

A hemodinamikai erők szerepe az agyi véráramlás szabályozásában

*Az áramlás függő mechanizmus a cerebrovaszkuláris ellenállás
szabályozásában normál és kóros állapotokban*

Ph.D. tézis

írta

Dr. Tóth Péter

Témavezető:

Prof. Dr. Koller Ákos, MTA doktora

Program vezető:

Prof. Dr. Komoly Sámuel, MTA doktora

Kóréletteni és Gerontológiai Intézet

Klinikai Idegtudományok Doktori Iskola

Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Pécs

2013

TARTALOMJEGYZÉK

I rész.

Az áramlás függő mechanizmusok szerepének felfedezése a cerebrovaszkuláris ellenállás szabályozásában. A hemodinamikai erők hozzájárulása az agyi véráramlás autoregulációjához.

I.1. Bevezetés	3
I.1.2. Agyi erek intraluminális nyomás-indukálta válaszai	3
I.1.3. Agyi erek intraluminális áramlás-indukálta válaszai	4
I.2. Hipotézis és célkitűzések	4
I.3. Anyag és módszer	4
I.4. Eredmények	5
I.5. Megbeszélés	6
I.6. Az I. rész tézisei	9

II. rész

A nyomás- és áramlás-indukálta vasomotor mechanizmusok diszfunkciója hypertóniában és öregedésben. Kóréletteni eltérések az agyi véráramlás autoregulációjában.

II.1. Bevezetés	9
II.2. Hipotézis és célkitűzések	9
II.3. Anyag és módszer	10
II.4. Eredmények	11
II.5. Megbeszélés	12
II.6. Az II. rész tézisei	14
III. A szerző publikációi	14
IV. Köszönetnyilvánítás	16
V. Irodalomjegyzék	

RÖVIDÍTÉSEK:

CBF: agyi véráramlás (cerebral blood flow)

TP receptor: tromboxán/prostaglandin endoperoxid receptor

CVR: cerebrovaszkuláris ellenállás

VCI: vaszkuláris kognitív hanyatlás

α -SMA-GFP: α símaizom aktin zöld fluoreszcens fehérje

Ang II: Angiotensin II

MCA: arteria cerebi media

HCA: human intracerebrális artéria

20-HETE: 20-hydroxy-5,8,11,14-eikozatetraénsav

HET0016: N-Hydroxy-Ndroxyxytraenoic acidoic aciformamidin

TRPC6: tranziens receptor potenciál csatorna (canonical type) 6

SKF96365: 1-[2-(4-Methoxyphenyl)-2-[3-(4-methoxyphenyl)propoxy]ethyl]imidazol

BBB: vér-agy gát

MCP-1: Monocyta kemoattraktáns fehérje -1

TNF α : tumor nekrosis faktor α

IP-10: Interferon gamma-indukálta fehérje 10

5-NT: 5-nitrotirozin

Cyp4a12, Cyp4a10, Cyp4a14: citokróm P 450 4 A enzim család 12, 10, 14

I rész.

Az áramlás függő mechanizmus szerepének felfedezése a cerebrovaszkuláris ellenállás szabályozásában. A hemodinamikai erők szerepe az agyi véráramlás autoregulációjában.

I.1. Bevezetés

A zavartalan agyi véráramlás (CBF) fenntartása kiemelt fontosságú az agyi funkciók ellátásában. A folyamatos vérellátás biztosítását a szabályozó folyamatoknak a zárt koponyatér által limitált térfogatban kell megoldaniuk¹. Mindezek miatt, a CBF autoregulációja, vagyis állandó agyi véráramlás biztosítása a változó szisztémás vérnyomás ellenére különösen fontos, és ezért mindíg a kutatások középpontjában állt.

Ezek a kutatások vezettek arra konklúzióra, hogy a teljes agyi véráramlásnak állandónak és stabilnak kell lennie egyrészt az agyszövet folyamatos ellátása, másrészt a konstans intrakraniális térfogat és nyomás fenntartása érdekében. A Hagen-Poiseuille törvény alapján a CBF az agyi erek átmérőjének 4. hatványával arányos, ezért adott érátmerő növekedés exponenciális agyi véráramlás-fokozódást okoz. Ebből következően, az agyi erek általános dilatációja az agyi véráramlás jelentős emelkedéséhez vezetne. A megnövekedett agyi vértérfogat és intrakraniális nyomás az agy kompressziójához vezetne, ami súlyosan befolyasolná annak működését.^{2, 3} Ezek alapján érthető, hogy az agyi véráramlás és az agyi vértérfogat szoros kontroll alatt áll: számos in vivo vizsgálat tanúsága szerint széles szisztémás vérnyomás-tartományban (~ 60-140 Hgmm) az agyi véráramlás csak kis mértékű növekedést mutat.^{4, 5} Fontos hangsúlyozni, hogy bár matematikai modellek "gain"=1 erősítés értéket használnak az agyi autoreguláció jellemzésére, amint az 1-es ábra is mutatja, tökéletesen horizontális véráramlás-nyomás görbe in vivo nem mérhető, és nem is lenne előnyös az agyi funkciók ellátása szempontjából.^{6, 7} Amint Rosenblum is javasolta, az autoregulációs görbe inkább enyhe lineáris emelkedést mutat a vérnyomás függvényében.^{4, 5, 8, 9} A lineáris (és nem exponenciális!) CBF-vérnyomás kapcsolatot biztosító agyi autoregulációs mechanizmusok nem teljesen ismertek.

