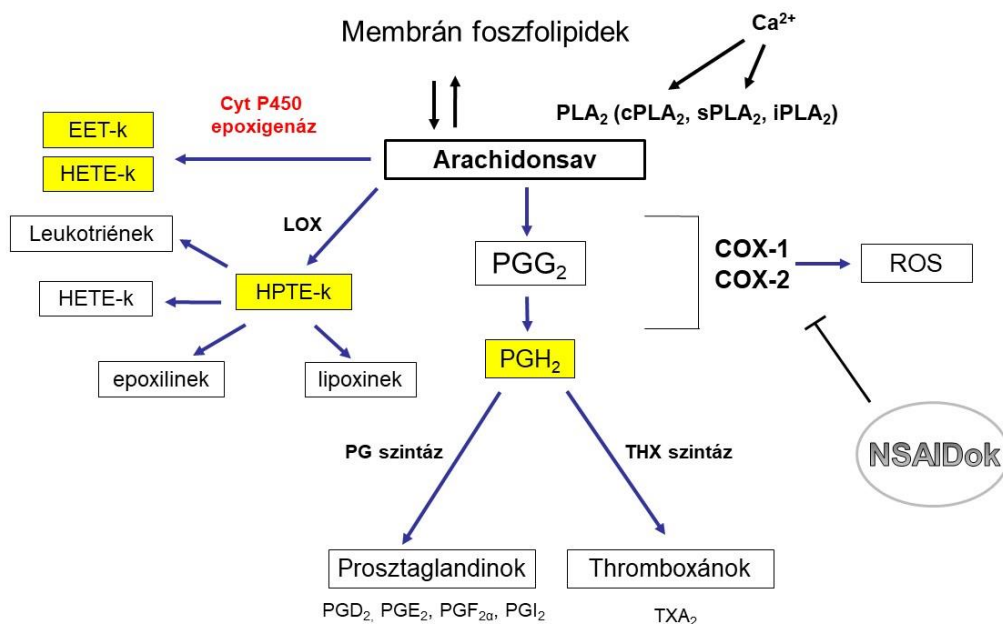
Az **arachidonsav** metabolitjai többek között a cerebrovaszkuláris szabályozás fontos mediátorai mind fiziológiás mind patológiás körülmények között. Több helyen is keletkezhetnek, például neuronokban, asztrocytákban, mikrogliaokban, perivaszkuláris idegekben, az endotéliumban, simaizomsejtekben, fibroblasztokban és vérlemezkékben. Ahogy már fentebb említettem az arachidonsav metabolizmusának 3 fő útja van aszerint, hogy lebontását a lipooxygenáz, a citokróm- P450, vagy a ciklooxygenáz enzimek végzik [5, 108] (3. ábra).

A keletkezett lebomlási termékeket együttesen eikozanoidoknak nevezik. Az agyi erek simaizomzatának tónusát lokálisan, parakrin úton, az érfali keletkezés helyén befolyásolják, vagy egy távolabbi keletkezési helyről a cerebrospinális vagy extracelluláris folyadékkal jutnak a rendszerbe [109].

Egyes eikozanoidok hatása lehet vazodilatáció, mások vazokonstriktiót fejtenek ki [60], ismét mások valamely vazoaktív rendszer működésének módosításával képesek az agyi erek tónusát megváltoztatni. Nem minden sejtípus szintetizál minden eikozanoidból azonos mennyiséget, hanem egy-egy sejt ezek közül csak egyeseket például az endotélsejtek főként prosztaciklint, a vérlemezkék főként thromboxánt [108].

Korábbi kísérletek kimutatták, hogy az arachidonsav metabolitok részt vesznek a hemodinamikai erők agyi artériás erek vasomotor válaszként történő átalakításában [46, 51, 110-112]. Ezek a metabolitok a citokróm P450 o-hidroxilázok, a CYP450 4A termékei, például a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE), amelyek a thromboxán A₂ /

prostaglandin H_2 thromboxán-prosztanoid receptorokra (TP receptorok) hatnak. Emellett különféle prosztoglandinokat, például PGE_2 is megkülönböztetünk [113-115], melyeknek fontos szerepük van a cerebrovaszkuláris rezisztencia szabályozásában [44, 116]. Kimutatták, hogy a szisztémás vérnyomás vagy áramlás növekedésével például testedzés közben vagy akár a Valsalva manőver - de a hipertónia betegség esetén is-, AA szabadul fel a sejtmembránból, majd a CYP450 4A, 20-HETE-vé metabolizálódik, ami jelentős agyi artériás ér konstriktiót vált ki a TP receptorokra hatva [51, 117], ezáltal korlátozva az agyi véráramlás növekedését és így biztosítva a CBF autoregulációját (3. ábra).



3. ábra: Ezen az ábrán az arachidonsav kaszkád látható.

Az AA kaszkád magában foglalja az AA felszabadulását a membrán foszfolipidekből a PLA₂ (foszfolipáz A₂) által, majd metabolizálódik bioaktív eikozanoidokká - prosztaglandinok, leukotriének és epoxi zsírsavak - COX, lipoxigenáz és citokróm P450 epoxidáz enzimek révén. EET= epoxieikozatriénsav; HETE= hidroxi-eikozatetraénsav; HPETE= hidroxi-peroxieikozatetraénsav; LOX= lipoxigenáz; PG= prosztaglandin; TXA₂= thromboxán A₂. /Az ábra módosítva a Bosetti F. Arachidonic acid metabolism in brain physiology and pathology: lessons from genetically altered mouse models. Journal of Neurochemistry. 2007 Aug;102(3):577-586. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.04558.x. PMID: 17403135; PMCID: PMC2084377. után./ [91, 118]

Ahogy korábban leírtam az arachidonsav és metabolitjai (például a CYP450 4A-ból származó 20-HETE, a COX és a TXA₂) fontos szerepet játszanak az agyi érrendszeri rezisztencia szabályozásában [46, 119, 120]. Az is ismert, hogy a 20-HETE citokróm P450 általi termelése és közvetlen beadása képes oxigén szabadgyököt (ROS-t) előállítani [121-123].

Korábbi kutatásokban [124, 125] azt találták, hogy a 20-HETE különböző utakon kontrahálja az agyi artériákat. Például a 20-HETE aktiválja a protein-kináz C-t (PKC), és

depolarizálja a sima izomsejteket a nagy vezetőképességű KCa csatorna gátlásával, és növeli a Ca^{2+} beáramlást az L típusú Ca^{2+} csatornákon keresztül. Ezenkívül a thromboxán A_2 amely egy másik AA metabolit szintén hatással van az agyi érrendszerre [119].

1.8. A traumatikus agysérülés epidemiológiája

Fontos tudományos és klinikai kérdést vet fel az agyi autoregulációs mechanizmusok működésének vizsgálata a traumatikus agysérülés (TBI) utáni állapotokban is.

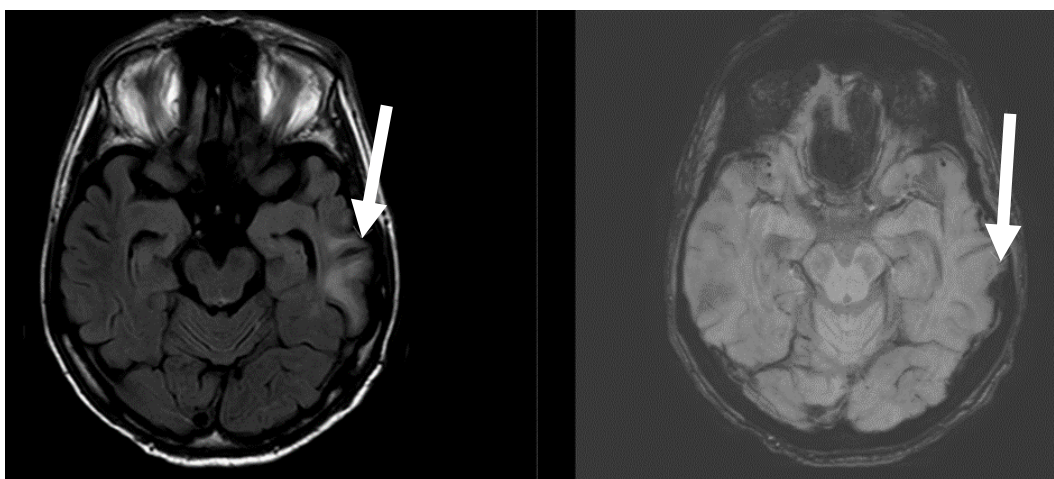
A traumatikus agysérülés egy gyakori és hosszútávon is fennmaradó következményekkel járó megbetegedés, amely kiemelt népegészségügyi problémát jelent szerte a világon. A társadalmi és gazdasági hatások a súlyos koponyasérülések és következményeik miatt már többnyire fel lettek tárva a szakirodalomban. Ugyanakkor, a jóval nagyobb tömeget (15-30-szor annyi embert), érintő enyhe koponyasérülések jelentőségét csak az utóbbi időben kezdik felismerni, elsősorban a közlekedési balesettel, a sportolással, illetve az időskori elesésekkel összefüggésben keletkező enyhe sérülések okozta megbetegedések kapcsán.

A traumás agysérülés szerte a világon nagyon gyakran fordul elő. Évente több millió embert érint (USA: évente kb. 1-2 millió állampolgár/év, Egyesült Királyság: kb. 1 millió fő/év, Európa: 2,5 millió fő/év) mindemellett az utóbbi néhány évet figyelembe véve kiemelten magas morbiditási és mortalitási adatokat találunk a betegségről [58, 126]. Traumatikus agysérülések minden korosztályban előfordulhatnak. Gyakoriak a fiatal korosztálynál, ugyanakkor az idősek magas aránya ugyanúgy megfigyelhető a fejsérülést szenvedett páciensek között. Ráadásul ez utóbbi korosztály esetében a magas életkor és a meglévő alapterbetegségek ronthatják a betegség kimenetelét valamint nagyobb mértékben hozzájárulhatnak a mortalitáshoz [127, 128].

Az intrakraniális hipotenzióban vagy a CSF térfogatesökkenésében tapasztalt MRI-n látott eltérések közül sok a Monro-Kellie hipotézissel magyarázható. Ezek a rendellenességek magukban foglalják az agyhártya megvastagodását, a szubdurális folyadékgyülemet, az agyi vénás szinuszok elzáródását, a spinális epidurális vénás plexus kiemelkedését és az agyalapi mirigy megnagyobbodását [12].

Egyre több klinikai kutatás bizonyítja a Mágneses Rezonancia Képképzés (MRI) kiemelkedő szerepét a koponyasérülések akut ellátásában, például a diffúz axonális károsodás vagy cerebrális kontúziók diagnosztikájában. Ezen képképző modalitás esetében olyan szekvenciák állnak rendelkezésre, amelyek napokkal, sőt évekkel a traumás agysérülés után is képesek kimutatni bizonyos traumás eltéréseket. Ezek az elváltozások haemosziderint tartalmaznak így a késői, krónikus fázisban alacsony intenzitású laesioikként jelennek meg [129, 130].

Az MRI eljárások (diffúziós tensor képképzés 3 dimenziós tractográfiával, diffúzió-súlyozott képképzés, haemogradiens, susceptibility weighted imaging (SWI) (2. **ábra**) megkönnyítik a traumás agysérülés kimutatását [90, 131]. Az MRI előnyeire érintőlegesen rámutatva az alábbiakban a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Karának Neuroradiológia Tanszékén végzett vizsgálat képanyaga látható.



4. ábra: Az agykoponyáról készült axialis síkú FLAIR kép (bal oldalon) és SWI kép (jobb oldalon), Philips Ingenia 3T MR készüléssel.

/Semmelweis Egyetem, Orvosi Képképző Klinika Neuroradiológiai Tanszékének felvétele, Dr. Magyar Máté szíveségéből/

Fluid Attenuation Inversion Recovery technika (FLAIR),

Szuszeptibilitás-súlyozott (SWI) szekvencia

Lelet: Bal oldalon temporalisan kiterjedt, mindkét oldalon a gyrus frontalis superior elülső részén kis területen FLAIR magas jeladás, corticalis hiány és állományi illetve

subduralis haemosiderin depositio figyelhető meg. Kevés haemosiderin jobb oldalon frontobasalisán lateralisán is megfigyelhető, itt gliosis nincs. A bal hippocampus test elülső részén apró állományi haemosiderin lerakódás van.

Vélemény: Bal temporalisan, kétoldalt frontalisán és valószínűleg bal fronto-basilarisan korábbi trauma utáni állapot (**4. ábra**).

A koponyasérülések leggyakoribb okai:

- sport- és rekreációs tevékenységek
- közlekedési balesetek (motor-, gépjármű balesetek, ütközések)
- időskori elesések
- esések, magasból történő zuhanások
- lött-, szúrt sérülésekből
- fizikai erőszak, bántalmazások
- robbanások bányákban, támadások a háborús övezetekben [127].

A fej nagymértékben ki van téve annak, hogy megsérüljön bizonyos sportok és szabadidős valamint rekreációs tevékenységek gyakorlásánál. Ezek a koponyatraumák sokfélék lehetnek, akár tüneteket nem produkáló - szubkonkusszív behatás okozta - sérülések, szimptomás konkussziók, illetve súlyosabb kimenetelű fejsérülések is gyakran kialakulhatnak.

A legtöbbször a sportolás közben előforduló koponyasérülések a súlyosság szerint enyhének – általában konkusszióknak, agyrázkódásnak, minor/minimális koponyatraumának – minősülnek. Ugyanakkor a következmények és a kimenetel szempontjából viszont még az ilyen enyhe fejtraumáknak is lehetnek olyan hosszútávú következményei – leginkább emocionális, kognitív, de akár viselkedési zavarok formájában – melyek korlátozhatják az egyént a mindennapi életében és ronthatják az életminőségét. A zárt fejsérülés vagyis a konkusszió, általában egy hirtelen külső erőbehatás következményeként jön létre. Ilyenkor az agy nekiütközik a koponya belső felszínének, amely károsodásokhoz és működési zavarokhoz vezet. A konkussziók lehetnek látható tünetek nélküliek melyeket aszimptomás szubkonkusszióknak nevezünk vagy több tünet jelentkezése esetén szimptomás konkussziók [132].

A közlekedési balesetek esetén szóba jönnek a hétköznapi, személyautóval elszenvedett fejsérülések, de ki kell emelnünk, hogy az autó- és motorsport esetében - például FORMA-1, MotoGP, NASCAR - kiemelkedően magas morbiditást mutatnak a váratlan fejsérülések. Ugyanakkor, ide sorolandók a lovasbalesetek is [128].

Az idősebb életkorban bekövetkező traumás agysérülések legfőbb okai főként az elesések, míg a fiatalabb életkorban jellemzően a gépjármű balesetek és a különféle sporttevékenységek közben szerzett sérülések dominálnak [128, 133].

Ugyanakkor az általánosnak mondható fejfájás, a vérzés és a kognitív hanyatlás mellett a TBI igen gyakran okozhatja az agyödéma kialakulását is. Ennek oka, hogy az agyi mikroerekben megnő az intraluminális nyomás, emiatt pedig az agy elkezd duzzadni.

A koponyatrauma által létrejött agysérülések heterogén betegségcsoportot alkotnak. Osztályozásuk sokféle szempont szerint fellelhető a szakirodalomban. A klinikum alapján megkülönböztetünk enyhe, közepes és súlyos sérüléseket. A koponyatrauma mechanizmusa alapján nyílt illetve zárt sérülésekről beszélhetünk. A koponyatrauma által okozott intrakraniális elváltozások lehetnek elsődlegesek, vagyis a mechanikai behatás közvetlen következményei, illetve másodlagosak; ezek a koponyatrauma következményeként kialakult különböző agyi szövődményekből következőek [134-136].

A koponyatrauma miatt kialakuló *másodlagos* patológiás állapotok és következményeik (fokális vagy diffúz): az ödéma, az ischemia és az emelkedett intrakraniális nyomás. A disszertációm ennek a komplex kórkép-csoportnak csak a vaszkuláris aspektusával foglalkozik, melyeket patkányokból izolált agyi artériákon vizsgáltunk.

1.9. A TBI és a miogén mechanizmus

Mások és a mi saját kísérleteink is igazolták, hogy a TBI károsítja az agyi artériák miogén mechanizmus válaszait [117, 137]. A vizsgálatok megállapították, hogy függetlenül az alkalmazott állatmodellektől, valamint az időbeliség vizsgálatától (2 és 24

órák modell használata) a miogén mechanizmusok, az erek konstriktív képessége kifejezetten sérülnek [138].

A TBI által kiváltott miogén konstriktív károsodásának következményei valószínűleg sokrétűek. Először is hozzájárul a megnövekedett vérmennyiséghez a zárt koponyában. Másodsor, a vérnyomás emelkedésénél, a miogén „védő mechanizmus” hiánya valószínűleg lehetővé teszi a magas nyomás létrejöttét az agy mikrocirkulációjában, elősegítve a vér - agy gát felszakadását és a mikrovaszkuláris sérülést, ami súlyosítja a vazogén ödémát [45, 117, 138-141]. Mind a megnövekedett agyi vér volumen (CBV), mind a vazogén ödéma hozzájárul az intrakraniális nyomás emelkedéséhez. Ez különösen akkor jellemző, ha a koponyán belüli állandóságot, az intrakraniális nyomás (ICP), növekedésének ellensúlyozására, gyengíti a citotoxikus ödéma [117, 138-144].

1.10. A BK_{Ca} csatornák szerepe az agyi artériák miogén konstriktívójában a TBI után

Korábbi kutatások kimutatták a BK_{Ca} csatornák jelenlétét az agyi artériákon [145, 146]. Ezen csatornák aktiválása az erek simaizomsejt membránjának hiperpolarizációjával jár, amely a miogén konstriktív negatív visszacsatoló szabályozója [147-149]. Kimutatták, hogy a BK_{Ca}-csatorna gátlása a TBI után [150], kontrahálja az agyi artériákat. A korábbi vizsgálatok azt is kimutatták, hogy a BK_{Ca} csatornák Paxillinnel történő specifikus gátlása izolált MCA-n visszaállítja a TBI patkányok MCA-jának miogén konstriktívóját a kontroll szintre [117].

A kutatások szerint a TBI patkányok H₂O₂ által kiváltott MCA-k dilatációja 1) szignifikánsan nagyobb, mint a kontroll állatokból származó MCA-k dilatátor válaszai, és 2) gátolják a BK_{Ca} csatornák blokkolásával az érválaszt. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a TBI-el összefüggő fokozott cerebrovaszkuláris H₂O₂ termelés rontja az MCA-k miogén konstriktívóját a BK_{Ca} csatornák aktiválása révén. A TBI felülszabályozza a BK_{Ca} csatornaprotein mRNS-ének expresszióját, ami valószínűleg megmagyarázza a csatornák agyi trauma utáni fokozott dilatációs hatását is [117].

Az áramlásra érzékeny vasomotor válasz lehetséges változásait azonban még nem tárták fel TBI után. Mivel mindkét hemodinamikai erő összekapcsolódik az érrendszeri

rezisztencia változásaival és ezáltal hozzájárul az autoregulációhoz, fontosnak tartottuk annak tisztázását, hogy az áramlásérzékeny válaszokat befolyásolja-e a TBI.