Mivel az intraluminális nyomás változását az intraluminális áramlás változása kíséri feltehető, hogy agyi erek hemodinamikai erőkre adott in vivo válasza a nyomás- és áramlás-indukálta vazomotor mechanizmusok kombinációja.¹⁰⁻¹³ Érdekes, hogy míg a nyomásváltozás szerepét az agyi keringés-szabályozásban széles körben vizsgálták, az áramlás változás-indukálta vazomotor folyamatok vizsgálata eddig sokkal kisebb figyelmet kapott. Fontos kiemelni, hogy az agyi autoregulációt leíró in vivo vizsgálatokban a nyomás és áramlás változás-indukálta mechanizmusok egymástól nem voltak elválaszthatók, és az áramlásváltozás lehetséges hatását a megfigyelt válaszokban nem is feltételezték.^{5, 14-24}

I. 1. 2. Agyi erek intraluminális nyomás-indukálta válaszai

Korábbi megfigyelések új interpretációja

Egészen mostanáig a CBF autoregulációját elsősorban az agyi erek nyomás-indukálta myogén válaszával magyarázták: a vaszkuláris símaizom azon tulajdonságával, melynek eredményeként az ér nyomás csökkenésre dilatál, nyomás növekedésre kontrahál²⁵. Bayliss első leírása óta különböző erek (artériás, vénás, nyirok), köztük agyi erek myogén válaszait széles körben tanulmányozták.^{26 27-29 6, 30} Ezekben az in vitro izolált ér vizsgálatokban csak az intraluminális nyomást változtatták, az áramlást mindig állandó maradt³¹⁻³³ ezért a megfigyelt érválaszok csak a nyomás-változástól következtek be. Az említett vizsgálatok áttanulmányozása után feltűnik, hogy a nyomás változásra reagáló erek 60 és 140 Hgmm között állandó érátmerőt tartanak fent, abszolút értékben nem csökkentik átmérőjüket.^{6, 34-36}

Osol és munkatársai javaslatára a myogén válasz ezen részét 2. fázisnak nevezzük.³⁵ Ha ezen megfigyeléseket in vivo körülményekre extrapoláljuk, az állandó érátmérő nem képes biztosítani a véráramlás autoregulációját, mert állandó átmérő esetén az emelkedő intraluminális nyomás a CBF nyomás-függő növekedéséhez vezetne. Ennek ellenére az autoreguláció jelenlétét a fent említett in vivo vizsgálatok igazolták! Ezek a korábbi megfigyelések és a részletezett elméleti következtetések arra vezettek minket, hogy egy áramlásváltozásra érzékeny további konstriktor mechanizmus létét feltételezzük, amely képes a myogén konstriktiót felerősíteni, ezáltal az in vivo agyi autoregulációt biztosítani.

I.1.3. Agyi erek intraluminális áramlás-indukálta válaszai

Mint szó volt róla, a szisztémás nyomás megnövekedése egyben áramlás növekedést hoz létre¹⁰⁻¹³ (megnö a nyomásesés az agyi vaszkuláris rendszeren), és elméleti megfontolások alapján feltehető, hogy az áramlás-indukálta mechanizmusok is hozzájárulnak az agyi autoreguláció fenntartásához. Eddig csak néhány tanulmány foglalkozott agyi erek áramlás-indukálta válaszaival, amelyek jelentős eltéréseket mutattak a használt állatmodelltől, ér szegmentumtól vagy módszertől függően.^{37-42 43, 44 45-47} A jól kivitelezett és kontrollált vizsgálatok dilatációt találtak áramlás növekedésre patkány és egér vertebrobasiláris rendszerében; konstriktiót írtak le macska és patkány carotis interna területi ereiben; nyomás- és áramlás-szinttől függő bifázisos válaszokat (dilatációt és konstriktiót) találtak nyúl és patkány agyi arterioláiban.

I.2. Hipotézis és célkitűzések

Mint az előző paragrafus leírja, agyi erek áramlás-indukálta válaszai különbözőek voltak a használt állat modelltől, érszegmentumtól vagy módszertől függően.^{37-42 43, 44 45-47}

Human agyi erek áramlás-indukálta válaszait még senki sem vizsgálta, ezért a fenti eredmények nem extrapolálhatók emberre. Elméletileg, az áramlás-indukálta dilatáció a myogén konstriktiót csökkentené, ami az agyi autoreguláció gyengülését eredményezné. Ellenben, az áramlás növekedés-indukálta konstriktió az autoregulációt hatékonyabbá tenné. Tekintve, hogy az arteria cerebri media (MCA) azon agyi erek közé tartozik, amelyek az agyi vaszkuláris rezisztenciát alapvetően meghatározzák **azt hipotetizáltuk**, hogy az áramlás növekedése izolált patkány MCA és intracerebrális human agyi erek konstriktióját okozza.

Célul tűztük ki, hogy felmérjük az áramlás-indukálta vazomotor mechanizmusok hozzájárulását az agyi autoregulációhoz, valamint feltárjuk a háttérben álló molekuláris mechanizmusokat.

I.3. Vizsgálati anyag és módszer

Humán agyi erek és patkány arteria cerebri media (MCA) izolálása: A vizsgálatokat a megfelelő egyetemi állat és kutatás etikai bizottságok hagyták jóvá (Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs; New York Medical College, Valhalla NY, USA).

Humán minták: A humán agyi mintákat Prof. Dóczi Tamás biztosította (Pécsi Tudományegyetem, Idegsebészeti Klinika, Pécs) epilepsziás valamint agyi daganatos betegek műtési kezelése során nyert, egyébként kidobandó szövetből (n=6, kor: 32±10 év).³⁶ A betegek nem szenvedtek egyéb betegségben. A vizsgálatra felhasznált erek ép szövetrészekből voltak izolálva, amelyeket a daganat illetve az epilepsziás góc kimetszése során mindenképpen el kellett távolítani. A frontális és temporális kéregállomány szövegeteit 0-4 °C hőmérsékletű fiziológiás só oldatba (PSS) helyeztük: (mmol/L-ben kifejezve) 110.0 NaCl, 5.0 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.0 MgSO₄, 1.0 KH₂PO₄, 5.5 glükóz, és 24.0 NaHCO₃ buborékolatva 20% O₂-t, 5% CO₂-t és nitrogént tartalmazó gázkeveréssel (pH ~7.3).⁴⁸ Az

intracerebrális kis artériákat (HCA, 200-300 μm aktív átmérő) mikrosebészeti eszközökkel operációs mikroszkóp alatt izoláltuk az agyszövetből.

Patkány minták: Wistar-Kyoto hím patkányokat (250-350g) elaltattuk (intraperitoneális pentobarbital sodium) majd dekapitáltuk. A koponyából az agykat azonnal eltávolítottuk és fiziológias só oldatba helyeztük. Az artéria cerebri mediát (MCA) izoláltuk az agyalap mindkét oldaláról (n=61).

Izolált agyi artériák áramlás-indukált, nyomás-indukált, és egyidejű áramlás és nyomás – indukált válaszai: Izoláció után az agyi artériákat nyomás-áramlás kamrába helyeztük.

1) Elsőként az agyi erek átmérőválaszait mértük az intraluminális áramlás lépcsőzetes emelésére, melyet nyomásgrádiens növelésével hoztunk létre (a grádiens a befolyó rezervoár emelésével és a kifolyó rezervoár azonos mértékű süllyesztésével értük el: $\Delta P = 5, 10, 20, 30, 40$ Hgmm megfelel a 3 - 320 $\mu\text{L}/\text{min}$ intraluminális áramlásnak).⁴⁹ 2) Ezt követően az átmérő változását mértük az intraluminális nyomás emelésére (10 perc mindegyik nyomás szinten, 0-140 mmHg között) áramlásmentes helyzetben (a két rezervoár azonos szinten állt). 3) Végül mértük az átmérő változását nyomás és áramlás egyidejű növekedésére. A kísérletek befejeztével megmértük a passzív átmérőket mindegyik intraluminális nyomás szinten Nifedipint (10^{-5} mol/L) tartalmazó Ca^{2+} -mentes fiziológias só oldatban.

Elméleti számítások: A Hagen–Poiseuille egyenlet alapján ($Q=r^4\Delta P\pi/L8\eta$, ahol Q=áramlás, r=sugár, ΔP =nyomás különbség, L=hosszúság, η =viszkozitás) megbecsültük a CBF változását mindhárom fenti protokoll esetén. Kiszámoltuk az autoreguláció hatékonysági, “gain” faktorát (G).⁶ $G = 1$ jelzi a tökéletes autoregulációt, míg a $G < 1$ indikálja a nem megfelelő autoregulációt, amikor az áramlás növekedik az intraluminális nyomás függvényében.

Vazoaktív anyagok és enzim gátlók hozzáadása: A human agyi artéria (HCA) és az artéria cerebri media (MCA) áramlás-indukálta átmérő válaszait megismételtük 20-HETE szintézis-gátló HET 0016, cyclooxygenáz gátló indomethacin, TXA_2 / PGH_2 receptor (TP) blokkoló SQ 29,548, szabad gyök fogó szuperoxid dizmutáz-SOD és kataláz-CAT valamint TXA_2 -szintézis gátló ozagrel jelenlétében. További kísérletekben a 20-HETE-t direkt az érpreparátumhoz adtuk és az átmérőválaszokat regisztráltuk. Szintén további kísérletekben áramlás jelenlétében az erekhez adenzint adtunk.

CYP450 4A fehérjék kimutatása az agyi erekben: CYP450 4A fehérje expresszióját western blot analízissel (anti-cytochrome P450, 1:4000 dilution, #ab22615, Abcam, Cambridge MA) végeztük.

Szuperoxid szint vizsgálata: Dihydroethidium fluorescein módszert (EB) használtunk az áramlás-indukálta szuperoxid termelés felmérésére MCA-ban.⁵⁰

Statisztikai analízis: Statisztikai analízisre two-way ANOVA-t használtunk. $p < 0.05$ esetén tartottuk a különbségeket szignifikánsnak. Az adatokat vagy mikrométerben vagy a passzív átmérő %-ban fejeztük ki (egy adott érnek Ca^{2+} mentes oldatban való maximum átmérője, mint 100%), Az adatok átlag \pm SEM-ként vannak megadva.

I.4. Eredmények

Agyi artériák áramlás-indukálta válasza és a CBF kiszámítása

Az intraluminális áramlás növekedése állandó nyomáson (80 mmHg) konstriktiót eredményezett humán agyi artériákban (HCA). Patkány agyi erekben hasonló eredményeket kaptunk (a passzív átmérő 74 \pm 4.9-ről 63 \pm 5 %-ra humánban, és 63.8 \pm 0.8-ről 48.8 \pm 1.5 %-ra patkányban 80 mmHg-en $p < 0.05$). $\Delta 20$ mmHg áramlás melletti steady state átmérő (kiindulási átmérő) $\Delta 10$ mmHg által létrehozott (csökkenő) áramlás hatására növekedett (a kiindulási átmérő 111 \pm 1.7 %-ra), majd $\Delta 40$ mmHg által keltett áramlás-növekedés hatására lecsökkent (a kiindulási 84 \pm 1.5 %-ra). Adenzin hozzáadása (10^{-5} mol/L) az átmérőt $\Delta 40$

mmHg által keltett áramlás jelenlétében szignifikánsan a kiindulási átmérő fölé növelte (148 ± 10 %-ra).