1.11. Terápiás lehetőségek az autoregulációs funkciók helyreállítására a traumás agysérülés után

A TBI-ban szenvedő embereknél jelenleg nem állnak rendelkezésre célzott beavatkozások az autoregulációs funkció helyreállítására vagy a terjedő depolarizációk és az egyidejű CBF-változások megelőzésére. A jelenlegi terápiás erőfeszítések a CBF-szabályozást ismerten befolyásoló szisztémás hemodinamikai paraméterek (vérnyomás, plazma ozmotikus nyomás, plazma- és eritrocitaterfogot, valamint PaO₂ és PaCO₂) az úgynevezett "Lund-protokoll" használatával, a normalizálására összpontosítanak, hogy fenntartsák a sérült területek megfelelő perfúzióját [151].

Azonban a közelmúltban végzett vizsgálatok eredményei alapján egy meglehetősen újszerű terápiás megközelítés alakult ki, nevezetesen az agyi perfúziós nyomás (CPP) olyan szinten tartása, ahol az autoregulációs funkció a legjobban megőrződik, és ezáltal válik optimálissá az egyes betegek számára [140, 141, 152-154]. Ha megfigyeljük és ábrázoljuk a nyomás reaktivitási indexet a CPP függvényében, akkor egy U-alakú görbét kapunk. Ezután a páciens számára optimális CPP-t a görbe legalacsonyabb nyomás reaktivitási index értékének megfelelő értéként határozzák meg. Ezt az értéket a későbbi betegkezelés során személyre szabottabb megközelítésként lehet megcélozni, mint az agyi perfúziós nyomást a felnőtt populáció számára normálisnak tekintett 60–140 Hgmm igen széles tartományban tartani.

Az optimális agyi perfúziós nyomás elméletileg szűkebben is célozható az intrakraniális nyomás szabályozásával és a páciens vérnyomásának beállításával, ezáltal optimalizálva az autoregulációs funkciót. Egy kutatás szerint: a betegeknél a neurointenzív monitorozás során fenntartott optimális CPP és tényleges CPP-értékek közötti kisebb különbségek kedvezőbb kimenetekkel jártak [152]. A tényleges agyi perfúziós nyomások, amelyek jóval az optimális CPP alatt voltak, magasabb mortalitást, a lényegesen optimális agyi perfúziós nyomást meghaladók pedig fokozottabban rokkantságot eredményeztek [155, 156].

Az állatkísérletekben, a hirtelen fellépő hipotenzióra [157], válaszul 1 órás poszttraumás hipotermia, javította a traumás agysérüléssel összefüggő autoregulációs diszfunkciót de ezeket az ígéretes eredményeket nem tudták klinikai körülményekre átültetni [158].

1.12. Az áramlás-indukálta konstriktó változása a traumás agysérülésben

A fentiek miatt terveztük vizsgálni a TBI hatását a patkány izolált középső agyi artériáinak (MCA) áramlásérzékeny vasomotor válaszára. Ezt az eret (MCA-t) és az ér ugyanazon szakaszát választottuk vizsgálatunkhoz annak érdekében, hogy eredményeink összehasonlíthatók legyenek a kutató csoportunk, és más nemzetközileg elismert tudományos közlemény korábbi eredményeivel [137, 159]. Állandó intraluminális nyomás jelenlétében ebben a vizsgálatban megváltoztattuk az intraluminális áramlást és követtük az intakt és TBI patkánycsoportokból izolált MCA-k átmérőjének változását. Farmakológiai eszközök alkalmazásával arra is törekedtünk, hogy felfedjük az áramlás okozta vasomotor válaszokat közvetítő molekuláris mechanizmusokban bekövetkező lehetséges változásokat a TBI hatására.

2. HIPOTÉZISEK ÉS CÉLKITŰZÉSEK

- Feltételeztük, hogy a traumás agysérülés az áramlás szempontjából előnytelenül módosítja az izolált középső agyi artériák áramlás-indukált konstrikióját.
- Feltételeztük, hogy a traumás agysérülés károsítja az arachidonsav metabolizmusát és a konstriktor prosztaglandinokra érzékeny receptorokat.

- Kísérleteink során célul tűztük ki patkány agyi artériákból izolált MCA áramlás-indukált válaszának vizsgálatát agyi sérülés előtt és után
- valamint farmakológiai eszközökkel a molekuláris mechanizmusok tisztázását.

3. MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok

Az agyi artériákkal végzett állatkísérleteinket a Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi Intézmény Állatgondozási Felhasználási Bizottsága, valamint az Országos Állatkísérleti Tudományos Etikai Bizottság hagyta jóvá az „ARRIVE” irányelveinek megfelelően (Állatkísérletes etikai engedélyszám: BAI/35/51-107/2016 2016. október 25-én).

A kísérleteinket hím (300–350 g méretű) Wistar–Kyoto patkányokkal végeztük melyeket a Charles River Laboratories-tól (Wilmington, MA, USA) szereztünk be. A patkányok standard táplálékot kaptak ad libitum és az ivóvízhez is szabad hozzáférésük volt.

3.2. Traumatikus agysérülés (TBI)

A kísérleteink során a traumás agysérülést az impakt akcelerációs koponyasérülés modellel idéztük elő. Amely elsősorban a zárt koponyasérülések esetén keletkező diffúz károsodások modellezésére szolgál, a koponyatrauma standardizált körülmények közötti kiváltására alkalmas berendezés [45, 52, 142, 160].

A szakirodalom szerint Marmarou és Foda által leírt impakt akcelerációs koponya trauma modellt [161, 162] (**5. ábra**) a Virginia Commonwealth University (Richmond VA) technológiai intézetétől tudta megvásárolni a Pécsi Tudományegyetem, Szentágotthai János Kutatóközpont, Neurotrauma kutatócsoport Kelet-Európában elsőként. Az eszköz diffúzan elszórt, a koponya sérülés hatására károsodott axonok kialakulását idézi elő. Kifejezetten a hosszúpályák agytörzsi szakaszán (tractus corticospinális (TCSp) medulláris szakasza, a decussatio pyramidorum, lemniscus mediális (LM) és a fasciculus longitudinális mediális (FLM) nyúltvelői szakasza), anélkül, hogy gócos agysérülés, vagy az agyburok vérzése is kialakulna.

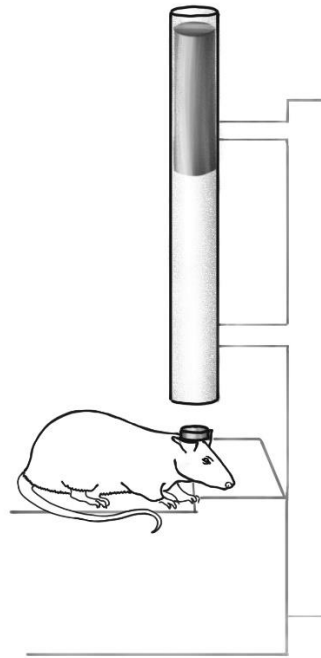
3.3. Kísérleti állat anesztézia és műtét

A Marmarou féle súlyejtéses modell használata előtt előkészítettük a kísérleti állatot. A műtét előtt a patkányokat egy plexiből készült dobozban 4 % isoflurán (Forane, Abott, Magyarország), 70 % N₂O and és 30 % O₂ keverék segítségével elaltattuk. A műtét ideje alatt az állatokat folyamatos altatásban tartottuk (1,5-2 % isoflurán, 70 % N₂O és 30 % O₂ keveréke Ohmeda Tec 4 Anesthetic Vaporizer (Ohmeda Inc., Madison, WI) altatógép segítségével (Inspira ASV, Harvard Apparatus, USA). A műtétet sebészi narkózis állapotában végeztük, az állatok a kísérlet során fájdalmat nem éreztek.

Mint említtem az anesztéziát (4%-os) izoflurán segítségével végeztük [137, 163, 164] majd a műtét során a patkány fejét rögzítettük a Stoelting sztereotaxiás készülékben. Majd leborotváltuk és fertőtlenítettük a fejbőrt, mielőtt hosszanti metszést ejtettünk rajta, hogy szabaddá váljon a Lambda és a Bregma varratok közötti koponyafelszín. A varratok közé a centrálisan egy rozsdamentes acélból készült fém anyagú korongot, -melynek átmérője 10mm, vastagsága 3mm- rögzítettünk cianoakrilát ragasztó segítségével.

Ezután a standard fej- és testtartó szivacsra helyeztük le az állatot, ahol rögzítettük szíjakkal, majd a fent említett fémkorongra 450g tömegű súlyt ejtettünk 1,5m magasságból a Marmarou-féle impakt-akcelerációs készülék plexi-csővéen keresztül (5. **ábra**).

A kísérlet koponyasérülés fázisa után a fémkorongot eltávolítottuk. Ezután megvártuk, amíg a spontán légzés vissza nem tért. Amennyiben a spontán légzés 30 mp múlva sem tért vissza, akkor az állatokat intubáltuk és 100 % O₂-nel lélegeztettük a felébredésükig. Ha a kísérlet során a koponyacsont súlyosan megsérült például eltört, az állatot a további kísérletekből kizártuk.



5. ábra: Marmarou féle súly ejtéses modell saját készítésű sematikus ábrája.

Altatott patkányokban impakt akcelerációs koponyasérülés modell, mely elsősorban a zárt koponyasérülések esetén keletkező diffúz károsodások modellezésére szolgál (450 g súly, 1,5 m magasról). /A kép módosítva a Chronic Histopathological and Behavioral Outcomes of Experimental Traumatic Brain Injury in Adult Male Animals, N. Osier, S. Carlson, A. Desana and C. Dixon Journal of neurotrauma 2014 Vol. 32 DOI: 10.1089/neu.2014.3680 után/.

3.4. Patkány középső agyi artériáinak izolálása és nyomás-áramlás kamrába helyezése a vasomotor válaszok vizsgálatához

Az első beavatkozás után 24 óra elteltével az állatokat egy újabb kísérlet elején elaltattuk (2%-os) isoflurane-nal majd dekapitáltuk őket. A koponyából az agyakat azonnal eltávolítottuk, ezt követően 0-4°C-os standard Krebs oldatot tartalmazó, szilikonnal bélelt Petri csészébe helyeztünk.

A kísérlet alatt a sóoldatot 10% O₂, 5% CO₂, 85% N₂ tartalmú gázkeverékkel oxigenizáltuk. Az oldat pH-ját 7,4-re állítottuk be. A középső agyi artériákat (MCA) izoláltuk az állatok agyának mindkét oldaláról (n = 77) [117]. Az izolált artéria kb. 1 cm-es szakaszát (**6. ábra**) egy speciális, két üveganült tartalmazó érkamrába helyeztük. A kamra és a kanülök hűtött valamint oxigenizált fiziológias sóoldattal voltak feltöltve. A

preparálás során megfigyelt áramlási viszonyok szerint először az érszegmens proximális, majd a disztális végét megkanuláltuk, ezután csomózással rögzítettük az üvegkanulokhoz. Az MCA ér megkanulálását és rögzítését mikrosebészeti eszközökkel és speciális mikrofonállal végeztük mikroszkóp alatt.



6. ábra: Eredeti felvétel patkány agyról valamint izolált, kanulált MCA szegmensről.

Az MCA ér szakasz kanulálását és a mikrokanulokon való rögzítését mikrosebészeti eszközökkel és mikroszkóp segítségével végeztük

/A kép módosítva Toth P, Csiszar A, Sosnowska D, Tucsek Z, Cseplo P, Springo Z, Tarantini S, Sonntag WE, Ungvari Z, Koller A. Treatment with the cytochrome P450 ω -hydroxylase inhibitor HET0016 attenuates cerebrovascular inflammation, oxidative stress and improves vasomotor function in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol.* 2013 Apr;168(8):1878-88. doi: 10.1111/bph.12079. PMID: 23194285; PMCID: PMC3623058./.

A nyomásokat egy servo-kontroll pumpa rendszerrel (Living Systems Instrumentation, Burlington és VE, USA) állítottuk be és mértük. A perfúzió áramlását gömbáramlásmérővel mértük (Omega, Omega Engineering Inc., Stamford, CT, USA).

A belső átmérőt videomikroszkóppal, vizsgáltuk konkrétan egy mikroangiométer segítségével (Texas A&M University System, College Station, TX 77840, USA). Az artéria átmérőjének változását folyamatosan digitálisan rögzítette a PowerLab rendszer (AD Instruments, Sydney, Ausztrália), amely későbbi elemzés céljából a számítógéphez csatlakozott.

Az üvegkanülök átmérője ugyanakkora volt - 110 μm volt - annak érdekében, hogy a nyomás-miográf rendszerben azonos ellenállási viszonyok alakuljanak ki az érszegmens mindkét végén [80]. A standard üvegkanüloket a Danish Myo Technology A/S-től vásároltuk. A kanülök szilikonból készült csövekben folytatódva kapcsolódtak be az izotóniás nyomás-miográf rendszerbe (7. ábra).

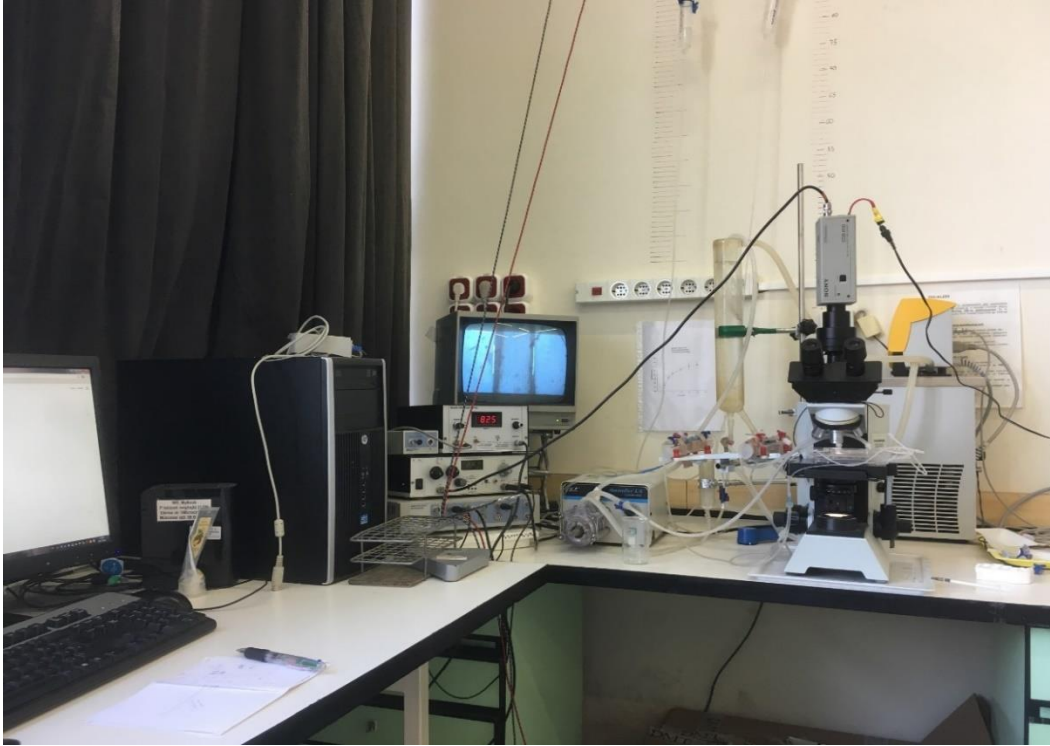


7. ábra: *Egyedi gyártású nyomás-áramlás kamra, benne a mindkét végén kanülált középső agyi artéria szegmens.* Eredeti felvétel: Az izolált artéria kb. 1 cm-es szakasza egy speciális, a két üvegkanült tartalmazó érkamrában. A kanülök és a kamra fűtve voltak, valamint oxigenizált fiziológias sóoldattal voltak feltöltve. A Petri csésze, amelybe az agy került, jéggel volt hűtve.

3.5. Miogén tónus és áramlás okozta válaszok izolált agyi artériákban

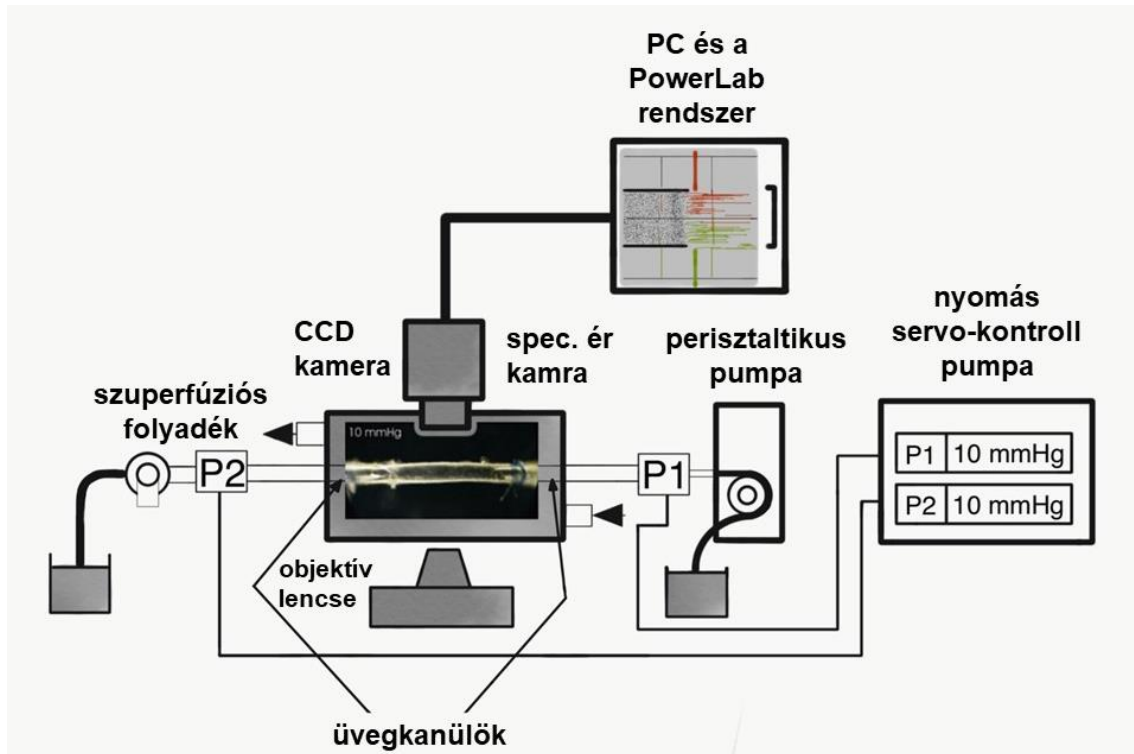
A 60 perces inkubációs idő végére az erekben spontán miogén tónus alakult ki, válaszul a 80 Hgmm intraluminális nyomásra. Ezután az MCA átmérőjének változását követtük nyomon a nyomáskülönbség által kiváltott áramlás fokozatos növekedésével (ΔP ; a beáramló és a kiáramló nyomás azonos mértékű, de ellentétes irányú megváltoztatásával állapítható meg. Korábbi kísérletekben [80] a nyomáskülönbségnek megfelelően mért áramlás: $\Delta P = 0, 10, 20, 30$ és 40 , amely $3\text{-}32 \mu\text{L} / \text{perc}$ változásnak felel meg az intraluminális áramlásban (80 Hgmm intraluminális nyomásnál) [111].

A protokollnak megfelelően a ki és a beáramlást szabályozó rezervoárokkal minden vizsgálati áramlás lépcsőnél 3 percig vártunk, hogy elérjük az ér fiziológiai egyensúlyi állapotát és pontos érátmérő változást rögzíthessünk. Majd a PowerLab és a mikroangiométer segítségével lejegyeztük az érátmérő különböző vizsgálati körülményei során fellépő változásait az ép, intakt és a TBI csoportban is. A **8. ábra** és a **9. ábra** a nyomás-miográf és az összes előbb felsorolt kísérlethez szükséges rendszert, valamint a felépítésüket mutatja be.

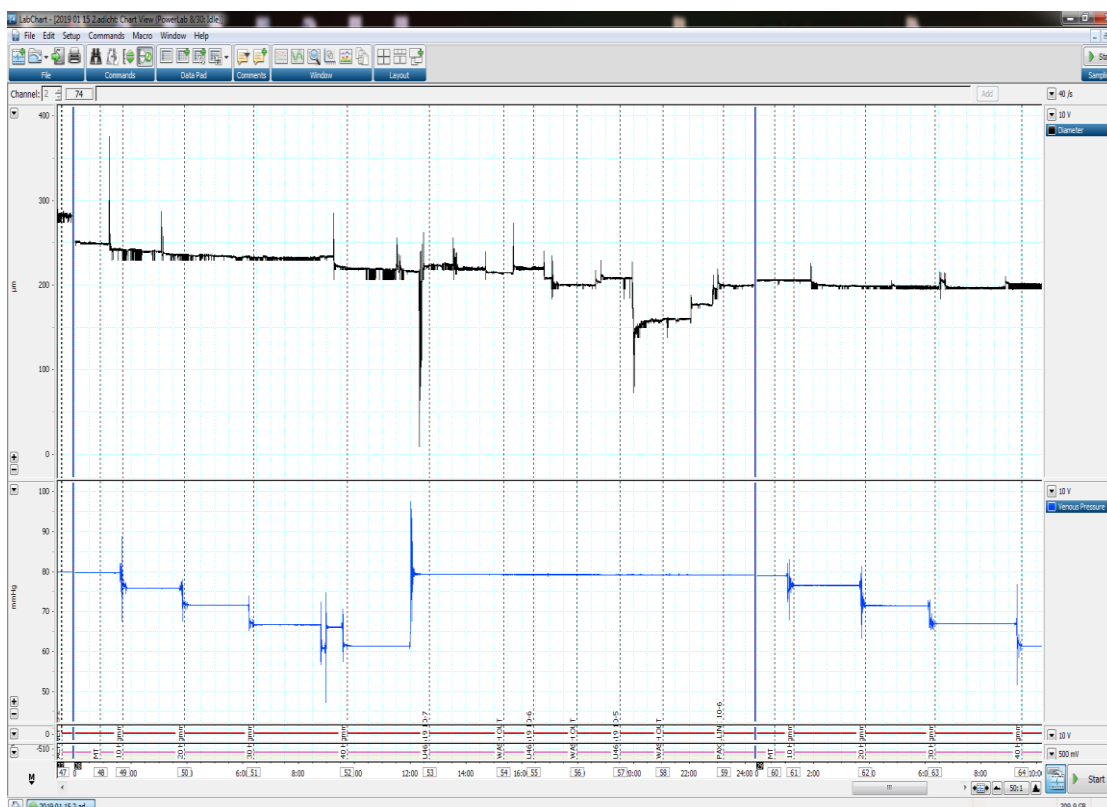


8. ábra: A nyomás-miográf rendszer felépítését bemutató eredeti felvétel.

A rendszerben egy speciális érkamrában helyezkedik el a mindkét végén kanülált MCA ér. A mikrokanülök mindkét végén nyomásmérő és átalakító eszköz van beépítve. A vízcentiméter alapján kalibrált tubusok segítségével az érszegmensek végén változtatható az intraluminális nyomás, így áramlás is generálható. A rendszerben az érátmérő változásokat a videomikroszkóp által monitoron lehet nyomon követni. A mikroangiométer manuális beállítást igényel az érátmérő változásának megfelelően. Az adatokat a későbbi analízishez a Power Lab digitális adatrögzítő rendszer továbbítja a számítógépre.



9. ábra: A sematikus ábra mutatja az izolált ér kísérleti rendszert, amiben az éren belüli nyomást és áramlást tetszőlegesen szabályozni lehet és az agyszövet hiányában annak metabolikus hatásai kizárhatók. Egy televíziós mikroszkóp segítségével az érátmérő változásai folyamatosan követhetők és rögzíthetők.



10. ábra: Eredeti felvétel: a PowerLab digitális adatrögzítő rendszer regisztrátuma az izolált patkány agyi MCA érről. Az X tengelyen látható a kísérlet során eltelt idő, az Y tengely felső részében μm -ben meghatározott ér átmérő változást detektálhatunk, az alsó részén az Y tengelynek pedig az ér intraluminális nyomás változásait tudjuk leolvasni, Hgmm-ben. Ebben a kísérletben az ér átmérő 270-190 μm között változott, 80 Hgmm-es állandó nyomáson, 0-40 Hgmm-es intraluminális áramlás változással. A kísérlet 28 percen át tartott.

A **10. ábrán** látható, hogy a traumás agysérülést szenvedett patkány agyi MCA ér, 0-40 Hgmm áramlás változás hatására is nagyon kismértékű érátmérő reakciót mutat.

A vazóaktív anyag hozzáadása (ez esetben az U46619, 10^{-7} - 10^{-5} mol/L) a regisztrátum felső részében μm -ben meghatározott ér átmérőt követhetünk nyomon, - amely ez esetben konstriktiót mutat-. Az ábra alsóbb részén pedig a Hgmm-ben meghatározott az ér intraluminális nyomás és áramlás változásait tudjuk leolvasni.

3.6. Felhasznált vazóaktív anyagok

A kísérleteink során az alábbi vazóaktív anyagok és gátlószerek kerültek felhasználásra:

- Arachidonsav (**AA**):
 prosztaglandin prekursor
 10^{-7} ; 10^{-8} mol / L (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)
- 20-hidroxi-eikozatetraénsav (**20-HETE**):
 citokróm P450 o-hidroxilázok
 10^{-7} mol / L (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)
- 9,11-Dideoxi-11 α , 9 α -epoxi-metanoprostaglandin F2 α (**U46619**):
 TP-receptorok stabil agonistája
 10^{-6} ; 10^{-7} mol / L (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)
- 1S- [1 α , 2 α (Z), 3 α , 4 α] - 7- [3 - [[2 - [(fenilamino) karbonil] hidrazino] metil] -
 7-oxabiciklo [2.2.1] hept -2-il] -5-hepténsav (**SQ 29,548**):
 a PGH₂/TXA₂ receptor specifikus blokkolója
 10^{-6} mol / L, 30 perces inkubáció (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA)
- N- (4-butyl-2-metilfenil) -N'-hidroxi-metánimidamid (**HET0016**):
 a CYP450 4A inhibitora
 10^{-6} mol / L, 30 perces inkubáció (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA)
- 1S, 2R, 5S, 7R, 11S, 14S) -11-hidroxi-7- (2-hidroxi-propán-2-il) -1,2-dimetil-6-
 oxa-23-azahexacy-kló [12.10.0.02, 11.05,10.016,24.017,22] tetracos-9,16 (24),
 17,19,21-pentaen-8-on (**Paxilline**):
 simaizom káliumcsatorna blokkoló (BK_{Ca})
 10^{-6} mol / L, 30 perces inkubáció, (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)

A kísérlet végén felvettük az erek maximális passzív átmérőjét, ehhez a rendszerben áramló standard Krebs oldatot lecseréltük a dimetil-2,6-dimetil-4- (2-nitrofenil) -1,4-dihidropiridin-3-t tartalmazó Ca^{2+} -mentes fiziológias sóoldatra (PSS) és 5-dikarboxilát-tal (nifedipin) 10^{-5} mol/l (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 1 percig inkubáltuk.

Így a kísérletek végén meggyőződhattünk arról, hogy az általunk alkalmazott vazóaktív anyagok és gátlószerek nem sértették e fel az ér simaizom viabilitását és egészében az érszegmens funkcionális épségét.

A gátlószereket és a vazóaktív anyagokat extraluminálisan juttattuk be az érkamrába. Az általunk vizsgált anyagoknál a végső koncentrációk értékeit tüntettük fel. Az érátmérőt nem befolyásolták az általunk felhasznált enzimeket gátló szerek és vazóaktív anyagok oldására használt vegyszerek.

Minden esetben külön kísérletben vizsgáltuk az oldószerek esetleges hatását az érátmérőre. A vazóaktív ágensek hatásainak vizsgálata után az érkamrát friss Krebs oldattal mostuk át.

3.7. Kvantitatív valós idejű qRT-PCR

A 20-HETE termelő citokróm izoformák, a CYP4a1 és a CYP4a3 mRNS expressziójának elemzéséhez az egyes csoportok patkányainak MCA-jaiban kvantitatív valós idejű qRT-PCR technikát alkalmaztunk [165]. A gyártó (Life Sciences, Carlsbad, CA, USA) által javasolt protokoll szerint a teljes RNS-t a Pure Link TM RNA Mini Kit segítségével izoláltuk. A minta homogenizálása után az RNS-t etanollal tisztítottuk, és a membránról eluáltuk. A NanoDrop (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) alkalmazásával meghatároztuk az RNS teljes mennyiségét. Ezután a nagy kapacitású cDNS kitet alkalmaztuk a cDNS szintézisének elvégzésére (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A qRT-PCR-t SensiFast SYBR Green reagenssel (Bi-oLine, Luckenwalde, Németország) használtuk a génexpressziós elemzéshez.

Az amplifikációkat az ABI StepOnePlus rendszeren futtattuk (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A gén-expresszió elemzéséhez StepOne szoftvert

használtunk, amelyet a 18S háztartási génre normalizáltak. A PCR referencia görbék minősége alapján a 18S-t választottuk referencia génnek. A primer szekvenciákat az 1. táblázat foglalja össze (**1. táblázat**).

1. táblázat: A 20-HETE termelő citokróm izoformák, a CYP4a1 és a CYP4a3 mRNS expressziójának elemzése kvantitatív valós idejű qRT-PCR-rel. A primer szekvenciák a táblázatban láthatóak.

<i>Primerek</i>	<i>Előre</i>	<i>Hátramenet</i>
18S	TTGCTGATCCACATCTGCT GG	ATTGCCGACAGGATGCAGAA
CYP4a1	AATGCTAACCCCAGCCTTC C	AGAGGAGTCTTGACCTGCCA
CYP4a3	CTGTAGCTTTTCCTCCAGA CTCCA	CAGTGGCTGGTCAGAGGTGAA

A primer szekvenciákat magunk terveztük meg, a primereket pedig a Bioscience-től rendeltük, majd ellenőriztettük a szekvenciákat. A PCR-termékek amplifikációját a 2- $\Delta\Delta$ Ct módszer szerint számítottuk.

3.8. Statisztikai analízis

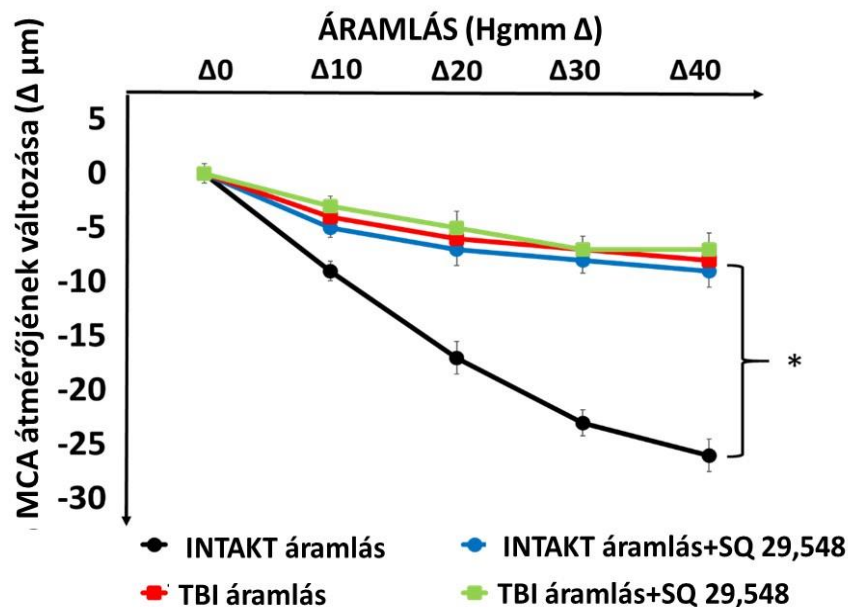
A statisztikai elemzést kétirányú ANOVA-val végeztük, amelyet Tukey post hoc teszt vagy Student t-teszt követett. Az összes adatot átlag \pm SEM formában mutatjuk be, és a $p < 0,05$ értékeket tekintettük szignifikánsnak. Az adatokat mikrométerben (μ m), vagy a passzív átmérő százalékában adjuk meg a megfelelő intraluminális nyomáson.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az izolált agyi artériák (MCA) áramlás által kiváltott átmérő válasza ép, intakt esetben és traumás agysérülés után

Vizsgálataink során az ép patkányokból izolált MCA-k aktív ér átmérője $238,2 \pm 6 \mu\text{m}$, míg a passzív átmérő $280,9 \pm 9 \mu\text{m}$ ($n = 16$, $p < 0,05$) volt. Vizsgálataink során állandó, 80 Hgmm intraluminális nyomás jelenlétében jelentős miogén tónus alakult ki az MCA-kban. Az ép, intakt MCA-k esetén az áramlás növekedése (a nyomáskülönbség növelésével, 80 Hgmm állandó nyomás jelenlétében) jelentős ér konstriktiót váltott ki ($\Delta -26 \pm 4 \mu\text{m}$, $n = 16$, $p < 0,05$), amint az a **11. ábrán** is látható.

A traumás agysérülés (TBI) után az áramlás növekedésének hatására az ér átmérő összehúzódása szignifikánsan és nagymértékben csökkent (**11. ábra**).



11. ábra: Az izolált középső agyi artériák (MCA) átmérőjének változásai.

Ép és traumás agysérülés (TBI) utáni patkányokból izolált MCA átmérő változása. Az intraluminális áramlás ($\Delta 0$, $\Delta 10$, $\Delta 20$, $\Delta 30$, $\Delta 40$ Hgmm közötti beáramló és kiáramló rezervoírok között) növekedésére, és az SQ 29,548 (10^{-6} mol/L). jelenlétében, ami a

*thromboxán A₂ receptor (TP) gátlója. A csillag szignifikáns különbséget jelez * p < 0,05 (n=16, n=8 mindegyik csoportban) [166].*

Hasonlóképpen, az SQ 29,548 (10⁻⁶ mol / L) jelenlétében a thromboxán-prosztanoid A₂ receptor (TP receptorok) inhibitora az intakt patkányokból származó MCA áramlás által indukált konstriktói szignifikánsan és jelentősen csökkentek és a TBI utáni csökkent konstriktós válaszokat az SQ 29,548 már nem befolyásolta tovább.

Az SQ 29,548 vegyület a TP-receptorok specifikus inhibitora. Így az a megállapítás, hogy az SQ 29,548 jelenlétében az áramlás által kiváltott konstriktió meggátolható, azt jelzi, hogy a TP-receptorok részt vesznek az áramlás által indukált válaszban, megerősítve korábbi megállapításainkat [159].

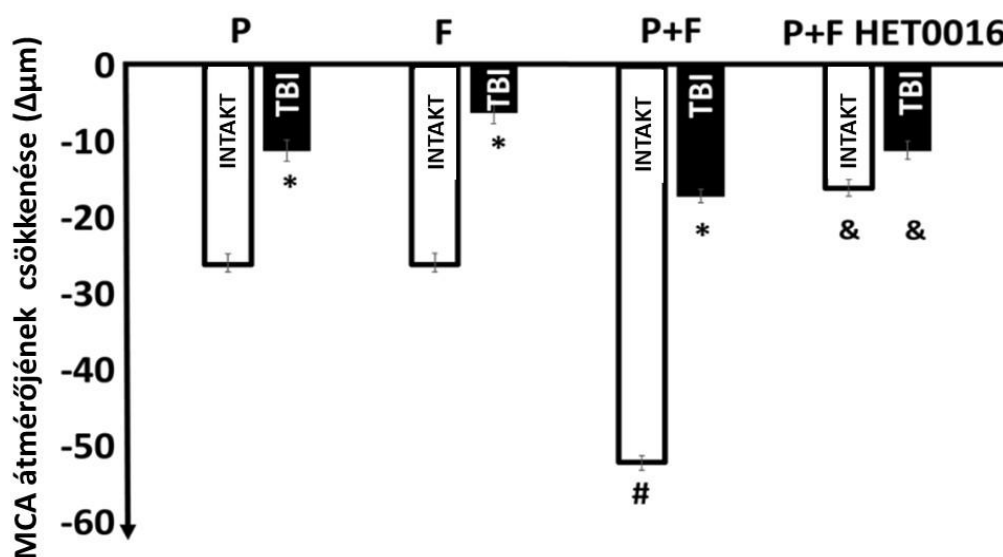
Ezt mutatja az **11. ábra**, nevezetesen azt, hogy intakt MCA-ban a TP-receptorok SQ 29,548 általi gátlása jelentősen csökkentette az áramlás által kiváltott konstriktiót.

Jelen kísérleteink új megállapítása az, hogy a TBI után a csökkent áramlás okozta konstriktiót az SQ 29,548 nem befolyásolta tovább, ami arra utal, hogy ezt a jelátviteli utat a TBI károsítja.

4.2. Az izolált agyi artériák (MCA) áramlás által kiváltott maximális átmérő válaszai ép esetben és traumás agysérülés után

A hemodinamikai erők hatásának bemutatására az MCA átmérőjének maximális csökkenésére ép állapotban és TBI után, oszlopdiagrammban ábrázoltuk az adatokat (**12. ábra**). Ez az ábra azt mutatja, hogy a nyomás önmagában, az áramlás önmagában, valamint a nyomás + áramlás együttes hatása hogyan befolyásolja az izolált MCA átmérőjét.

Látható, hogy ezek a hemodinamikai erők együttesen jelentős konstriktiót váltottak ki az MCA-ból ($\Delta -52 \pm 2,8 \mu\text{m}$). Ezenkívül a HET0016, amely a CYP450 4A inhibitora, szignifikánsan inaktiválta az átmérő válaszokat.



12. ábra: Ez az ábra mutatja a nyomás (P) - vagy az áramlás (F) által kiváltott átmérőcsökkenést önmagában, vagy a nyomás + áramlás additív hatását az ép patkányok MCA átmérőjére és TBI után.