Az intraluminális nyomás növekedése okozta normalizált átmérő csökkenést (84 ± 3 -ról 53 ± 4 %-ra, $n=6$) az egyidejű nyomás+áramlás növekedés szignifikánsan fokozta (83.8 ± 3 -ról 36 ± 3 %-ra, $p < 0.05$). Amikor csak a nyomás növekedett (0-140 Hgmm között) a számított CBF nagyfokú emelkedést mutatott (egységben kifejezve: 1.4 ± 0.1 -ről 23.3 ± 7.6 -ra). Ellenben, mikor a nyomás+áramlás egyidejűleg emelkedett a számított CBF növekedés szignifikánsan csökkent (0.7 ± 0.1 -ről 5.4 ± 1.4 egységre). A csak nyomás indukálta átmérőket használva az autoregulációs "gain" $G=0.8 \pm 0.01$ volt, míg a nyomás és áramlás egyidejű növekedésére $G=0.99 \pm 0.01$ -re emelkedett.

Az agyi artériák áramlás-indukálta konstriktójának mechanizmusa

HCA-t és MCA-t HET0016-tal (amely Cyp4504A enzimek blokkolásával gátolja a 20-HETE termelődését) inkubálva az áramlás-indukálta konstriktió megszűnt. A 20-HETE direkt adása (10^{-7} mol/L) az áramláshoz hasonlóan csökkentette az MCA átmérőjét ($\Delta P=40$ mmHg-en, áramlás: 42 ± 3 , 20-HETE: 34 ± 9.8 $\Delta \mu$ m).

A HET0016 nem hatott szignifikánsan más érválaszra, pl. az acetilkolin-indukálta dilatációra (előtte: 53 ± 4.6 % utána: 46 ± 5.4 %-a a passzív átmérőnek). Western blot analízis a cytochrome P450 4A enzimek jelenlétét mutatta patkány MCA-ban.

Az erek inkubációja SOD/CAT-al (szabad gyök fogók) szignifikánsan csökkentette az áramlás-növekedés okozta átmérőcsökkenést. Az áramlásnak kitett erekben megnövekedett EB fluoreszcencia az áramlás hatására fokozódó szabadgyök termelődést jelezte. HET0016 (10^{-5} m/L) a kontrol szintre csökkentette a megnövekedett EB fluoreszcenciát (kontrol: 0.05 ± 0.02 , áramlás: 0.18 ± 0.04 , áramlás+HET 0016: 0.07 ± 0.02 integrált intenzitás/teljes terület,; $p < 0.05$).

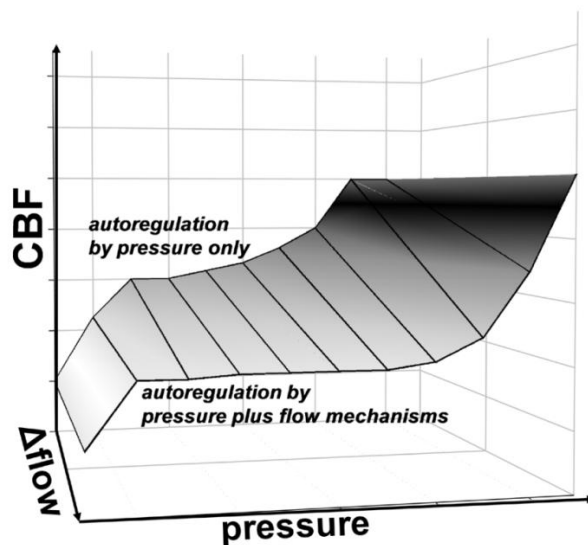
Az erek inkubációja indomethacinnal (COX gátló) vagy SQ 29,548-al (TP receptor gátló) gátolta az MCA áramlás-indukálta összehúzódását, míg az ozagrelnek (thromboxán szintáz gátló) nem volt hatása.

I.5. Megbeszélés

Agyi erek áramlás-indukálta válaszainak élettani jelentősége. Az agyi véráramlás autoregulációjának új koncepciója.

A jelen vizsgálatokban kimutattuk, hogy izolált patkány MCA és humán intracerebrális agyi erek az intraluminális áramlás növekedésére konstriktóval válaszolnak, amelynek szerepe lehet az agyi autoreguláció fenntartásában. Ezen eredményeknek fontos jelentősége lehet, ugyanis az agyi autoregulációt eddig kizárólag a nyomás-indukálta myogén válasszal magyarázták (1. ábra).

A carotis internához tartozó agyi keringési területen a nagyobb agyi erek a vaszkuláris rezisztencia alapvető meghatározói.^{5, 16, 18, 51} Ezzel összhangban az intraluminális áramlás növekedése a nagyobb agyi erek (pl. MCA) konstriktóját okozza, ami felerősítve a nyomás-indukálta konstriktiót effektívebb agyi autoregulációt eredményez. Ezáltal az áramlás-indukálta konstriktió fontos szerepet játszik az agyi vértérfogat és az intrakraniális nyomás szabályozásában is. A myogén válasszal együtt az áramlás-indukálta konstriktió valószínűleg különböző arányban vesz részt az egyes agyi területek keringési ellenállásának szabályozásában, ami magyarázhatja az agyi arteriolák áramlás növekedésre adott bifázisos válaszait.^{7, 37-39, 43, 46, 52, 53}