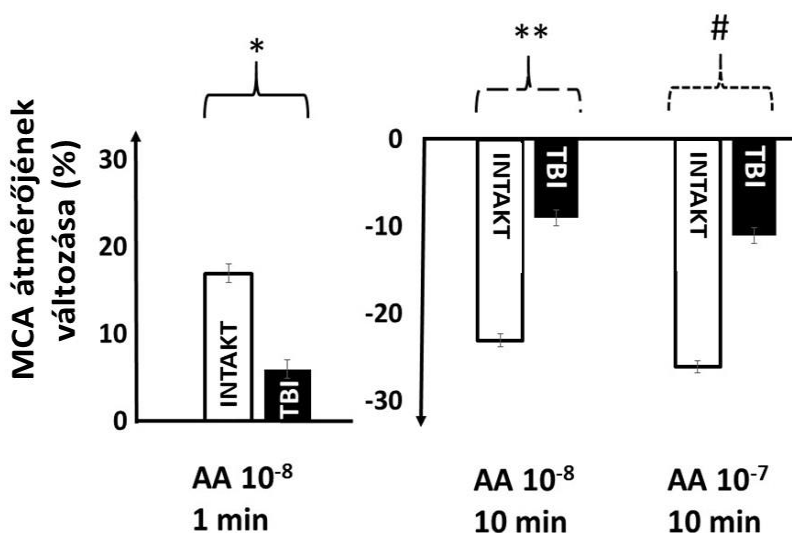
Ezenkívül a 11. ábra azt mutatja be, hogy a traumás agysérülés (TBI) jelentősen csökkenti az ér válaszokat, a nyomás (P) -, az áramlás (F) -, és az MCA-k kombinált nyomás + áramlás (P+F) által okozott ér konstriktiókat (*,# szignifikáns változást jeleznek) # önállóan P-ből és F-ből, valamint P + F-ből (n = 24, az adatok átlag ± SEM, p<0,05). Ezenkívül a HET0016 (10⁻⁶ mol/L), ami a citokróm P450 4A (CYP450 4A) gátolja lényegesen és jelentősen csökkentette a nyomás + áramlás által indukált konstriktiót (n = 6 mindegyik csoportban, & szignifikáns változást jelez, p<0,05) [166].

4.3. Az arachidonsav hatása az izolált agyi artériák (MCA) ér átmérő változásaira, ép esetben és traumás agysérülés után

Annak igazolására, hogy a TBI gátolja az arachidonsav metabolitok termelését és ezáltal a vasomotor válaszokat, különböző körülmények között teszteltük az AA által kiváltott MCA átmérő változását (13. ábra). Megállapítottuk, hogy ép MCA-kban AA

10^{-8} mol/L, kezdeti dilatáció után (1 percnél: $17 \pm 2,1\%$) konstriktiót váltott ki (10 perc $-23 \pm 1,8\%$ -nál), míg AA 10^{-7} mol/L 10 perc újabb konstriktiót váltott ki ($-26 \pm 2,3\%$).

Fontos, hogy az AA által kiváltott válaszok szignifikánsan csökkentek a TBI csoportból izolált MCA-ban: AA (10^{-8} mol/L 1 percnél: $6 \pm 1,4\%$), 10 perc után (10^{-8} mol/L: $-9 \pm 1,1\%$) és (10^{-7} mol/L: $-11 \pm 1,3\%$).



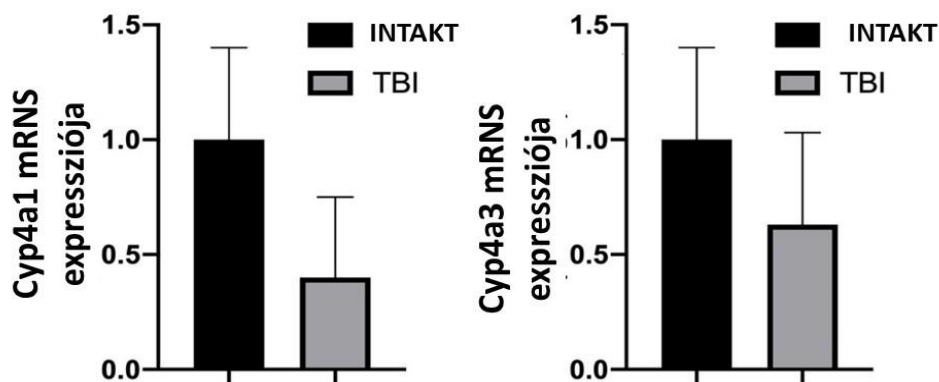
13. ábra: Az ép patkányokból izolált középső agyi artériákban (MCA-k) az arachidonsav alacsonyabb koncentrációja kezdeti dilatáció után (bal oldali panel), konstriktiót váltott ki (jobb oldali panel) míg az AA nagyobb koncentrációja rögtön konstriktiót váltott ki.

A traumás agysérülés (TBI) után az AA által kiváltott átmérő válaszok jelentősen csökkentek. Az adatok a normalizált átmérő % átlag \pm SEM. (*, **, # jelzi $p < 0,05$) [166].

4.4. Az izolált agyi artériák (MCA) A CYP izoformák expressiója ép esetben és traumás agysérülés után

Ezután a 20-HETE-t termelő citokróm izoformák CYP4a1 és CYP4a3 mRNS-expressziójának vizsgálatát tűztük ki célul. Ezért mindkét csoportból származó patkányok MCA-jában, kvantitatív, valós idejű qRT-PCR technikát alkalmaztunk [165].

Mindkét CYP4a izoformának mRNS-expresszióját megfigyelhettük, ami korrelált a csökkent vasomotor válaszokkal (14. ábra).



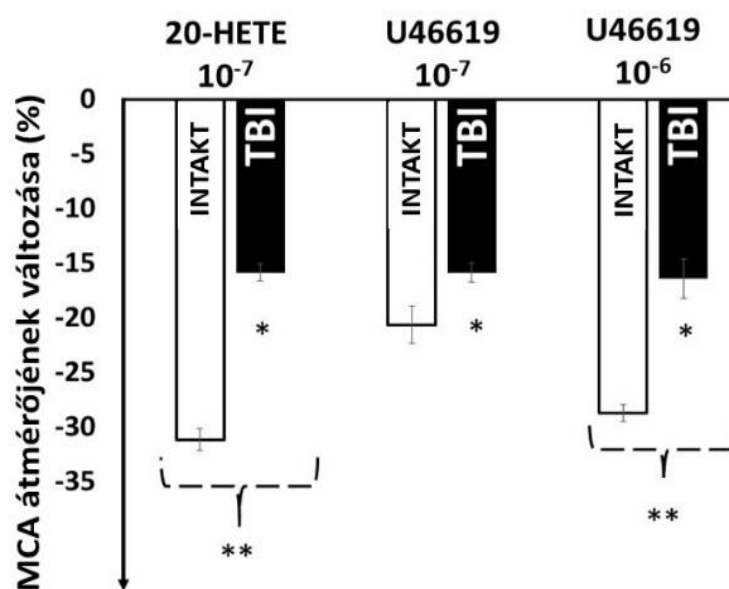
14. ábra. Ez az ábra a Cyp4a1 és Cyp4a3 citokróm izoformák mRNS-expresszióját mutatja az INTAKT és TBI patkányok középső agyi artériáiban (MCA), amelyek a TBI után lényegesen csökkentek ($n = 6$ mindegyik csoportban) [166].

4.5. A 20-HETE és U46619 TP receptor agonista vasomotor hatását vizsgáltuk az izolált agyi artériák (MCA) átmérő válaszára ép esetben és traumás agysérülés után

Ezután megvizsgáltuk a TP receptorok érzékenységét az agonistákkal szemben. Korai kutatások kimutatták, hogy az agyi artériákban a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE), a citokróm P450 o-hidroxilázok (CYP450 4A) metabolitja a thromboxán-prosztanoid A₂ / prosztoglandin H₂ receptorokra hatva konstriktiót vált ki (TP receptor) [51, 112]. A 20-HETE (10^{-7} mol/L), amelyről ismert, hogy a PGH₂ / TXA₂ [159] és az U46619, -amely

egy stabil analóg PGH₂-, mindkettő vegyület a TP-receptorokra hatva, az intakt csoport esetén az izolált MCA-k jelentős konstriktóját váltotta ki.

Továbbá (20-HETE 10⁻⁷ mol/L: -31 ± 3,6% U46619: (10⁻⁷ mol/L: -21 ± 3,3%, 10⁻⁶ mol/L: -29 ± 1,5%), míg a TBI-ből származó MCA-kban patkányoknál ezek a válaszok szignifikánsan csökkentek (20-HETE 10⁻⁷ mol/L: -16 ± 2,5%; U46619 -16 ± 2,4%; 10⁻⁶ mol/L: -16 ± 1,7%) (15. ábra).



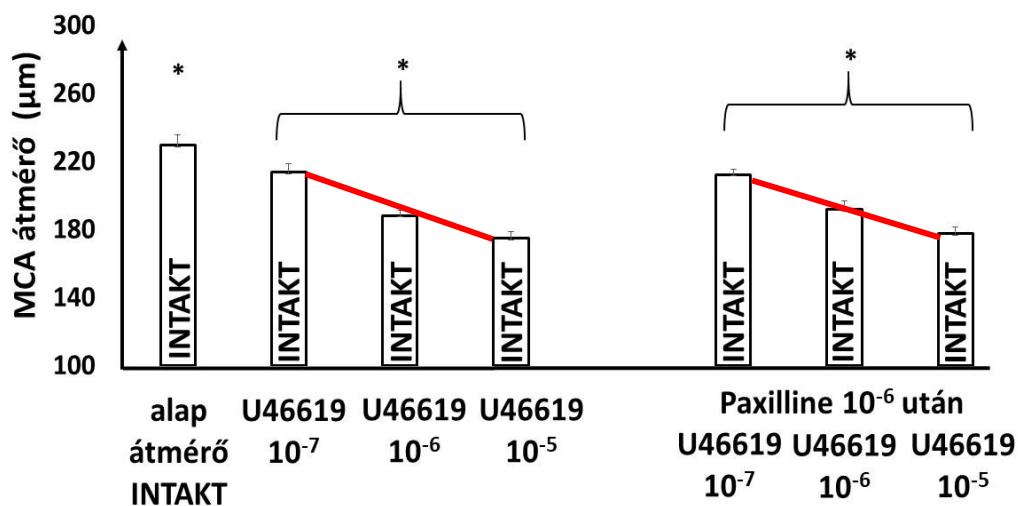
15. ábra: Az izolált középső agyi artériák (MCA) átmérőjének változásai a citokróm P450 4A enzim (CYP450 4A) és az U46619 (10⁻⁷ mol/L) 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE, 10⁻⁷ mol/L) metabolitjára adott válaszként és 10⁻⁶ mol/L a TP-receptorok stabil agonistája, (thromboxán analóg) intakt és traumás agysérülés (TBI) után.

Az adatok átlag ± SEM. A csillagok szignifikáns különbségeket mutatnak (* $p < 0,05$, Intakt 20-HETE 10⁻⁷ ** $p < 0,05$ vs. TBI 20-HETE 10⁻⁷ és Intakt U46619 10⁻⁷, Intakt U46619 10⁻⁶ ** $p < 0,05$ TBI U46619 10⁻⁶ $\Sigma n = 24$, $n = 6$ minden csoportban) [166].

4.6. A stabil prosztanoid, U46619 hatása a vasomotorra a paxilline jelenlétében és hiányában. Izolált agyi artériák (MCA) átmérő válaszai ép esetben és traumás agysérülés után

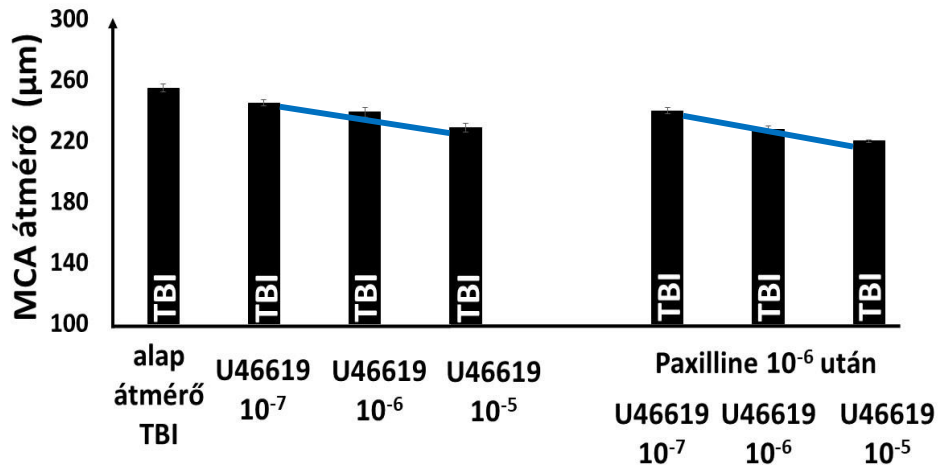
A Paxilline (10^{-6} mol/L, BK_{Ca} káliumcsatorna-blokkoló) nem módosította szignifikánsan az intakt patkányokból izolált U46619 (10^{-7} – 10^{-5} mol/L) okozta MCA ér konstriktóóját (korábban: 10^{-7} mol/L: $-15,9 \pm 5,1$ μm ; 10^{-6} mol/L: $41,4 \pm 3,2$ μm ; 10^{-5} mol/L: $55 \pm 4,8$ μm), míg a Paxilline hozzáadása után (10^{-7} mol/L: $-17,4 \pm 3,8$; 10^{-6} mol/L: $37,7 \pm 5,1$; 10^{-5} mol/L: $52 \pm 4,3$, $p < 0,05$). (16. ábra).

Hasonló módon a Paxilline (10^{-6} mol/L) szignifikánsan nem gátolta az U46619 (10^{-7} – 10^{-5} mol/L) thromboxán analóg által kiváltott konstriktóót a TBI MCA csoportban sem (korábban: 10^{-7} mol/L: $-10 \pm 2,5$ μm ; 10^{-6} mol/L: $-16 \pm 3,8$ μm ; 10^{-5} mol/L: $-26 \pm 3,2$ μm), míg a Paxilline hozzáadása után nem volt további hatással az ér átmérőkön hasonlóképpen az ér kis mértékű konstriktóóját tapasztaltuk (10^{-7} mol/L: $-15 \pm 2,2$ μm ; 10^{-6} mol/L: $-27 \pm 2,8$ μm ; 10^{-5} mol/L: $-35 \pm 1,9$ μm) (17. ábra).



16. ábra: Az izolált középső agyi artériák (MCA) átmérőjére kifejttet U46619 (10^{-7} - 10^{-5} mol/L,) és a BK_{Ca} káliumcsatorna gátló Paxilline (10^{-6} mol / L) jelenlétének és hiányának hatása az ép intakt érre.

Az adatok átlag \pm SEM, $n=6$. A csillagok szignifikáns ($p < 0,05$) különbségeket jeleznek (* alap átmérő vs Intakt U46619 10^{-7-5} , Intakt, Paxilline után U46619 10^{-7-5} mol / L). Publikációban nem szereplő saját készítésű ábra.



17. ábra: Az izolált középső agyi artériák (MCA) átmérőjére kifejtett U46619 (10^{-7} - 10^{-5} mol/L,) és a BK_{Ca} káliumcsatorna gátló Paxilline (10^{-6} mol / L) jelenlétének és hiányának hatása, a TBI traumatikus agysérülést követően. Az adatok átlag \pm SEM, $n=6$. ($p < 0,05$). Publikációban nem szereplő saját készítésű ábra.

5. MEGBESZÉLÉS

A jelen disszertációm új megállapításai: a traumás agysérülés patkány kísérleti modellben:

- (1) jelentősen csökkenti az izolált középső agyi artériák áramlás által kiváltott konstriktóráját,*
- (2) amiért feltehetően az arachidonsav -20-HETE- thromboxán receptor jelút sérülése tehető felelőssé [166], ami feltehetően*
- (3) a 20-HETE a CYP450 4A által való csökkent termelése és a TP receptorok konstriktor prosztanoidokra való csökkent válaszkészsége miatt jön létre.*

Kísérleteink alapján igazolódott, hogy a TBI hatására megváltozik a CYP450 4A működése, ezáltal a konstriktor prosztanoidok termelése és a TP receptorok érzékenysége ezekre a prosztanoidokra, emiatt egy lényegesen csökkent áramlás által indukált konstriktor választ eredményez az ér működése.

A jelenlegi és korábbi kutatások [137, 166] eredményei alapján úgy véljük, hogy a sérült nyomás- és áramlás által kiváltott érszűkítő mechanizmusok együttese jelentősen hozzájárulhat az agyi véráramlás traumatikus agysérülés utáni autoregulációjának diszfunkciójához.

5.1. A traumás agysérülés és következményei

Évente az USA-ban közel kétmillió ember szenved el traumás agysérülést, míg az Európai Unióban már körülbelül két és fél millió. A kisgyermek és az idős emberek különösen ki vannak téve ilyen típusú sérüléseknek: mely például esések, balesetek [162] vagy akár erőszak következtében is kialakulhat. Ezenkívül a TBI gyakran előfordul a sport, - különösen az extrém sportok - növekvő népszerűsége miatt, valamint a katonai hadműveletek során [138].

Mivel az agy a merev koponyában helyezkedik el, az intrakraniális térfogat komplex szabályozás alatt áll, az állandó vérnyomás elengedhetetlen az agy egészséges működésének fenntartásához [167].

Mi és mások is kimutatták, hogy a hemodinamikai erőkre (például nyomásra és áramlásra) érzékeny [38-41] vasomotor mechanizmusok fontos szerepet játszanak az agyi véráramlás fenntartásában a növekvő szisztémás nyomás ellenére.

5.2. A traumás agysérülés károsítja a nyomást és az áramlásra érzékeny vasomotor mechanizmusokat

Korábban bemutattuk, hogy a hemodinamikai erők változásaira érzékeny vasomotor mechanizmusok fontos szerepet játszanak az agyi véráramlás autoregulációjában [44, 47, 113]. A középső agyi artériának és ágainak kulcsfontosságú szerepe az elhelyezkedésükben rejlik, a bejövő vér térfogatának az agyba történő visszavezetése kapcsán.

Megállapítottuk, hogy az izolált patkány középső agyi artériák nyomásérzékeny összehúzó mechanizmusa károsodást szenved a traumás agysérülés után [113]. Mivel korábban azt is kimutattuk, hogy az áramlás növekedése az MCA konstriktóját is kiváltja, ezáltal hozzájárulva a CBF autoregulációjához is [44, 159, 168-170], logikus volt feltételezni, hogy ezt a mechanoszenzitív választ a TBI is befolyásolja. Farmakológiai eszközökkel vizsgáltuk az áramlás okozta vasomotor választ közvetítő molekuláris mechanizmusokat és azok változásait a TBI után.

Valóban azt tapasztaltuk, hogy az intakt patkányokból izolált MCA-k jelentős áramlás által kiváltott konstriktója lecsökkent a TBI után (**11. ábra**). Hasonló csökkenést értünk el az áramlás által kiváltott konstriktóban, amikor a thromboxán-prosztanoid A₂ receptorokat (TP) gátolták (SQ 29,548-al), vagy amikor a CYP450 4A inhibitorával (HET0016) kezeltük és a már csökkent válaszokat a TBI sem befolyásolta tovább (**11. ábra és 12. ábra**).

Ezután AA-t (**13. ábra**), a különböző prosztanoidok prekurzorát használtuk az AA-molekuláris út TBI-ben való részvételének tesztelésére. Az agyi erekben az AA-t a citokróm P450 o-hidroxilázok (CYP450 4A) metabolizálják 20-HETE-vé és más prosztanoidokká, amelyek fontos szerepet játszanak az agyi érrendszeri tónus szabályozásában [47, 51, 113, 139]. Többek között ezek a metabolitok közvetítik az agyi ereknek az agonisták és nyomás által kiváltott válaszait [110, 111].