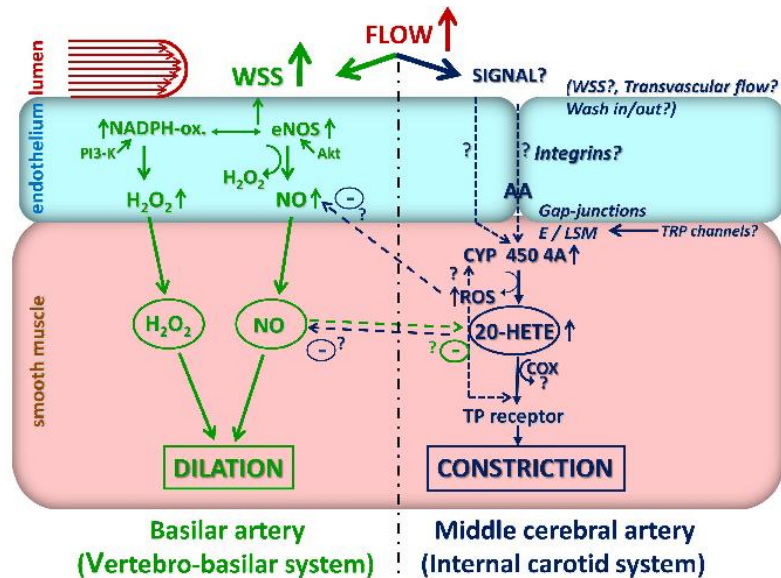
1. ábra. Agyi erek áramlás-indukálta konstrikciónak élettani szerepe az agyi véráramlás autoregulációjában. Az intralumiális nyomás és áramlás együttes hatására jön létre az agyi véráramlás hatékony autoregulációja, míg a kizárólag nyomás-indukálta értámmérő válaszok nyomás függő, emelkedő véráramláshoz vezetnek.

A két hemodinamikai erő által “beállított” vazomotor tónust a neurális igényeket jelző biológiai jelekre érzékeny mechanizmusok modulálhatják, illetve felül is írhatják: a véráramlás regionálisan emelkedhet a neurális aktivációhoz kapcsolt idegi, glia és más metabolikus szabályozó folyamatok hatására.⁵⁴⁻⁵⁶ Ez a koncepció összhangban áll azon vizsgálatokkal, amelyek demonstrálták, hogy a metabolikus dilatáció képes meggátolni a nyomás- és áramlás-növekedés konstriktor hatását.^{7, 44, 57, 58}

Az agytörzsben (vertebrobasiláris rendszer), ahol az érelenállás fő meghatározói az arteriolák^{18, 59} a nagyobb agyi erek, mint az a. basilaris “dilatálhatnak” az áramlás növekedésére, hozzájárulva a reaktív hyperaemia kialakulásához (2.ábra).⁵³

Az agyi erek áramlás-indukálta konstrikciónak molekuláris mechanizmusai

Harder, Gebremedhin és mások is kimutatták, hogy az arachidonsavat a citokróm P450 ω -hydroxylázok (CYP 450 4A) 20-hydroxyeikozatetraénsavvá (20-HETE) alakítják,^{60, 61} ami az agyi erek agonista- és nyomás-indukálta konstrikciónak mediátoraként fontos szerepet játszik a cerebrovaszkuláris tónus szabályozásában.^{62, 63} Jelen vizsgálatunkban mi azt találtuk, hogy humán és patkány agyi erek áramlás-indukálta konstrikcióna blokkolható volt HET 0016-al, a 20-HETE szintézisének gátlószerével. Ezen funkcionális eredménnyel egybehangzóan Gebremedhin-hez és Dunn-hoz hasonlóan kimutattuk, hogy a CYP450 4A enzimek jelen vannak patkány MCA-ban.^{62, 64}



2. ábra. Az áramlás növekedés dilatációt, bifázisos válaszokat vagy konstriktiót okozhat agyi erekben, azok regionális és szegmentális lokalizációjától függően. Feltételezzük, hogy a carotis interna rendszerben a nagy agyi erek (pl. arteria cerebri media) és intracerebrális artériák összehúzódnak az áramlás növekedésére. Az áramlás-indukálta konstriktiót 20-hydroxyeikozatetraénsav (20-HETE) mediálja (citokróm P450 4A eredetű arachidonsav metabolit) TP receptoron keresztül. A folyamat COX-aktivitást feltételez és szabadgyök termeléssel jár, amelyek hozzájárulnak a konstriktióhoz. Az agytörzsi keringésben, a vertebrobasiláris keringési rendszerben a nagyobb artériák, mint az arteria basilaris az áramlás növekedésre dilatációval válaszolnak. A dilatációt (foszfatidilinozitol 3 kináz (PI3-K) által aktivált) NADPH-oxidázból származó H₂O₂ és/vagy endotheliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) eredetű nitrogén-monoxid (NO) mediálja. Az eNOS Akt-függő úton aktiválódik. Az arteriolák bifázisos válaszait a nagy erek vazomotor működése által meghatározott nyomás és áramlási viszonyok határozzák meg.

Szintén ismert, hogy a 20-HETE direkt hozzáadása, illetve szintézise során oxidatív szabadgyökök (ROS) keletkeznek.^{44, 65, 66} Jelen tanulmányunkban demonstráltuk, hogy szabadgyök fogók jelenléte szignifikánsan csökkentette az áramlás-indukálta konstriktiót, jelezve azok mediátor szerepét. Továbbá, az áramlás növelése fokozta patkány MCA-k ethidium-bromid fluorescenciáját, ami áramlás-indukálta szabadgyök termelésre utal. A fokozott ROS termelés megszűnt 20-HETE szintézis gátló jelenlétében megerősítve a felvetést, miszerint az áramlásnövekedés CYP 450 4A aktivációt és 20-HETE szintézist indukál, amit szabadgyök képződés kísér. Mivel a konstriktió és a szabadgyök termelés is megszűnt HET 0016 adását követően nem valószínű, hogy a szabadgyököknek ebben a helyzetben jelentős direkt vasomotor hatása lenne, de a konstriktióhoz hozzájárulnak.