Jelen kutatásunkban, szintén hasonló eredményt találtunk az AA egy kezdeti dilatáció után ér konstrikciót váltott ki, ezért valószínűsíthetően az AA-ból különböző enzimek (ciklooxygenázok, CYP-ok, lipoxigenáz) révén dilatátorok és konstriktor metabolitok keletkeznek [113, 159].

Mivel a TBI szignifikánsan csökkentette mind a dilatátor, mind a konstriktor választ az AA-ra, arra a következtetésre jutottunk, hogy azt az utat károsítja a TBI, amely elsősorban a konstriktor prosztanoidokra érzékeny enzimeket és / vagy receptorokat foglalhatja magában.

Szintén jelentős csökkenést találtunk a CYP450 alegységek mRNS-ének expressziójában a TBI után (**14. ábra**). A jelenlegi és korábbi megállapítások alapján, amelyek szerint a TBI 20-HETE által közvetített MCA-k áramlás által kiváltott konstrikciói lényegesen és jelentősen gyengülnek, úgy véljük, hogy ennek oka a csökkent cerebrovaszkuláris molekulák termelésének és a csökkent TP (a 20-HETE receptor) által közvetített összehúzó hatás gyengülése.

Az első lehetőséget támasztja alá az a megállapítás, hogy a TBI után a CYP450 4A a HET0016 gátlója nem váltotta ki a konstriktor válasz további csökkenését, és a 20-HETE-t termelő CYP izoformák expressziója a TBI után csökkent (bár az expresszió az adatok nagy eltérése miatt nem érte el a statisztikai szignifikanciát).

Míg a második megállapítást az támasztja alá, hogy az U46619-hez, a TP receptorokon keresztül ható stabil thromboxán analóghoz való konstrikció csökkent a TBI után. Természetesen a CYP enzimek cerebrovaszkuláris expressziója nem feltétlenül korrelál az áramlásra adott válaszként termelt 20-HETE szinttel. Ezt a hipotézist ezért a cerebrovaszkuláris 20-HETE szint direkt mérésével kell megvizsgálni, hasonlóan a korábbi vizsgálatokhoz [46, 125].

Korábbi kutatásokkal [43, 171] összhangban értelmezzük ezeket a megállapításokat, amelyek szerint az áramlás növekedése kiváltja az arachidonsav felszabadulását. Az arachidonsavat a CYP450 4A metabolizálja 20-HETE-vé, amelyet a COX 20-endoperoxidoká (20-OH-PGH₂, 20-OH-PGG₂), és valószínűsíthetően ez okozza a TP-receptorokon át az artériák összehúzódását [44, 113, 159].

A HET0016 (a CYP450 4A gátlója) a TBI utáni áramlás okozta konstrikció csökkentéséhez hasonló módon csökkentette az érátmérőt. Az U46619 által kiváltott konstrikciók szintén csökkentek a TBI után, ami arra utal, hogy a TBI mind ezen

receptorok termelését, mind érzékenységét károsítja. Más szóval, a kísérleteink eredményei arra utalnak, hogy a középső agyi artériák áramlás által kiváltott konstriktor reakcióját a középsúlyos traumás agysérülés csökkenti. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy a citokróm P450 4A csökkent képessége képes az arachidonsavat prosztaglandinokká alakítani, és a thromboxán A₂ (TXA₂) / prosztaglandin H₂ (PGH₂) TP receptoroknak csökkent az érzékenységük.

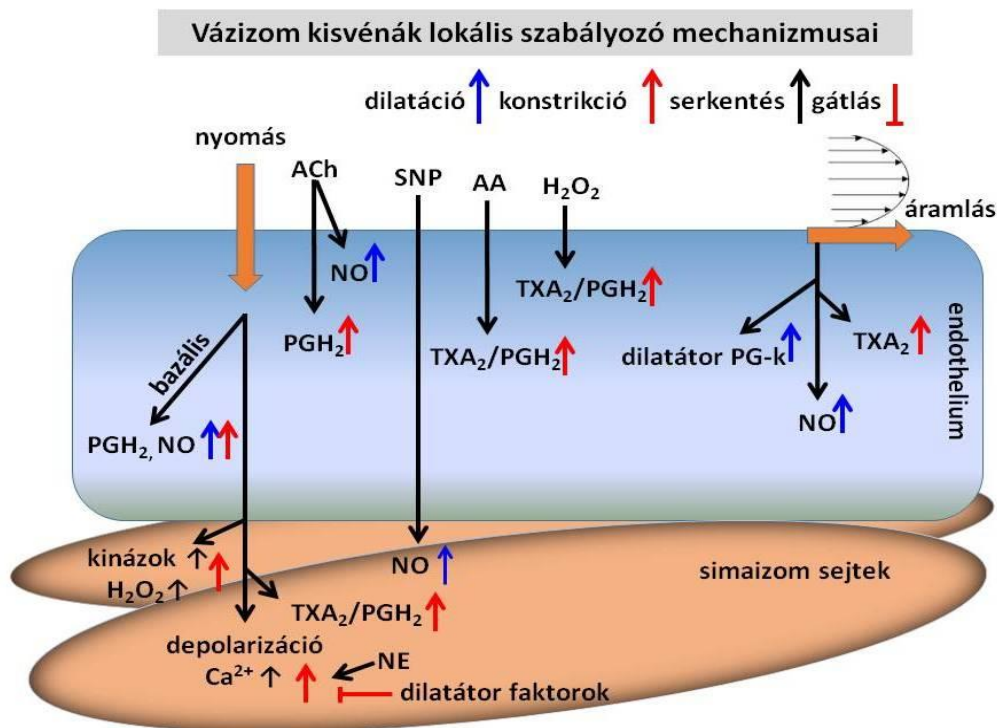
5.3. Az arachidonsav jelút a vénás mikroerekben

Kevésbé ismert, hogy a perifériás kis vénás erek, hasonlóan az agyi artériás erekhez, több konstriktor prosztaglandint termelnek, mint a szervezet többi artériás erei. Ez jelzi, hogy az egyes régiókban, a működéshez alkalmazkodva, az AA-jelút különbözik, ami TBI esetén fontos lehet. Kutatócsoportunk korábban kimutatta, hogy patkány gracilis izomból izolált venulákban az arachidonsav koncentrációfüggő átmérő csökkenést hozott létre, amelyet indometacin és SQ 29,548 szignifikáns mértékben gátolt. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy arachidonsavból az érfalban lévő enzimek nagyobb mennyiségben termelnek konstriktor- (TXA₂/PGH₂), mint dilatátor faktorokat. A bazális értónushoz képest mindkét gátlószer jelenlétében jelentős vazodilatáció alakult ki, ami a konstriktor faktorok gátlása után a dilatátor faktorok fokozott termelésére és túlsúlyára utal. Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy az arachidonsav vazokonstriktív hatását a konstriktor prosztaglandinok, a TXA₂/PGH₂ közvetítik [172].

A hidrogén-peroxid (H₂O₂) az AA-hoz hasonlóan hat a kisvénák átmérőjére, az érátérő koncentráció függően csökken a H₂O₂ emelkedő dózisainak hatására. A mechanizmust az endotéliális és simaizom-függő TXA₂/PGH₂ közvetíti, mivel a COX gátlás (indometacin, ami az aszpirinhez hasonló hatású) és a TXA₂/PGH₂ (TP) receptor blokkolása (SQ 29,548) szignifikánsan mértékben csökkentette a H₂O₂ okozta érválaszt [172].

Izolált vázizom venulákban az intraluminalis áramlás/fali nyíróerő konstriktor TXA₂, NO és dilatátor prosztaglandin termelődéshez vezet, összességében dilatációt eredményezve. Így amikor a véráramlás sebessége és/vagy a viszkozitás nő a venulákban, ezen faktorok jelentősen hozzájárulhatnak a fali nyírófeszültség összetett feed-back szabályozásához [172, 173]. Mások és a kutatócsoportunk korábbi kísérletei alapján

megfigyelhető, hogy a vénulák és kisvénák vasomotor tónusa komplex módon szabályozódik. A hemodinamikai erők (intraluminalis nyomás, áramlás) változása és különböző vasoaktív anyagok átmérőváltozásokat hoznak létre az endotélialis konstriktor és dilatátor faktorok szintézise révén, vagy közvetlenül a simaizomra hatva (**18. ábra**) [174].



18. ábra: A vázizom kisvénák vasomotor tónusának lokális szabályozó mechanizmusai. H₂O₂: hidrogén-peroxid; TXA₂/PGH₂: thromboxán A₂/prostaglandin H₂; COX: ciklooxygenáz; NO: nitrogén-monoxid; ACh: acetilkolin; AA: Arachidonsav; SNP: Nitropruszid-Na; NE: noradrenalin; PG: prostaglandinok; Ca²⁺: kalcium [174].

Korábban kimutatták, hogy a vénás rendszer is sérül TBI után [175] azonban a vasomotor mechanizmusok esetleges sérülése változása továbbra sem tisztázott. Ezért az agyi vénás rendszer szerepe a TBI-ben továbbra is ismeretlen és feltárást igényel. Várhatóan a jövőbeni kutatások több adatot fognak szolgáltatni az agyi vénás rendszerről, ezáltal majd jobban megérthetjük azt.

5.4. A BK_{Ca} csatornák szerepének kizárása az MCA TBI utáni konstrikiójának csökkenésében

Az agyi artériás tónus szabályozásában leírták a BK_{Ca} csatornák (nagy vezetőképességű Ca²⁺-aktivált K⁺ csatorna) esetleges szerepét. Különböző szövetek ereiben található CYP450 epoxigenáz a 20-HETE-n kívül számos AA-metabolitot generál, mint pl. epoxi-eikozatrienok-savak (EETs) és dihydroxy-eikozatrienoik savak (DHETs) [97, 176] melyek dilatálják pl. a koronária ereket a BK_{Ca} csatornák aktiválásán keresztül [177].

Továbbá, vannak olyan adatok az irodalomban, amelyek azt mutatják, hogy a 20-HETE gátolja a BK_{Ca}-t [112, 142]. Ugyanakkor korábbi kísérletek azt is kimutatták, hogy a BK_{Ca}-csatornák gátlása MCA-ban magasabb intraluminális nyomás jelenlétében nem növelte jelentősen a miogén tónust [178]. Ezért kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy TBI után BK_{Ca} csatornák megváltoztatják-e az izolált MCA konstrikiós képességét, a TP receptorok stabil analógjának, a U46619 vasomotor hatásának kimutatásával ép és TBI utáni. Az adatok azt mutatják, hogy a U46619 hasonló konstrikiót okozott paxilline jelenlétében és hiányában (ép/intakt, ill. TBI után). Ezek után a BK csatornák szerepét ki tudtuk zárni az MCA-nak a TBI utáni csökkent konstrikiója létrejöttében (16-17. ábra).

Ugyanakkor Tóth és mtsa kimutatták, hogy mitokondriumban TBI után fokozottan termelődő H₂O₂ [117] jelentősen gátolja a CYP enzimeket [179]. Mindezek jelzik az AA jelút rendszer komplexitását és vaszkuláris terület függését és ezért az izolált ér szinten való felderítését. Ezért a legvalószínűbb, hogy a TBI okozta oxidatív stressz gátolta a CYP450 működését, ami miatt kevesebb konstriktor 20-HETE képződött.

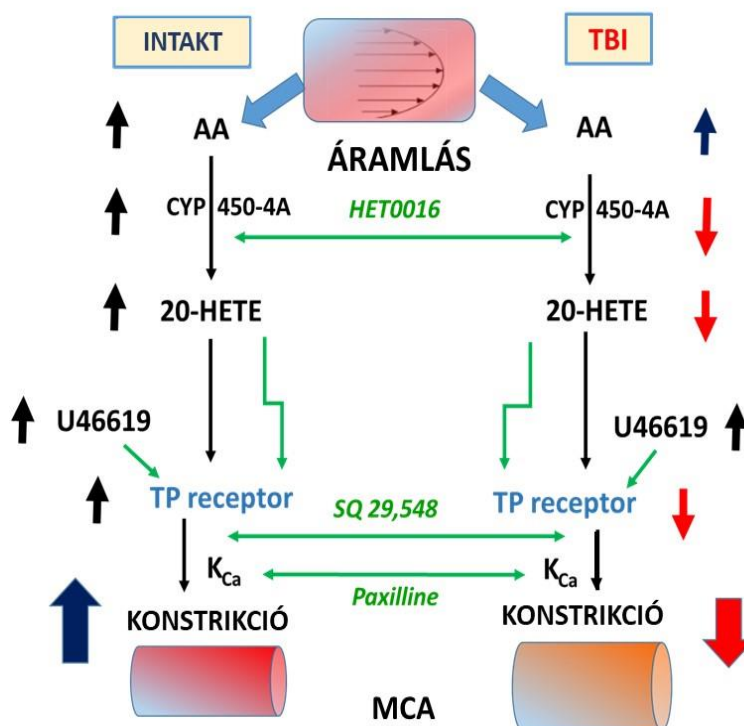
5.5. Az arachidonsav jelút működése ép MCA-ban és TBI után

Az alábbiakban az eredményeink alapján összefoglaljuk az arachidonsav jelút normális működését és TBI után (19. ábra).

Látható, hogy az áramlás növekedése hatására jelentős konstrikiót okoz az ép MCA érben (19. ábra). Az áramlás által kiváltott konstrikió a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE) (az arachidonsav) metabolitja miatt következik be, amelyet

a citokróm P450 4A enzimek (CYP450 4A) termelnek a thromboxán A_2 / prosztaglandin H_2 (TP) receptorokon és BK_{Ca} kálium csatornán keresztül hat.

Ugyanakkor a TBI gátolja az arachidonsav metabolitok termelését és ezáltal a vasomotor válaszokat, az AA által kiváltott válaszok szignifikánsan csökkentek a TBI csoportból izolált MCA-ban. A TBI elsősorban a CYP450 4A működésébe avatkozik bele, ezáltal a konstriktor prosztaglandinok termelésére és a TP receptorok érzékenységére hatást gyakorolva (19. ábra).



19. ábra: Az arachidonsavval kapcsolatos molekuláris mechanizmusok szerepe az áramlásérzékeny konstriktor mechanizmus kialakításában ép körülmények között és traumátikus agysérülés (TBI) után.

Az áramlás által kiváltott konstriktórt a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE) (az arachidonsav) metabolitja hozza létre, amelyet a citokróm P450 4A enzimek (CYP450 4A) termelnek a thromboxán A_2 / prosztaglandin H_2 (TP) receptorokon és BK_{Ca} kálium csatornán keresztül. Publikációban nem szereplő saját készítésű ábra.

5.6. A TBI-károsodott mechanoszenzitív vasomotor mechanizmusok következményei a CBF autoregulációjára

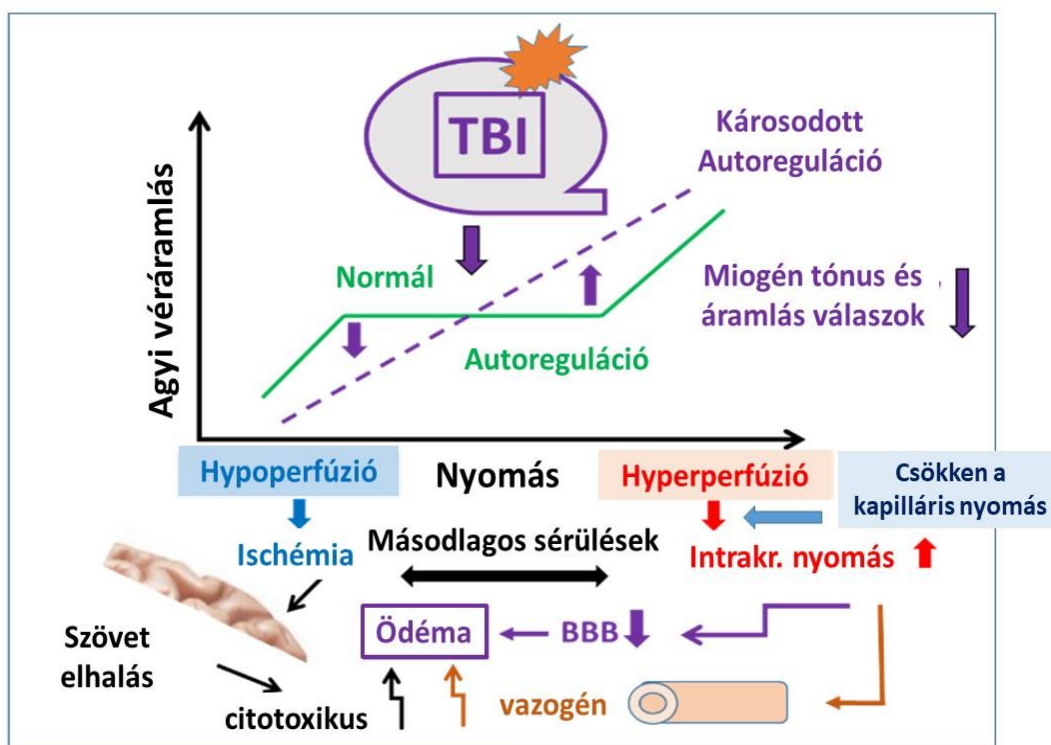
Korábbi és jelenlegi megállapításaink alapján kidolgoztunk egy sémát, hogy jobban megértsük a TBI hatását az agyi véráramlás autoregulációjára és a másodlagos következményekre (**19. ábra**). A **20. ábra** azt szemlélteti, hogy normál, ép körülmények között a nyomás- és áramlásérzékeny konstriktor mechanizmusok - széles tartományban - fenntartják az idealizált állandó agyi véráramlást a perfúziós nyomásnövekedés ellenére. Ezen mechanizmusok hiányában vagy károsodása esetén, például a TBI után, az átmérő nem csökken jelentősen, így szélsőséges körülmények között az áramlás lineárisan növekszik a nyomás függvényében.

Mivel az áramlás összefügg a sugár 4. hatványával, az MCA ~ 50 µm-es szűkítése, a hemodinamikai erőkhöz (miogén nyomás [137] és az áramlás által befolyásolt, ahogy jelen kísérleteink alapján is írtuk) jelentősen módosíthatja az ezen az éren keresztülművő áramlás mennyiségét.

Ezenkívül az in vivo áramlás nemcsak az MCA rövid szakaszának, hanem a teljes artériás és arterioláris hálózatnak a konstriktóját idézi elő, ami ezután lényegesen korlátozhatja a véráramlás növekedését. A teljes érrendszeri konstriktó (artériás és valószínűleg vénás [80], a TBI után bekövetkező sérülése) jelentősen növelheti az áramlást és a nyomást. Ez behatolhat az agy mikrokeringésének disztális részébe, ami a vér térfogatának és nyomásának növekedéséhez vezet. Így ezek valószínűleg felelősek az ödéma és a szöveti toxicitás kialakulásáért (**lásd 20. ábra**).

A magas pre-kapilláris arteriolás és poszt-kapilláris venuláris nyomás a sérült agyszövetből felszabaduló mediátorokkal együtt az ér megnyílásához vezet. A vér-agy gát (BBB) elősegítve a folyadék és a különböző molekulák extravazációját, amely hozzájárul az ödéma és a szöveti sérülés kialakulásához (**20. ábra**).