Eredményeink, melyek szerint mind a 20-HETE szintézis gátlása, mind a TP receptor blokkolása meggátolta az áramlás-indukálta konstriktiót felvetik, hogy a 20-HETE a TP receptoron keresztül hat. Ezzel a hipotézissel összhangban, Schwartzman és munkatársai korábban kimutatták, hogy a 20-HETE vazokonstriktiót okozott TP receptoron keresztül, miután COX-mediált módon 20-endoperoxid származékokká alakult (20-OH-PGH₂, 20-OH-PGG₂)^{67, 68}. Ezt megerősítik eredményeink, melyek szerint az MCA áramlás-indukálta konstriktióját a COX gátló indomethacin blokkolta. Az áramlás-indukálta konstriktió feltételezett molekuláris mechanizmusát a 2. ábra szemlélteti.

I.6. Az I. rész tézisei

- 1) Az intraluminális áramlás növekedése konstriktiót okoz humán intracerebrális és patkány középső agyi (MCA) artériákban;
- 2) izolált patkány MCA-ban az intraluminális nyomás és az áramlás szimultán emelkedése szignifikánsan nagyobb konstriktiót okoz, mint a nyomás egyedül;
- 3) a nyomás- és áramlás-indukálta konstriktió együtt hatékonyabb számított agyi autoregulációt eredményez, mint a nyomás egyedül;
- 4) a áramlás-indukálta konstriktió hátterében álló molekuláris mechanizmusok szabadyök termeléssel és COX aktivációval járnak, CYP 4504A eredetű 20-HETE termeléséhez vezetnek, ami a TP receptoron keresztül vazokonstriktiót okoz.

II. rész

A nyomás- és áramlás-indukálta vazomotor mechanizmusok diszfunkciója hipertóniában és öregedésben. Kórélettani eltérések az agyi véráramlás autoregulációjában.

II.1. Bevezetés

Epidemiológiai tanulmányok bizonyítékai szerint a hipertónia káros cerebrovaszkuláris hatásai felerősödnek az öregedés során, míg fiatal betegek relatíve védettek a magasvérnyomás okozta cerebromikrovaszkuláris károsodástól.⁶⁹⁻⁷¹ Annak ellenére, hogy az elérhető humán adatok alapján az öregedés és a hipertónia szinergisztikusan hatnak, eddig még nem vizsgálták azon cerebrovaszkuláris betegségekhez vezető öregedés-függő mechanizmusokat, amelyek az agyi mikroerek sérülékenységét fokozzák hipertóniában.⁷²

Fiatal állatokon végzett korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy hipertóniában a cerebrális rezisztencia erek a strukturális adaptációt megelőzően funkcionális adaptáción mennek át, a cerebrovaszkuláris ellenállás növekedését eredményezve, amely fontos védő mechanizmusként megakadályozza a nagy nyomás (és térfogat) mikroerekre való tevődését.^{73, 74} Ezekben az adaptív folyamatokban a nyomás-indukálta myogén válasz fokozódása jelentős szerepet játszik.^{5, 6, 75} Ezen vizsgálatok kimutatták, hogy fiatal hipertóniás állatokban a myogén mechanizmus fokozódása megnövekedett agyi vaszkuláris rezisztenciához vezet, így a nyomás változatlan marad a mögöttes érszakasz vékonyfalú, sérülékeny arterioláiban és kapillárisaiban, biztosítva a zavartalan vér és oxygen ellátást. (Fontos megjegyezni, hogy ezzel egyidőben ezen állatok sérülékenyebbé válnak iszkémiás inzultusra.) Az adaptáció eredményeként az agyi véráramlás autoregulációja nagyobb nyomás értékek felé tolódik ki, mind hipertóniás kísérleti állatokban mind magasvérnyomásos betegekben.^{73, 74, 76}

A hipertónia és stroke állatmodelljeiben végzett vizsgálatok alapján⁷⁷ az *autoregulációs védelmi mechanizmusok elvesztése* cerebromikrovaszkuláris károsodást eredményez. Az autoregulációs mechanizmusok ezen különleges jelentősége ellenére nem tisztázott, hogy az öregedés hogyan befolyásolja az agyi erek hipertóniában látott protektív funkcionális mechanizmusait.

II.2. Hipotézis és célkitűzések

Kutatásaink második részében a következő **hipotéziseket** teszteltük: 1) az öregedés rontja az agyi erek nyomás- és áramlás-indukálta válaszainak funkcionális adaptációját hipertóniában, 2) ez az agyi autoreguláció károsodásához vezet, valamint 3) fokozza a

hypertonia-indukálta mikrovaszkuláris károsodást és neuroinflammációt 4) tanulási diszfunkcióhoz vezetve.

Célunk fiatal és idős hipertóniás egerekben a 1) nyomás- és áramlás-indukálta válaszoknak, az 2) agyi véráramlás autoregulációjának, a 3) vér-agy gát funkciójának, a kapilláris denzitásnak, a neuroinflammáció markereinek valamint 4) a kognitív funkciónak a meghatározása volt.

II.3. Vizsgálati anyag és módszer

Egerek: Fiatal (3 hónap, n=80) és idős (24 hónap, n=80) hím C57/BL6 egereket használtunk. A vizsgálatokat a megfelelő egyetemi állat és kutatás etikai bizottságok hagyták jóvá (Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs és Univ of Oklahoma, HSC, Oklahoma City, USA).

Angiotensin II-indukálta hipertónia: Fiatal és öreg egerekbe szubkután angiotensin II-t (Ang II, 1000 ng/min/kg) tartalmazó ozmotikus minipumpát ültettünk 4 hétig. A szisztolés vérnyomást a farokra helyezett mandzsetta (tail cuff) segítségével mértük.

Kognitív vizsgálatok: Az egerek tanulási teljesítményt vizsgáltuk elevated plus maze-en alapuló tanulási protokollal.

Cerebrovaszkuláris autoreguláció: Altatott, lélegeztett egerek agykérgi véráramlását detektáltuk a vérnyomás függvényében 40–160 mmHg között lézer speckle áramlásmérés segítségével.

Nyomás és áramlás-indukált válaszok felmérése izolált artéria cerebri mediában: Izolált artéria cerebri mediában (MCA) detektáltuk az intraluminális nyomás emelésére adott átmérőválaszokat, amelyeket megismételtünk citokróm P450 ω -hydroxyláz gátló HET0016 (10^{-6} mol/L) és TRPC csatorna blokkoló SKF96365 (5×10^{-6} mol/L, 15 min-ig) jelenlétében. Külön kísérletekben a már részletezett módon az áramlás-indukálta átmérő válaszokat mértük.

Quantitative real-time RT-PCR: *Cyp4a12*, *Cyp4a10*, *Cyp4a14* és *Trpc6* mRNS expresszióját vizsgáltuk az artéria cerebri mediákban (MCA).

Vér-agy gát permeabilitásának vizsgálata: Vér-agy gát (BBB) átteresztőképességének meghatározását nátrium fluorescein nyomonkövetési esszével, valamint extravázált IgG immunhisztokémiával végeztük.

Western blot: TRPC6 és tight junction fehérjék (ZO-1, occludin, és claudin-5) expresszióját MCA-ban western blot analízissel végeztük.

Kapillárisok pericyta borítottságának meghatározása: Fiatal és idős α SMA-GFP-t (α -símaizom aktinhez kapcsolt zöld fluoreszcens fehérje) expresszáló transzgén egerek friss fagyasztott mintából származó agyi metszetein vizsgáltuk a kapillárisok pericyta lefedettségét angiotensin II-indukált hipertóniában vagy anélkül. Endothél jelölésre CD31-ellenes antitestet használtunk.

Kapilláris denzitás meghatározása: CD31+ kapillárisok sűrűségét határoztuk meg különböző agy területeken adott térfogatban.

Neuroinflammáció: A hippocampus különböző régióiban mikroglia aktivációt detektáltunk CD68+ és Iba-1+ sejtszám meghatározásával. Hippocampus mintákból gyulladáscsökkentő citokineket/chemokineket mértünk RT-PCR-rel, valamint adott mikroglia-eredetű proinflammációs faktorok (MCP-1, TNF α , IP-10) fehérje szintű expresszióját határoztuk meg bead esszével.

Hippocampus 5-nitrotirozin tartalmának meghatározása: Az oxidatív/nitrozatív stresszt 5-nitrotirozin meghatározással detektáltuk hippocampus homogenizátumban.

Statisztikai analízis: Statisztikai analízisre two-way ANOVA-t használtunk. $p < 0.05$ esetén tartottuk a különbségeket szignifikánsnak. Az adatokat vagy mikrométerben vagy a passzív

átmérő %-ban fejeztük ki (egy adott érnek Ca^{2+} mentes oldatban való maximum átmérője, mint 100%), Az eredmények átlag \pm SEM-ként szerepelnek.

II.4. Eredmények

Károsodott cerebrovaszkuláris autoreguláció idős hipertóniás egerekben

Fiatal kontrol egerek CBF-je (LSP jel) független volt a vérnyomás 60-120 mmHg közötti változásától, mely jelzi, hogy az autoreguláció hatékonyan működött. Fiatál és idős normotóniás egerek autoregulációjában nem volt detektálható különbség. Fiatál hipertóniás egerekben azonban magas nyomás értékeknél (150-160 Hgmm) az agyi véráramlás szignifikánsan kisebb változást mutatott, mint a kontroll állatokban, jelezve az autoreguláció adaptív felerősödését. Az adaptív válasz hiányzott az idős hipertóniás egerekben.

Az öregedés rontja az agyi artériák autoregulációs működését: myogén és áramlás-indukálta válaszok szerepe

Fiatál kontrol egerek MCA-ja az intravaszkuláris nyomás növekedésére fokozódó myogén konstriktiót mutatott, majd ugyanazon myogén tónust megtartotta 120 Hgmm-ig (a CBF autoregulációs tartománnyal átfedve). Magasabb nyomásokon a myogén tónus csökkent, az artériák dilatáltak. A fiatal hipertóniás egerek MCA-ja 160 mmHg-ig csaknem ugyanazon a szinten megtartotta myogén tónusát. Idős egerek MCA-jának myogén válasza nem mutatott hipertónia-indukált adaptív növekedést magas nyomásértékeken.

Az intraluminális áramlás növekedése fiatal egerek MCA-jában összehúzódot okozott, a konstriktiót hipertónia szignifikánsan növelte. Ezzel szemben, öreg hipertóniás egerek MCA-ja elhanyagolható áramlás-indukálta konstriktiót mutatott.

A 20-HETE és a TRPC6 szerepe idős állatok artéria cerebri mediájának funkcionális adaptációjában hipertóniára

Fiatál hipertóniás egerek agyi ereinek (MCA) fokozott myogén tónusát szignifikánsan gátolta a HET0016 és az SKF96365 hozzáadása, megszüntetve a különbségeket a négy csoport között. Sem a HET0016, sem az SKF96365 nem változtatta meg szignifikánsan az öreg hipertóniás egerek MCA-jának myogén tónusát. Fiatál egerek artéria cerebri mediájában a hipertónia jelenléte fokozta CYP 4A ω -hydroxylázok (*Cyp4a12*, *Cyp4a10* és *Cyp4a14*) és a TRPC6 csatorna expresszióját. Idős hipertóniás egerekben a fokozott expresszió nem volt megfigyelhető.