A CBF károsodott autoregulációja megnövekedett koponyaűri térfogatot és ezáltal intrakraniális nyomást eredményezhet, ezzel komolyan befolyásolva a normál agyműködést, ami mentális leépüléshez vezethet, például Alzheimer-típusú betegséghez [180, 181].



20. ábra: Ez az ábra bemutatja a károsodott nyomás- és áramlásérzékeny mechanizmusok szerepét a traumás agysérülés (TBI) által kiváltott vasomotor diszfunkció és agyödéma kialakulásában [166].

Normál, ép körülmények között a nyomás- és áramlásérzékeny mechanizmusok - széles tartományban - viszonylag állandó agyi véráramlást tartanak fenn a növekvő perfúziós nyomás ellenére (autoregulációs szabályozás). A TBI után ezen mechanizmusok károsodása alakul ki, ezért úgy gondoljuk, hogy a véráramlás lineárisan fog növekedni a nyomás növekedésének függvényében. Ezen túlmenően, a kisebb és nagyobb artériák megfelelő összehúzódásának hiányában nemcsak a CBF, a koponyaűri térfogat és ezáltal a nyomás növekszik, -amikor a perfúziós nyomás növekszik-, hanem a disztális mikro vérzések is. Emiatt károsodik a vér-agy gát, ugyanis nagyobb intraluminális nyomásnak lesz kitéve. Ezek a sérült agyszövetből felszabaduló mediátorokkal együtt a BBB megnyílásához, a folyadék és a különböző molekulák szivárgásához vezethetnek, hozzájárulva az ödéma és az agyszövet sérülésének kialakulásához.

5.7. A jelen kísérleteink korlátai és a további tervek

Jelen kísérleteink során izolált középső agyi artériás ereket használtunk, amelyekben nehéz molekuláris vizsgálatokat végezni vagy mérni a mediátorok felszabadulását a TBI előtt, vagy után. A cerebrovaszkuláris falban az AA metabolitok szintjének változását a cerebrovaszkuláris 20-HETE szint közvetlen mérésével, folyadékromatográfia-tömegspektrometriával mértük, mint a korábbi kutatásokban [46, 125], de ez meghaladja a jelen vizsgálataink kapacitását és sajnos ilyen módszerek jelenleg nem állnak rendelkezésünkre a laborunkban. Az ilyen mérések hiánya korlátozta a kutatásainkat.

Ezenkívül az autoregulációt illetően azt feltételeztük, hogy az agyi artériák más szegmensei és ágai ugyanúgy viselkednek a traumás agysérülés hatására az autoreguláció után. Ezeket a későbbi elképzeléseket, számos klinikai megállapítás is alátámasztja, például a fejtrauma utáni súlyos agyi ödéma kialakulását [182, 183]. Emellett biztos, hogy nemcsak az artériás oldal, hanem a vénás keringés is érintett, a fej traumája során az agyszövetek károsodásával [174].

Valamint érdekes volna megvizsgálni a későbbiekben az agyi erek működését rendszeres fizikai aktivitás, sportolás után is. Korábbi kísérleteink ugyanis már egy rövid távú napi szintű testmozgás program hatására számos jótékony morfológiai, biomechanikai és funkcionális változást mutattak az intramuralis koszorúér-arteriolák adaptációja kapcsán [184]. Mindezen korlátozások egyidejűleg további kutatási területeket jelölhetnek ki a traumatikus agyi sérülés (agyrázkódás) következményeinek enyhítésére.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

Jelen eredmények azt mutatják, hogy

A traumás agysérülés szignifikánsan és jelentősen csökkenti a középső agyi artériák áramlás indukálta konstrikióját.

A csökkent konstrikióért felelős patomechanizmus magába foglalja, azt, hogy a citokróm P450 4A csökkent mértékben képes az arachidonsavból konstriktor prosztaglandinokat szintetizálni, és a már kialakult 20-HETE a sérült thromboxán/prosztanoid (TP) receptorokon keresztül csökkent konstrikiót hoz létre.

Összességében, a jelenlegi és a korábbi kutatások alapot nyújtanak az agyi véráramlás autoregulációs szabályozásának károsodásához és a vér-agy gát ebből eredő sérüléséhez, a mikro-érzések fejlődéséhez és az ödémához, valamint az agytraumát követő mentális működési zavarok magyarázatához.

Úgy gondoljuk, hogy a TBI elsősorban a CYP450 4A működésébe avatkozik be, ezáltal a konstriktor prosztaglandinok termelésére és a TP receptorok érzékenységére gyakorol hatást, amelyek jelentősen csökkentik az áramlás által indukált konstriktor választ. A jelenlegi és korábbi kutatások eredményei [164] alapján úgy véljük, hogy a nyomás és az áramlás által kiváltott konstriktor mechanizmusok károsodása jelentősen hozzájárulhat az agyi véráramlás traumás agysérülés utáni autoregulációjának diszfunkciójához.

Ezeknek a mechanizmusoknak az újonnan kifejlesztett farmakológiai terápiákkal történő kezelése a traumás agysérülés okozta agyi érrendszeri és agyi károsodások enyhítéséhez vezethet.

7. ÖSSZEFOGLALÁS, SUMMARY

A traumás agysérülés (TBI) világszerte gyakran előforduló megbetegedés, amely magas morbiditású és akár halálhoz is vezethet. Kísérleteink során arra következtettünk, hogy a TBI károsít egy autoregulációs mechanizmust, nevezetesen az izolált patkány agyi középső artériák (MCA) áramlás által indukált konstriktóriumát.

A traumás agysérülést altatott patkányokon a Marmarou féle súlyejtéses modell segítségével idéztük elő, majd az MCA-kat izoláltuk és nyomás-áramlásos kamrába helyeztük. A belső átmérőt videomikroszkóppal mértük.

Az Intakt, egészséges patkányok MCA-jaiban a nyomás és az áramlás valamint ezek együttese az ér konstriktóriumát váltotta ki ($-26 \pm 1,9 \mu\text{m}$ és $-52 \pm 2,8 \mu\text{m}$, $p < 0,05$).

Ez az ér reakció jelentősen lecsökkent a TBI után, és a prosztanoid (TP receptor) antagonistá SQ 29,548 valamint a thromboxán jelenlétében. Az áramlás okozta konstriktóriumot jelentősen csökkentette a HET0016, a citokróm P450 4A (CYP450 4A) inhibitora. Az arachidonsav (AA, 10^{-7} M) és a CYP-450 4A metabolit 20-hidroxi-eikozetetraénsav (20-HETE) kiváltotta az intakt MCA konstriktóriumát ($-26 \pm 2,3\%$ és $-31 \pm 3,6\%$), amelyek szintén jelentősen csökkentek TBI után ($11 \pm 1,3\%$ -ra és $-16 \pm 2,5\%$ -ra). Az U46619 (10^{-7} M) TP receptor agonista lényeges MCA konstriktóriumot váltott ki ép, egészséges patkányoknál ($-21 \pm 3,3\%$), amelyek szintén szignifikánsan csökkentek a traumás agysérülés után ($-16 \pm 2,4\%$ -ra).

Az MCA áramlás indukálta konstriktor reakcióját a traumás agysérülés rontja, amely valószínűleg annak köszönhető, hogy a citokróm P450 4A képes csökkenteni az arachidonsavat, és a konstriktor prosztaglandinokat. A thromboxán-prosztanoid TP receptorok érzékenysége pedig csökkent mértékű lesz.

Az új eredmények és megállapítások összefoglalása:

A traumás agysérülés rontja a középső agyi artéria (MCA) áramlás által indukált konstriktor reakcióját, ami valószínűleg a TBI CYP450 4A működés sérülése miatt jön létre. Ugyanakkor a konstriktor prosztaglandinok a TP receptorok csökkent érzékenysége miatt, jelentősen csökken az áramlás által indukált konstriktor válasz.

Eredményeink szerint:

Traumás agysérülés után az izolált középső agyi artériában (MCA)-ban:

1. Csökkent a nyomás-indukálta miogén tónus
2. Csökkent az intraluminális áramlás okozta konstriktió
3. Csökkent az arachidonsav (AA) okozta dilatáció és konstriktió
4. Csökkent a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE) által kiváltott konstriktió mértéke
5. Csökkent a thromboxán-prosztanoid TP receptorok érzékenysége a stabil prosztanoid analógra (U46619).

SUMMARY

Abstract: (1) Background: Traumatic brain injury (TBI) frequently occurs worldwide, resulting in high morbidity and mortality. Here, we hypothesized that TBI impairs an autoregulatory mechanism, namely the flow-induced constriction of isolated rat middle cerebral arteries (MCAs).

(2) Methods: TBI was induced in anaesthetized rats by weight drop model, and then MCAs were isolated and transferred into a pressure-flow chamber. The internal diameter was measured by a video-microscopy.

(3) Results: In MCAs from intact rats, increases in flow and pressure + flow elicited constrictions ($-26 \pm 1.9 \mu\text{m}$ and $-52 \pm 2.8 \mu\text{m}$, $p < 0.05$, which were significantly reduced after TBI or in the presence of thromboxane-prostanoid (TP receptor) antagonist SQ 29,548. Flow-induced constrictions were significantly reduced by HET0016, inhibitor of cytochrome P450 4A (CYP450 4A). Arachidonic acid, (AA, 10^{-7} M), and CYP450 4A metabolite 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) elicited constrictions of intact MCA ($-26 \pm 2.3\%$ and $-31 \pm 3.6\%$), which were significantly reduced after TBI (to $11 \pm 1.3\%$ and $-16 \pm 2.5\%$). The TP receptor agonist U46619 (10^{-7} M) elicited substantial constrictions of MCA from intact rats ($-21 \pm 3.3\%$), which were also significantly reduced, after TBI (to $-16 \pm 2.4\%$).

(4) Conclusions: Flow-induced constrictor response of MCA is significantly and substantially impaired by traumatic brain injury, likely due to the reduced ability of cytochrome P450 4A to convert arachidonic acid to constrictor prostaglandins and the mitigated sensitivity of thromboxane-prostanoid receptors.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Kontos, H.A. (1981) Regulation of the cerebral circulation. *Annu Rev Physiol*, 43: 397-407
2. Lassen, N.A. (1959) Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev*, 39: 183-238
3. Ito, H., I. Kanno, C. Kato, T. Sasaki, K. Ishii, Y. Ouchi, A. Iida, H. Okazawa, K. Hayashida, N. Tsuyuguchi, K. Ishii, Y. Kuwabara, M. Senda (2004) Database of normal human cerebral blood flow, cerebral blood volume, cerebral oxygen extraction fraction and cerebral metabolic rate of oxygen measured by positron emission tomography with ¹⁵O-labelled carbon dioxide or water, carbon monoxide and oxygen: a multicentre study in Japan. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 31: 635-643
4. Hall, J.E.H.M.E., *Textbook of medical physiology*. English : 11th., PA, Elsevier, Philadelphia, 2006: 478-486.
5. Sándor P, Benyo Z, *Az agyi vérkeringés élettani alapjai: Önszabályozó mechanizmusok*, Semmelweis Kiadó, Budapest, 2016: 17-27.
6. McHedlishvili, G.I., N.P. Mitagvaria, L.G. Ormotsadze (1973) Vascular mechanisms controlling a constant blood supply to the brain ("autoregulation"). *Stroke*, 4: 742-750
7. Kontos, H.A., E.P. Wei, R.M. Navari, J.E. Levasseur, W.I. Rosenblum, J.L. Patterson, Jr. (1978) Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *Am J Physiol*, 234: H371-383
8. Faraci, F.M. and D.D. Heistad (1990) Regulation of large cerebral arteries and cerebral microvascular pressure. *Circ Res*, 66: 8-17
9. Harper, S.L., H.G. Bohlen, M.J. Rubin (1984) Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats. *Am J Physiol*, 246: H17-24

10. Stromberg, D.D. and J.R. Fox (1972) Pressures in the pial arterial microcirculation of the cat during changes in systemic arterial blood pressure. *Circ Res*, 31: 229-239
11. Standring, S., *Gray's anatomy : the anatomical basis of clinical practice*. Elsevier Limited, Philadelphia, 2016: 280-283.
12. Mokri, B. (2001) The Monro-Kellie hypothesis: applications in CSF volume depletion. *Neurology*, 56: 1746-1748
13. Wilson, M.H. (2016) Monro-Kellie 2.0: The dynamic vascular and venous pathophysiological components of intracranial pressure. *J Cereb Blood Flow Metab*, 36: 1338-1350
14. Kellie, G. (1824) An Account of the Appearances Observed in the Dissection of Two of Three Individuals Presumed to Have Perished in the Storm of the 3d, and Whose Bodies Were Discovered in the Vicinity of Leith on the Morning of the 4th, November 1821; with Some Reflections on the Pathology of the Brain: Part I. *Trans Med Chir Soc Edinb*, 1: 84-122
15. Neff, S. and R.P. Subramaniam (1996) Monro-Kellie doctrine. *J Neurosurg*, 85: 1195
16. Macintyre, I. (2014) A hotbed of medical innovation: George Kellie (1770-1829), his colleagues at Leith and the Monro-Kellie doctrine. *J Med Biogr*, 22: 93-100
17. Ingvar, D.H. (1961) Quantitative measurement of regional metabolism, pO₂, and pCO₂ in the cerebral cortex. *Neurology*, 11(4)Pt 2: 68-71
18. Lambertsen, C.J., S.J. Semple, M.G. Smyth, R. Gelfand (1961) H and pCO₂ as chemical factors in respiratory and cerebral circulatory control. *J Appl Physiol*, 16: 473-484
19. Kontos, H.A., A.J. Raper, J.L. Patterson (1977) Analysis of vasoactivity of local pH, PCO₂ and bicarbonate on pial vessels. *Stroke*, 8: 358-360

20. Sandor, P., K. Komjati, M. Reivich, I. Nyary (1994) Major role of nitric oxide in the mediation of regional CO₂ responsiveness of the cerebral and spinal cord vessels of the cat. *J Cereb Blood Flow Metab*, 14: 49-58
21. Battisti-Charbonney, A., J. Fisher, J. Duffin (2011) The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *J Physiol*, 589: 3039-3048
22. Moir, M.E., T.D. Vermeulen, S.O. Smith, E. Woehrle, B.J. Matuszewski, M. Zamir, J.K. Shoemaker (2021) Vasodilatation by carbon dioxide and sodium nitroglycerin reduces compliance of the cerebral arteries in humans. *Exp Physiol*, 106: 1679-1688
23. Reivich, M. (1964) Arterial pCO₂ and cerebral hemodynamics. *Am J Physiol*, 206: 25-35
24. Golanov, E.V., J.R. Christensen, D.J. Reis (2001) Neurons of a limited subthalamic area mediate elevations in cortical cerebral blood flow evoked by hypoxia and excitation of neurons of the rostral ventrolateral medulla. *J Neurosci*, 21: 4032-4041
25. Bari, F., C.R. Thore, T.M. Louis, D.W. Busija (1998) Inhibitory effects of hypoxia and adenosine on N-methyl-D-aspartate-induced pial arteriolar dilation in piglets. *Brain Res*, 780: 237-244
26. Bari, F., T.M. Louis, D.W. Busija (1998) Effects of ischemia on cerebral arteriolar dilation to arterial hypoxia in piglets. *Stroke*, 29: 222-227; discussion 227-228
27. Erdmann, A.A., Z.G. Gao, U. Jung, J. Foley, T. Borenstein, K.A. Jacobson, D.H. Fowler (2005) Activation of Th1 and Tc1 cell adenosine A_{2A} receptors directly inhibits IL-2 secretion in vitro and IL-2-driven expansion in vivo. *Blood*, 105: 4707-4714
28. Del Zoppo, G.J., R. Milner, T. Mabuchi, S. Hung, X. Wang, J.A. Koziol (2006) Vascular matrix adhesion and the blood-brain barrier. *Biochem Soc Trans*, 34: 1261-1266

29. Dirnagl, U. (1997) Metabolic aspects of neurovascular coupling. *Adv Exp Med Biol*, 413: 155-159
30. Parri, R. and V. Crunelli (2003) An astrocyte bridge from synapse to blood flow. *Nat Neurosci*, 6: 5-6
31. Golding, E.M., S.P. Marrelli, J. You, R.M. Bryan, Jr. (2002) Endothelium-derived hyperpolarizing factor in the brain: a new regulator of cerebral blood flow? *Stroke*, 33: 661-663
32. Furchgott, R.F. and P.M. Vanhoutte (1989) Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Faseb j*, 3: 2007-2018
33. Dessy, P., E. Uslenghi, C. Gagna, G. Accatino, C. Betti (1966) [Action of bradykinin on general and regional hemodynamics. Cerebral circulation]. *Minerva Med*, 57: 3555-3557
34. Bausback, H.H. and P.E. Ward (1988) Kallidin and bradykinin metabolism by isolated cerebral microvessels. *Biochem Pharmacol*, 37: 2973-2978
35. Wong, M.S. and P.M. Vanhoutte (2010) COX-mediated endothelium-dependent contractions: from the past to recent discoveries. *Acta Pharmacol Sin*, 31: 1095-1102
36. Edwards, R. and W. Trizna (1990) Response of isolated intracerebral arterioles to endothelins. *Pharmacology*, 41: 149-152
37. Busija, D.W., D.D. Heistad, M.L. Marcus (1980) Effects of sympathetic nerves on cerebral vessels during acute, moderate increases in arterial pressure in dogs and cats. *Circ Res*, 46: 696-702
38. James, I.M., R.A. Millar, M.J. Purves (1969) Observations on the extrinsic neural control of cerebral blood flow in the baboon. *Circ Res*, 25: 77-93

39. Cipolla, M.J., N.I. Gokina, G. Osol (2002) Pressure-induced actin polymerization in vascular smooth muscle as a mechanism underlying myogenic behavior. *FASEB J*, 16: 72-76
40. Cipolla, M.J., *Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function*, in *The Cerebral Circulation*. Morgan & Claypool Life Sciences
Copyright © 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences., San Rafael (CA), 2009.
41. Chennupati, R., A. Wirth, J. Favre, R. Li, R. Bonnavion, Y.J. Jin, A. Wietelmann, F. Schweda, N. Wettschureck, D. Henrion, S. Offermanns (2019) Myogenic vasoconstriction requires G(12)/G(13) and LARG to maintain local and systemic vascular resistance. *Elife*, 8
42. Mandalà, M., A.L. Pedatella, S. Morales Palomares, M.J. Cipolla, G. Osol (2012) Maturation is associated with changes in rat cerebral artery structure, biomechanical properties and tone. *Acta Physiol (Oxf)*, 205: 363-371
43. Osol, G., J.F. Brekke, K. McElroy-Yaggy, N.I. Gokina (2002) Myogenic tone, reactivity, and forced dilatation: a three-phase model of in vitro arterial myogenic behavior. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283: H2260-2267
44. Koller, A. and P. Toth (2012) Contribution of flow-dependent vasomotor mechanisms to the autoregulation of cerebral blood flow. *J Vasc Res*, 49: 375-389
45. Toth, P., N. Szarka, E. Farkas, E. Ezer, E. Czeiter, K. Amrein, Z. Ungvari, J.A. Hartings, A. Buki, A. Koller (2016) Traumatic brain injury-induced autoregulatory dysfunction and spreading depression-related neurovascular uncoupling: Pathomechanisms, perspectives, and therapeutic implications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 311: H1118-h1131
46. Gebremedhin, D., A.R. Lange, T.F. Lowry, M.R. Taheri, E.K. Birks, A.G. Hudetz, J. Narayanan, J.R. Falck, H. Okamoto, R.J. Roman, K. Nithipatikom, W.B. Campbell, D.R. Harder (2000) Production of 20-HETE and its role in autoregulation of cerebral blood flow. *Circ Res*, 87: 60-65

47. Henrion, D. (2005) Pressure and flow-dependent tone in resistance arteries. Role of myogenic tone. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 98: 913-921
48. Jukic, I., Z. Mihaljevic, A. Matic, M. Mihalj, N. Kozina, K. Selthofer-Relatic, D. Mihaljevic, A. Koller, I. Tartaro Bujak, I. Drenjancevic (2021) Angiotensin II type 1 receptor is involved in flow-induced vasomotor responses of isolated middle cerebral arteries: role of oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 320: H1609-h1624
49. Rosenblum, W.I. (1995) Autoregulatory plateau: does it exist? *J Cereb Blood Flow Metab*, 15: 174-177
50. Lucas, S.J., Y.C. Tzeng, S.D. Galvin, K.N. Thomas, S. Ogoh, P.N. Ainslie (2010) Influence of changes in blood pressure on cerebral perfusion and oxygenation. *Hypertension*, 55: 698-705
51. Harder, D.R., J. Narayanan, D. Gebremedhin (2011) Pressure-induced myogenic tone and role of 20-HETE in mediating autoregulation of cerebral blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 300: H1557-1565
52. Nemeth, Z., E. Hildebrandt, M.J. Ryan, J.P. Granger, H.A. Drummond (2020) Pressure-induced constriction of the middle cerebral artery is abolished in TrpC6 knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 319: H42-h50
53. Harper, A.M. (1966) Autoregulation of cerebral blood flow: influence of the arterial blood pressure on the blood flow through the cerebral cortex. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 29: 398-403
54. Lassen, N.A. (1974) Control of cerebral circulation in health and disease. *Circ Res*, 34: 749-760
55. Faraci, F.M., G.L. Baumbach, D.D. Heistad (1989) Myogenic mechanisms in the cerebral circulation. *J Hypertens Suppl*, 7: S61-64; discussion S65

56. Iadecola, C., G. Yang, T.J. Ebner, G. Chen (1997) Local and propagated vascular responses evoked by focal synaptic activity in cerebellar cortex. *J Neurophysiol*, 78: 651-659
57. Osol, G. and W. Halpern (1985) Myogenic properties of cerebral blood vessels from normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol*, 249: H914-921
58. Toth, P., B. Rozsa, Z. Springo, T. Doczi, A. Koller (2011) Isolated human and rat cerebral arteries constrict to increases in flow: role of 20-HETE and TP receptors. *J Cereb Blood Flow Metab*, 31: 2096-2105
59. Wallis, S.J., J. Firth, W.R. Dunn (1996) Pressure-induced myogenic responses in human isolated cerebral resistance arteries. *Stroke*, 27: 2287-2290; discussion 2291
60. Czigler, A., L. Toth, N. Szarka, K. Szilágyi, Z. Kellermayer, A. Harci, M. Vecsernyes, Z. Ungvari, A. Szolics, A. Koller, A. Buki, P. Toth (2020) Prostaglandin E₂ a postulated mediator of neurovascular coupling, at low concentrations dilates whereas at higher concentrations constricts human cerebral parenchymal arterioles. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 146: 106389
61. Pohl, U., K. Herlan, A. Huang, E. Bassenge (1991) EDRF-mediated shear-induced dilation opposes myogenic vasoconstriction in small rabbit arteries. *Am J Physiol*, 261: H2016-2023
62. Pohl, U. and C. de Wit (1999) A Unique Role of NO in the Control of Blood Flow. *News Physiol Sci*, 14: 74-80
63. Sun, D., A. Huang, A. Koller, G. Kaley (1995) Flow-dependent dilation and myogenic constriction interact to establish the resistance of skeletal muscle arterioles. *Microcirculation*, 2: 289-295
64. Ungvari, Z. and A. Koller (2001) Selected contribution: NO released to flow reduces myogenic tone of skeletal muscle arterioles by decreasing smooth muscle Ca²⁺ sensitivity. *J Appl Physiol* (1985), 91: 522-527; discussion 504-525

65. Ayata, C., A.K. Dunn, O.Y. Gursoy, Z. Huang, D.A. Boas, M.A. Moskowitz (2004) Laser speckle flowmetry for the study of cerebrovascular physiology in normal and ischemic mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*, 24: 744-755
66. Bayliss, W.M. (1902) On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol*, 28: 220-231
67. Bellapart, J. and J.F. Fraser (2009) Transcranial Doppler assessment of cerebral autoregulation. *Ultrasound Med Biol*, 35: 883-893
68. Lunn, V. and M. Fog (1939) THE REACTION OF THE PIAL ARTERIES TO SOME CHOLIN-LIKE AND ADRENALIN-LIKE SUBSTANCES. *J Neurol Psychiatry*, 2: 223-230
69. MacKenzie, E.T., S. Strandgaard, D.I. Graham, J.V. Jones, A.M. Harper, J.K. Farrar (1976) Effects of acutely induced hypertension in cats on pial arteriolar caliber, local cerebral blood flow, and the blood-brain barrier. *Circ Res*, 39: 33-41
70. MacKenzie, E.T., J.K. Farrar, W. Fitch, D.I. Graham, P.C. Gregory, A.M. Harper (1979) Effects of hemorrhagic hypotension on the cerebral circulation. I. Cerebral blood flow and pial arteriolar caliber. *Stroke*, 10: 711-718
71. Magun, J.G. (1973) The effect of pharmacologically increased blood pressure on brain circulation. Angiographic investigation of arterial diameter and blood flow in patients with normal and pathological angiograms. *Z Neurol*, 204: 107-134
72. Mueller, S.M., D.D. Heistad, M.L. Marcus (1977) Total and regional cerebral blood flow during hypotension, hypertension, and hypocapnia. Effect of sympathetic denervation in dogs. *Circ Res*, 41: 350-356
73. Zaharchuk, G., J.B. Mandeville, A.A. Bogdanov, Jr., R. Weissleder, B.R. Rosen, J.J. Marota (1999) Cerebrovascular dynamics of autoregulation and hypoperfusion. An MRI study of CBF and changes in total and microvascular cerebral blood volume during hemorrhagic hypotension. *Stroke*, 30: 2197-2204; discussion 2204-2195

74. Baumbach, G.L. and D.D. Heistad (1985) Regional, segmental, and temporal heterogeneity of cerebral vascular autoregulation. *Ann Biomed Eng*, 13: 303-310
75. Baumbach, G.L. and D.D. Heistad (1985) Heterogeneity of brain blood flow and permeability during acute hypertension. *Am J Physiol*, 249: H629-637
76. Rozet, I., M.S. Vavilala, A.M. Lindley, E. Visco, M. Treggiari, A.M. Lam (2006) Cerebral autoregulation and CO₂ reactivity in anterior and posterior cerebral circulation during sevoflurane anesthesia. *Anesth Analg*, 102: 560-564
77. Willie, C.K., F.L. Colino, D.M. Bailey, Y.C. Tzeng, G. Binsted, L.W. Jones, M.J. Haykowsky, J. Bellapart, S. Ogoh, K.J. Smith, J.D. Smirl, T.A. Day, S.J. Lucas, L.K. Eller, P.N. Ainslie (2011) Utility of transcranial Doppler ultrasound for the integrative assessment of cerebrovascular function. *J Neurosci Methods*, 196: 221-237
78. Attwell, D., A.M. Buchan, S. Charpak, M. Lauritzen, B.A. Macvicar, E.A. Newman (2010) Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature*, 468: 232-243
79. Betz, E. (1972) Cerebral blood flow: its measurement and regulation. *Physiol Rev*, 52: 595-630
80. Harder, D.R., D. Gebremedhin, J. Narayanan, C. Jefcoat, J.R. Falck, W.B. Campbell, R. Roman (1994) Formation and action of a P-450 4A metabolite of arachidonic acid in cat cerebral microvessels. *Am J Physiol*, 266: H2098-2107
81. McHedlishvili, G. (1980) Physiological mechanisms controlling cerebral blood flow. *Stroke*, 11: 240-248
82. van Beek, A.H., J.A. Claassen, M.G. Rikkert, R.W. Jansen (2008) Cerebral autoregulation: an overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. *J Cereb Blood Flow Metab*, 28: 1071-1085

83. Rosenblum, W.I., T. Shimizu, G.H. Nelson (1993) Endothelium-dependent effects of substance P and calcitonin gene-related peptide on mouse pial arterioles. *Stroke*, 24: 1043-1047; discussion 1047-1048
84. Rosenblum, W.I., E.P. Wei, H.A. Kontos (2002) Dilation of rat brain arterioles by hypercapnia in vivo can occur even after blockade of guanylate cyclase by ODQ. *Eur J Pharmacol*, 448: 201-206
85. Kovách, A.G., E. Dóra, S. Szedlacsek, A. Koller (1983) Effect of the organic calcium antagonist D-600 on cerebrocortical vascular and redox responses evoked by adenosine, anoxia, and epilepsy. *J Cereb Blood Flow Metab*, 3: 51-61
86. Menyhart, A., P. Makra, B.E. Szepes, O.M. Toth, P. Hertelendy, F. Bari, E. Farkas (2015) High incidence of adverse cerebral blood flow responses to spreading depolarization in the aged ischemic rat brain. *Neurobiol Aging*, 36: 3269-3277
87. Lapi, D., R. Scuri, A. Colantuoni (2016) Trigeminal Cardiac Reflex and Cerebral Blood Flow Regulation. *Front Neurosci*, 10: 470
88. Dóra, E., A. Koller, A.G. Kovách (1984) Effect of topical adenosine deaminase treatment on the functional hyperemic and hypoxic responses of cerebrocortical microcirculation. *J Cereb Blood Flow Metab*, 4: 447-457
89. Martin, S.A., A.R. Brash, R.C. Murphy (2016) The discovery and early structural studies of arachidonic acid. *J Lipid Res*, 57: 1126-1132
90. Sehgal, V., Z. Delproposto, E.M. Haacke, K.A. Tong, N. Wycliffe, D.K. Kido, Y. Xu, J. Neelavalli, D. Haddar, J.R. Reichenbach (2005) Clinical applications of neuroimaging with susceptibility-weighted imaging. *J Magn Reson Imaging*, 22: 439-450
91. Wang, B., L. Wu, J. Chen, L. Dong, C. Chen, Z. Wen, J. Hu, I. Fleming, D.W. Wang (2021) Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 6: 94

92. Dubois, R.N., S.B. Abramson, L. Crofford, R.A. Gupta, L.S. Simon, L.B. Van De Putte, P.E. Lipsky (1998) Cyclooxygenase in biology and disease. *Faseb j*, 12: 1063-1073
93. Samuelsson, B. (1979) Prostaglandins, thromboxanes, and leukotrienes: formation and biological roles. *Harvey Lect*, 75: 1-40
94. Capdevila, J., L.J. Marnett, N. Chacos, R.A. Prough, R.W. Estabrook (1982) Cytochrome P-450-dependent oxygenation of arachidonic acid to hydroxyicosatetraenoic acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79: 767-770
95. Tsai, M.J., W.A. Chang, P.H. Tsai, C.Y. Wu, Y.W. Ho, M.C. Yen, Y.S. Lin, P.L. Kuo, Y.L. Hsu (2017) Montelukast Induces Apoptosis-Inducing Factor-Mediated Cell Death of Lung Cancer Cells. *Int J Mol Sci*, 18
96. Campbell, W.B., D. Gebremedhin, P.F. Pratt, D.R. Harder (1996) Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*, 78: 415-423
97. Zeldin, D.C. (2001) Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism. *J Biol Chem*, 276: 36059-36062
98. Xu, X., X.A. Zhang, D.W. Wang (2011) The roles of CYP450 epoxygenases and metabolites, epoxyeicosatrienoic acids, in cardiovascular and malignant diseases. *Adv Drug Deliv Rev*, 63: 597-609
99. Imig, J.D. (2018) Prospective for cytochrome P450 epoxygenase cardiovascular and renal therapeutics. *Pharmacol Ther*, 192: 1-19
100. Panigrahy, D., E.R. Greene, A. Pozzi, D.W. Wang, D.C. Zeldin (2011) EET signaling in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 30: 525-540
101. Narumiya, S. and G.A. FitzGerald (2001) Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J Clin Invest*, 108: 25-30

102. Breyer, R.M., C.K. Bagdassarian, S.A. Myers, M.D. Breyer (2001) Prostanoid receptors: subtypes and signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41: 661-690
103. O'Callaghan, G. and A. Houston (2015) Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? *Br J Pharmacol*, 172: 5239-5250
104. Coleman, R.A., W.L. Smith, S. Narumiya (1994) International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev*, 46: 205-229
105. Jones, R.L., M.A. Giembycz, D.F. Woodward (2009) Prostanoid receptor antagonists: development strategies and therapeutic applications. *Br J Pharmacol*, 158: 104-145
106. Ohkubo, S., N. Nakahata, Y. Ohizumi (1996) Thromboxane A2-mediated shape change: independent of Gq-phospholipase C--Ca²⁺ pathway in rabbit platelets. *Br J Pharmacol*, 117: 1095-1104
107. Armstrong, R.A., P.P. Humphrey, P. Lumley (1993) Characteristics of the binding of [3H]-GR32191 to the thromboxane (TP-) receptor of human platelets. *Br J Pharmacol*, 110: 539-547
108. Lacza, Z., L. Hortobágyi, B. Horváth, E.M. Horváth, P. Sándor, Z. Benyo (2009) Additive effect of cyclooxygenase and nitric oxide synthase blockade on the cerebrocortical microcirculation. *Neuroreport*, 20: 1027-1031
109. Benyó, Z., C. Görlach, M. Wahl (1998) Involvement of thromboxane A2 in the mediation of the contractile effect induced by inhibition of nitric oxide synthesis in isolated rat middle cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab*, 18: 616-618
110. Garcia-Roldan, J.L. and J.A. Bevan (1990) Flow-induced constriction and dilation of cerebral resistance arteries. *Circ Res*, 66: 1445-1448
111. Keller, J., M. Mandala, P. Casson, G. Osol (2011) Endothelial dysfunction in a rat model of PCOS: evidence of increased vasoconstrictor prostanoid activity. *Endocrinology*, 152: 4927-4936

112. Shekhar, S., R. Liu, O.K. Travis, R.J. Roman, F. Fan (2017) Cerebral Autoregulation in Hypertension and Ischemic Stroke: A Mini Review. *J Pharm Sci Exp Pharmacol*, 2017: 21-27
113. Ungvari, Z., P. Pacher, V. Kecskeméti, A. Koller (1999) Fluoxetine dilates isolated small cerebral arteries of rats and attenuates constrictions to serotonin, norepinephrine, and a voltage-dependent Ca(2+) channel opener. *Stroke*, 30: 1949-1954
114. Langlois, J.A. and R.W. Sattin (2005) Traumatic brain injury in the United States: research and programs of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *J Head Trauma Rehabil*, 20: 187-188
115. Roman, R.J. (2002) P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*, 82: 131-185
116. Roozenbeek, B., A.I. Maas, D.K. Menon (2013) Changing patterns in the epidemiology of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol*, 9: 231-236
117. Szarka, N., M.R. Pabbidi, K. Amrein, E. Czeiter, G. Berta, K. Pohoczky, Z. Helyes, Z. Ungvari, A. Koller, A. Buki, P. Toth (2018) Traumatic Brain Injury Impairs Myogenic Constriction of Cerebral Arteries: Role of Mitochondria-Derived H₂O₂ and TRPV4-Dependent Activation of BK_(ca) Channels. *J Neurotrauma*, 35: 930-939
118. Bosetti, F. (2007) Arachidonic acid metabolism in brain physiology and pathology: lessons from genetically altered mouse models. *J Neurochem*, 102: 577-586
119. Ellis, E.F., A.S. Nies, J.A. Oates (1977) Cerebral arterial smooth muscle contraction by thromboxane A₂. *Stroke*, 8: 480-483
120. Dunn, K.M., M. Renic, A.K. Flasch, D.R. Harder, J. Falck, R.J. Roman (2008) Elevated production of 20-HETE in the cerebral vasculature contributes to severity of ischemic stroke and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 295: H2455-2465

121. Madden, J.A. and N.J. Christman (1999) Integrin signaling, free radicals, and tyrosine kinase mediate flow constriction in isolated cerebral arteries. *Am J Physiol*, 277: H2264-2271
122. Terashvili, M., P.F. Pratt, D. Gebremedhin, J. Narayanan, D.R. Harder (2006) Reactive oxygen species cerebral autoregulation in health and disease. *Pediatr Clin North Am*, 53: 1029-1037, xi
123. Bryan, R.M., Jr., M.L. Steenberg, S.P. Marrelli (2001) Role of endothelium in shear stress-induced constrictions in rat middle cerebral artery. *Stroke*, 32: 1394-1400
124. Harder, D.R., A.R. Lange, D. Gebremedhin, E.K. Birks, R.J. Roman (1997) Cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid as intracellular signaling molecules in vascular tissue. *J Vasc Res*, 34: 237-243
125. Zou, A.P., J.T. Fleming, J.R. Falck, E.R. Jacobs, D. Gebremedhin, D.R. Harder, R.J. Roman (1996) 20-HETE is an endogenous inhibitor of the large-conductance Ca(2+)-activated K⁺ channel in renal arterioles. *Am J Physiol*, 270: R228-237
126. Johnson, M.B., L. Mechtler, B. Ali, D. Swedler, T. Kelley-Baker (2021) Cannabis and crash risk among older drivers. *Accid Anal Prev*, 152: 105987
127. Langlois, J.A., W. Rutland-Brown, M.M. Wald (2006) The epidemiology and impact of traumatic brain injury: a brief overview. *J Head Trauma Rehabil*, 21: 375-378
128. Büki A, Tamás V, Kovács N. Sport és az agysérülés jegyzet. Sporttudományi képzés fejlesztése a dunántúlon 2015.” című pályázat TÁMOP-4.1.2.E-15/1/KONV-2015-0003, Pécs 2015: 2-10.
129. Compagnone, C., D. d'Avella, F. Servadei, F.F. Angileri, G. Brambilla, C. Conti, L. Cristofori, R. Delfini, L. Denaro, A. Ducati, S.M. Gaini, R. Stefani, G. Tomei, F. Tagliaferri, G. Trincia, F. Tomasello (2009) Patients with moderate head injury:

- a prospective multicenter study of 315 patients. *Neurosurgery*, 64: 690-696; discussion 696-697
130. Gean, A.D., R.S. Kates, S. Lee (1995) Neuroimaging in head injury. *New Horiz*, 3: 549-561
 131. Le, T.H. and A.D. Gean (2009) Neuroimaging of traumatic brain injury. *Mt Sinai J Med*, 76: 145-162
 132. Levy, M.L., A.S. Kasasbeh, L.C. Baird, C. Amene, J. Skeen, L. Marshall (2012) Concussions in soccer: a current understanding. *World Neurosurg*, 78: 535-544
 133. Ulleberg, P. (2001) Personality subtypes of young drivers. Relationship to risk-taking preferences, accident involvement, and response to a traffic safety campaign. *Transportation Research Part F-traffic Psychology and Behaviour - TRANSPORT RES PT F-TRAFFIC PSYCH*, 4: 279-297
 134. Graham, D.I., T.K. McIntosh, W.L. Maxwell, J.A. Nicoll (2000) Recent advances in neurotrauma. *J Neuropathol Exp Neurol*, 59: 641-651
 135. Morales, D.M., N. Marklund, D. Lebold, H.J. Thompson, A. Pitkanen, W.L. Maxwell, L. Longhi, H. Laurer, M. Maegele, E. Neugebauer, D.I. Graham, N. Stocchetti, T.K. McIntosh (2005) Experimental models of traumatic brain injury: do we really need to build a better mousetrap? *Neuroscience*, 136: 971-989
 136. Rimel, R.W., B. Giordani, J.T. Barth, J.A. Jane (1982) Moderate head injury: completing the clinical spectrum of brain trauma. *Neurosurgery*, 11: 344-351
 137. Coronado, V.G., L. Xu, S.V. Basavaraju, L.C. McGuire, M.M. Wald, M.D. Faul, B.R. Guzman, J.D. Hemphill (2011) Surveillance for traumatic brain injury-related deaths--United States, 1997-2007. *MMWR Surveill Summ*, 60: 1-32
 138. Szarka, N., L. Toth, A. Czigler, Z. Kellermayer, Z. Ungvari, K. Amrein, E. Czeiter, Z.K. Bali, S.A. Tadepalli, M. Wahr, I. Hernadi, A. Koller, A. Buki, P. Toth (2019) Single Mild Traumatic Brain Injury Induces Persistent Disruption of

- the Blood-Brain Barrier, Neuroinflammation and Cognitive Decline in Hypertensive Rats. *Int J Mol Sci*, 20
139. Szarka, N., K. Amrein, P. Horvath, I. Ivic, E. Czeiter, A. Buki, A. Koller, P. Toth (2017) Hypertension-Induced Enhanced Myogenic Constriction of Cerebral Arteries Is Preserved after Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma*, 34: 2315-2319
 140. Czosnyka, M., P. Smielewski, P. Kirkpatrick, D.K. Menon, J.D. Pickard (1996) Monitoring of cerebral autoregulation in head-injured patients. *Stroke*, 27: 1829-1834
 141. Czosnyka, M., P. Smielewski, S. Piechnik, L.A. Steiner, J.D. Pickard (2001) Cerebral autoregulation following head injury. *J Neurosurg*, 95: 756-763
 142. Toth, P., Z. Tucsek, D. Sosnowska, T. Gautam, M. Mitschelen, S. Tarantini, F. Deak, A. Koller, W.E. Sonntag, A. Csiszar, Z. Ungvari (2013) Age-related autoregulatory dysfunction and cerebrovascular injury in mice with angiotensin II-induced hypertension. *J Cereb Blood Flow Metab*, 33: 1732-1742
 143. Marklund, N., F. Clausen, T. Lewander, L. Hillered (2001) Monitoring of reactive oxygen species production after traumatic brain injury in rats with microdialysis and the 4-hydroxybenzoic acid trapping method. *J Neurotrauma*, 18: 1217-1227
 144. Schreibelt, G., G. Kooij, A. Reijerkerk, R. van Doorn, S.I. Gringhuis, S. van der Pol, B.B. Weksler, I.A. Romero, P.O. Couraud, J. Piontek, I.E. Blasig, C.D. Dijkstra, E. Ronken, H.E. de Vries (2007) Reactive oxygen species alter brain endothelial tight junction dynamics via RhoA, PI3 kinase, and PKB signaling. *Faseb j*, 21: 3666-3676
 145. Holland, M., P.D. Langton, N.B. Standen, J.P. Boyle (1996) Effects of the BKCa channel activator, NS1619, on rat cerebral artery smooth muscle. *Br J Pharmacol*, 117: 119-129
 146. Brian, J.E., Jr., F.M. Faraci, D.D. Heistad (1996) Recent insights into the regulation of cerebral circulation. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 23: 449-457

147. Suresh, K., L. Servinsky, J. Reyes, S. Baksh, C. Udem, M. Caterina, D.B. Pearce, L.A. Shimoda (2015) Hydrogen peroxide-induced calcium influx in lung microvascular endothelial cells involves TRPV4. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 309: L1467-1477
148. Li, W., L. Watts, J. Long, W. Zhou, Q. Shen, Z. Jiang, Y. Li, T.Q. Duong (2016) Spatiotemporal changes in blood-brain barrier permeability, cerebral blood flow, T2 and diffusion following mild traumatic brain injury. *Brain Res*, 1646: 53-61
149. Johnson, V.E., M.T. Weber, R. Xiao, D.K. Cullen, D.F. Meaney, W. Stewart, D.H. Smith (2018) Mechanical disruption of the blood-brain barrier following experimental concussion. *Acta Neuropathol*, 135: 711-726
150. Villalba, N., S.K. Sonkusare, T.A. Longden, T.L. Tran, A.M. Sackheim, M.T. Nelson, G.C. Wellman, K. Freeman (2014) Traumatic brain injury disrupts cerebrovascular tone through endothelial inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide gain of function. *J Am Heart Assoc*, 3: e001474
151. Grände, P.O. (2006) The "Lund Concept" for the treatment of severe head trauma-physiological principles and clinical application. *Intensive Care Med*, 32: 1475-1484
152. Budohoski, K.P., M. Czosnyka, N. de Riva, P. Smielewski, J.D. Pickard, D.K. Menon, P.J. Kirkpatrick, A. Lavinio (2012) The relationship between cerebral blood flow autoregulation and cerebrovascular pressure reactivity after traumatic brain injury. *Neurosurgery*, 71: 652-660; discussion 660-651
153. Budohoski, K.P., M. Reinhard, M.J. Aries, Z. Czosnyka, P. Smielewski, J.D. Pickard, P.J. Kirkpatrick, M. Czosnyka (2012) Monitoring cerebral autoregulation after head injury. Which component of transcranial Doppler flow velocity is optimal? *Neurocrit Care*, 17: 211-218
154. Lazaridis, C., P. Smielewski, L.A. Steiner, K.M. Brady, P. Hutchinson, J.D. Pickard, M. Czosnyka (2013) Optimal cerebral perfusion pressure: are we ready for it? *Neurol Res*, 35: 138-148

155. Steiner, L.A., M. Czosnyka, S.K. Piechnik, P. Smielewski, D. Chatfield, D.K. Menon, J.D. Pickard (2002) Continuous monitoring of cerebrovascular pressure reactivity allows determination of optimal cerebral perfusion pressure in patients with traumatic brain injury. *Crit Care Med*, 30: 733-738
156. Aries, M.J., M. Czosnyka, K.P. Budohoski, L.A. Steiner, A. Lavinio, A.G. Koliass, P.J. Hutchinson, K.M. Brady, D.K. Menon, J.D. Pickard, P. Smielewski (2012) Continuous determination of optimal cerebral perfusion pressure in traumatic brain injury. *Crit Care Med*, 40: 2456-2463
157. Fujita, M., E.P. Wei, J.T. Povlishock (2012) Effects of hypothermia on cerebral autoregulatory vascular responses in two rodent models of traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 29: 1491-1498
158. Andrews, P.J., H.L. Sinclair, A. Rodriguez, B.A. Harris, C.G. Battison, J.K. Rhodes, G.D. Murray (2015) Hypothermia for Intracranial Hypertension after Traumatic Brain Injury. *N Engl J Med*, 373: 2403-2412
159. Schaller, B. and R. Graf (2005) Different compartments of intracranial pressure and its relationship to cerebral blood flow. *J Trauma*, 59: 1521-1531
160. Toth, P., Z. Tucsek, S. Tarantini, D. Sosnowska, T. Gautam, M. Mitschelen, A. Koller, W.E. Sonntag, A. Csiszar, Z. Ungvari (2014) IGF-1 deficiency impairs cerebral myogenic autoregulation in hypertensive mice. *J Cereb Blood Flow Metab*, 34: 1887-1897
161. Foda, M.A. and A. Marmarou (1994) A new model of diffuse brain injury in rats. Part II: Morphological characterization. *J Neurosurg*, 80: 301-313
162. Marmarou, A., M.A. Foda, W. van den Brink, J. Campbell, H. Kita, K. Demetriadou (1994) A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg*, 80: 291-300
163. Escalante, B., W.C. Sessa, J.R. Falck, P. Yadagiri, M.L. Schwartzman (1989) Vasoactivity of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is dependent on metabolism by cyclooxygenase. *J Pharmacol Exp Ther*, 248: 229-232

164. Schwartzman, M.L., J.R. Falck, P. Yadagiri, B. Escalante (1989) Metabolism of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid by cyclooxygenase. Formation and identification of novel endothelium-dependent vasoconstrictor metabolites. *J Biol Chem*, 264: 11658-11662
165. Yu, M., L. Cambj-Sapunar, F. Kehl, K.G. Maier, K. Takeuchi, N. Miyata, T. Ishimoto, L.M. Reddy, J.R. Falck, D. Gebremedhin, D.R. Harder, R.J. Roman (2004) Effects of a 20-HETE antagonist and agonists on cerebral vascular tone. *Eur J Pharmacol*, 486: 297-306
166. Szenasi, A., K. Amrein, E. Czeiter, N. Szarka, P. Toth, A. Koller (2021) Molecular Pathomechanisms of Impaired Flow-Induced Constriction of Cerebral Arteries Following Traumatic Brain Injury: A Potential Impact on Cerebral Autoregulation. *Int J Mol Sci*, 22
167. Hayashida, M., A. Fukunaga, K. Hanaoka (2003) An animal model for surgical anesthesia and analgesia: characterization with isoflurane anesthesia and remifentanil analgesia. *Anesth Analg*, 97: 1340-1346
168. Golding, E.M., C.F. Contant, Jr., C.S. Robertson, R.M. Bryan, Jr. (1998) Temporal effect of severe controlled cortical impact injury in the rat on the myogenic response of the middle cerebral artery. *J Neurotrauma*, 15: 973-984
169. Racz, A., Z. Veresh, G. Lotz, Z. Bagi, A. Koller (2010) Cyclooxygenase-2 derived thromboxane A₂ and reactive oxygen species mediate flow-induced constrictions of venules in hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis*, 208: 43-49
170. Koller, A., A. Szenasi, G. Dornyei, N. Kovacs, A. Leibach, I. Kovacs (2018) Coronary Microvascular and Cardiac Dysfunction Due to Homocysteine Pathometabolism; A Complex Therapeutic Design. *Curr Pharm Des*, 24: 2911-2920
171. Gebremedhin, D., K. Yamaura, D.R. Harder (2008) Role of 20-HETE in the hypoxia-induced activation of Ca²⁺-activated K⁺ channel currents in rat cerebral arterial muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 294: H107-120

172. Debreczeni, B., E. Gara, Z. Veresh, A. Marki, A. Racz, R. Matics, J. Hamar, A. Koller (2013) Hydrogen peroxide via thromboxane A₂ receptors mediates myogenic response of small skeletal muscle veins in rats. *Clin Hemorheol Microcirc*, 54: 393-407
173. Racz, A., Z. Veresh, N. Erdei, Z. Bagi, A. Koller (2009) Thromboxane A₂ contributes to the mediation of flow-induced responses of skeletal muscle venules: role of cyclooxygenases 1 and 2. *J Vasc Res*, 46: 397-405
174. Szénási, A., G. Dörnyei, A. Rácz, B. Debreczeni, Á. Koller (2016) [Regulation of vasomotor tone of small skeletal muscle veins by intrinsic mechanisms]. *Orv Hetil*, 157: 805-812
175. Qu, Y., Zhao, L., & Guo, H. (2019) Role of Cerebral Venous System in Traumatic Brain Injury. In *Cerebral Venous System in Acute and Chronic Brain Injuries Springer Series in Translational Stroke Research*: 187-193
176. Hecker, M., A.T. Bara, J. Bauersachs, R. Busse (1994) Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factor as a cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolite in mammals. *J Physiol*, 481 (Pt 2): 407-414
177. Larsen, B.T., H. Miura, O.A. Hatoum, W.B. Campbell, B.D. Hammock, D.C. Zeldin, J.R. Falck, D.D. Gutterman (2006) Epoxyeicosatrienoic and dihydroxyeicosatrienoic acids dilate human coronary arterioles via BK(Ca) channels: implications for soluble epoxide hydrolase inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 290: H491-499
178. Donkin, J.J. and R. Vink (2010) Mechanisms of cerebral edema in traumatic brain injury: therapeutic developments. *Curr Opin Neurol*, 23: 293-299
179. Larsen, B.T., D.D. Gutterman, A. Sato, K. Toyama, W.B. Campbell, D.C. Zeldin, V.L. Manthati, J.R. Falck, H. Miura (2008) Hydrogen peroxide inhibits cytochrome p450 epoxygenases: interaction between two endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res*, 102: 59-67

180. de la Torre, J.C. (2012) Cerebral hemodynamics and vascular risk factors: setting the stage for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 32: 553-567
181. Mathew, N.T., J.S. Meyer, A. Hartmann, E.O. Ott (1975) Abnormal cerebrospinal fluid-blood flow dynamics. Implications in diagnosis, treatment, and prognosis in normal pressure hydrocephalus. *Arch Neurol*, 32: 657-664
182. Marmarou, A. (1994) Traumatic brain edema: an overview. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 60: 421-424
183. Poloyac, S.M., R.B. Reynolds, H. Yonas, M.E. Kerr (2005) Identification and quantification of the hydroxyeicosatetraenoic acids, 20-HETE and 12-HETE, in the cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosci Methods*, 144: 257-263
184. Szekeres, M., G.L. Nádasy, G. Dörnyei, A. Szénási, A. Koller (2018) Remodeling of Wall Mechanics and the Myogenic Mechanism of Rat Intramural Coronary Arterioles in Response to a Short-Term Daily Exercise Program: Role of Endothelial Factors. *J Vasc Res*, 55: 87-97

9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk (IF: 6,272):

- 1) Molecular Pathomechanisms of Impaired Flow-Induced Constriction of Cerebral Arteries Following Traumatic Brain Injury: A Potential Impact on Cerebral Autoregulation.

Annamaria Szenasi, Krisztina Amrein, Endre Czeiter, Nikolett Szarka, Peter Toth, Akos Koller. Int J Mol Sci. 2021 Jun 21;22(12):6624. doi: 10.3390/ijms22126624.PMID: 34205652 Free PMC

- 2) Regulation of vazomotor tone of small skeletal muscle veins by intrinsic mechanisms.

Szénási Annamária, Dörnyei Gabriella, Rácz Anita, Debreczeni Béla, Koller Ákos. Orv Hetil. 2016 May 22;157(21):805-12. doi: 10.1556/650.2016.30461.PMID: 27177786 Review. Hungarian.

Disszertációtól független publikációk (IF: 4,267):

- 3) Coronary Microvascular and Cardiac Dysfunction Due to Homocysteine Pathometabolism; A Complex Therapeutic Design.

Koller Akos, **Szenasi Annamaria**, Dornyei Gabriella, Kovacs Nora, Lelbach Adam, Kovacs Imre. Curr Pharm Des. 2018;24(25):2911-2920. doi: 10.2174/1381612824666180625125450.PMID: 29938610 Review.

- 4) Remodeling of Wall Mechanics and the Myogenic Mechanism of Rat Intramural Coronary Arterioles in Response to a Short-Term Daily Exercise Program: Role of Endothelial Factors.

Szekeres Mária, Nádasy György, Dörnyei Gabriella, **Szénási Annamária**, Koller Akos. J Vasc Res. 2018;55(2):87-97. doi: 10.1159/000486571. Epub 2018 Feb 14.PMID: 29444520 Free PMC article.

- 5) Determining stability of center of gravity in 16-18 year old girls and boys – a pilot study to determine the normal range

Földvári-Nagy László, Dörnyei Gabriella, Mayer Ágnes, Takács Johanna, Horváth Mónika, **Szénási Annamária**, Balogh Ildikó, Lenti Katalin, TST/PSS 2020;1-2:32-43 DOI: 10.21846/TST.2020.1-2.3, 5. évfolyam, 1-2. szám / Year 5, Issue 1-2 2020

(ΣIF: 10,539)

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, dr. Koller Ákos Professor Úrnak. Lelkesedése és támogatása meggyőzött arról, hogy érdemes mindig rendületlenül dolgozni. Köszönöm, hogy minden, az évek során szembejövő akadály ellenére mindig volt ideje és türelme rám, valamint megnyugtatóan segített átvészelni a legnehezebb időszakokat is. Köszönöm, hogy nem csak szakmailag, hanem emberileg is mindig számíthattam rá és még külföldön is segítette minden elképzelhető módon a kint tartózkodásomat.

Köszönöm első TDK témavezetőmnek, Dr. Földvári-Nagy Lászlóné Dr. Lenti Katalinnak, hogy kiváló élettan előadásával megszerettette velem a keringési rendszer működését. Köszönöm dr. Dong Sun Professor Úrnak, hogy fogadott a NYMC intézetében így volt lehetőségem külföldön tanulni és a laborjában gyakorolni a mikroerek speciális preparálását mellyel megalapozta a PhD munkámat.

Köszönöm volt, és jelenlegi munkatársaimnak az együttműködését, hiszen a munkájuk nélkül biztosan nem jöhettek volna létre e dolgozat alapjául szolgáló közlemények. Külön köszönöm dr. Tóth Péternek, a Pécsi Orvostudományi Egyetem, Transzlációs Medicina Intézet, Cerebrovaszkuláris laborvezetőjének értékes szakmai tanácsai és kísérleti munkában való támogatása nélkül e tudományos munka nem valósulhatott volna meg.

Munkám során értékes elméleti és gyakorlati segítségemre volt dr. Szarka Nikolett, akinek hálával tartozom. Az experimentális mérések során Dr. Amrein Krisztina precizitása és pontossága garantálta az eredményességet, melyet ezúton is köszönök. Köszönettel tartozom Cser Ágnesnek és Visnyei Tündének a labor munkában és a PhD ügyeim intézésében nyújtott segítségükért. Köszönöm minden szerzőtársamnak a publikálásban való hozzájárulását.

Köszönöm az intézeti vita opponensemnek, dr. Nádasy György professzor úrnak, hogy értékes tanácsaival és megjegyzéseivel segítette a dolgozat végleges változatának elkészítését.

Végül pedig köszönöm a családom és a barátaim bizalmát és támogatását. Köszönöm szüleimnek és nagyszüleimnek, hogy egész életükben próbáltak többre és jobbra készíteni és anyagilag is mindig segítettek tanulmányaimat. Köszönöm a férjemnek, dr. Pölöskei Gergelynek, hogy folyamatosan készen állt áldozatot hozni azért, hogy annyit dolgozhassak amennyit a kutatói munka igényelt és mindig maradt energiája arra is, hogy az ábráim elkészítésében is segítsen. Köszönöm neki, és a szüleinek, hogy a doktori disszertáció írása alatt óriási részt vállaltak a gyermekünk neveléséből.