Fokozott vér-agy gát (BBB) zavar idős hipertóniás állatokban

Szignifikánsan magasabb nátrium-fluoreszcein jelet detektáltunk idős hipertóniás állatok hippocampusában, agykérgében és fehérállományában, mint a többi vizsgálati csoportban. A plazma eredetű IgG festése szignifikánsan perivaszkuláris IgG szaporulatot mutatott az öreg hipertóniás egerek hippocampusában.

Az öregedés fokozza a hipertónia-indukálta pericyta lefedettség csökkenést és a kapillárisok ritkulását

Fiatál egerekben a hipertónia szignifikáns csökkenést okozott a kapilláriok pericyta lefedettségében és a pericyták relatív számában. Mindkét érték idős hipertóniás egerekben szignifikánsan nőtt. A relatív hipertónia-indukálta csökkenés idős egerek kapilláris denzitásában szignifikánsan nagyobb volt mint fiatal egerekben.

Az öregedés fokozza a hipertónia-indukálta hippocampalis gyulladást és oxidatív stresszt

Az öregedés fokozta a hippocampusban az aktivált microgliák számát. Hipertónia jelenléte a számot szignifikánsan növelte. A megfigyelt sejtszám növekedés asszociált volt

pro-inflammációs citokinek és kemokinek fokozott expressziójával idős hipertóniás egerek hippocampusában (MCP-1, TNF α , IP-10). Az öregedés fokozta a hipertónia-indukálta hippocampalis 5-nitrotirozin szintet.

Az öregedés fokozza a hippocampus függő tanulási folyamatok hipertónia-indukálta károsodását

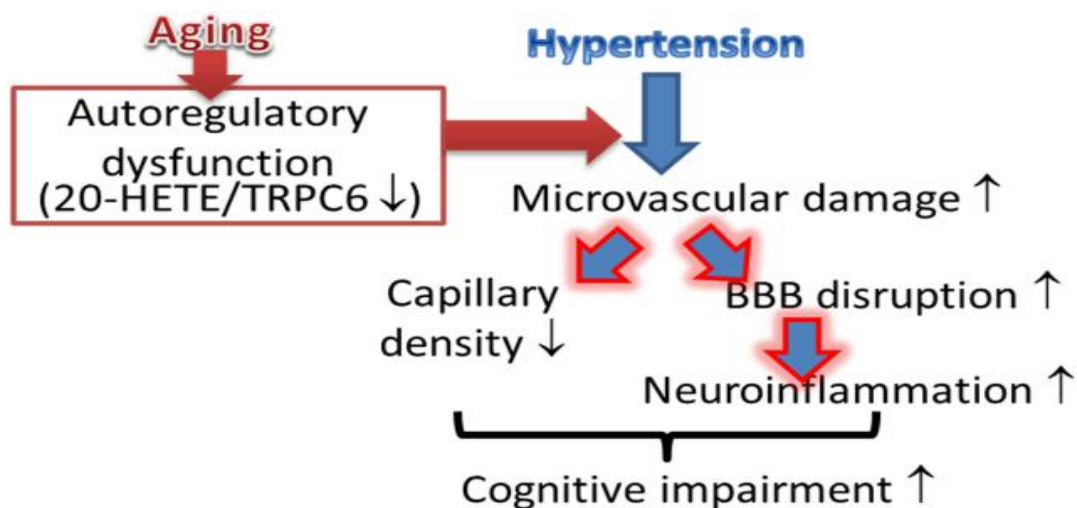
Fiatal kontrol egerekben, a transfer latency érték szignifikánsan csökkent a 2. napon összehasonlítva az 1. nappal, jelezve az intakt tanulási folyamat meglétét (tanulási index: 1). A tanulási index a fiatal hipertóniás egerekben (~0.7) és az öregek egerekben (~0.67) is csökkent, de nem mutatott szignifikáns eltérést. Idős hipertóniás egerek azonos transfer latency értéket mutattak az első és a második napon jelezve a tanulási folyamat hiányát (tanulási index: ~0).

II.5. Megbeszélés

Az agyi keringés jellegzetessége, hogy a proximális, nagyobb arteriáknak (pl. MCA) jelentős szerepe van a cerebrovaszkuláris rezisztencia meghatározásában, ezáltal védelmet nyújtanak a disztális mikrokeringésnek.¹⁶ Mint már említettem (ld. 1 rész), egészséges fiatal állatokban a nyomás-indukálta myogén konstriktó alapvető homeosztatisz mechanizmusként megakadályozza, hogy a megemelkedett artériás vérnyomás a sérülékeny mikrokeringésre tevődjön.^{5, 75} Adaptív mechanizmusként az agyi mikrocirkuláció védelme érdekében fiatal hipertóniás egerek és patkányok myogén konstriktója fokozott, ennek köszönhetően az autoregulációs tartomány nagyobb nyomások felé tolódik ki, biztosítva a zavartalan agyi véráramlást.^{6, 78, 5, 6, 73-75} Jelen eredményeink alapján idős hipertóniás állatok agyi erei nem mutatnak a fiatal állatokéhoz hasonló adaptív myogén konstriktót.

Amint az 1. részben bemutattuk, a myogén választ kiegészítve az agyi erek áramlás-indukálta konstriktója is részt vesz az agyi autoreguláció folyamatában.^{7, 79} Jelen vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a myogén konstriktóhoz hasonlóan fiatal hipertóniás állatokban az áramlás-indukálta konstriktó is fokozott, ami valószínűleg az agyi artériák hipertóniában megjelenő adaptív autoregulációs mechanizmusának egy másik komponense. Az öregedés ezt az adaptív választ is károsítja. Összességében, időskori hipertóniában az agyi mikrokeringést védő vaszkuláris mechanizmusok sérülnek.

Erdményeink azt sugallják, hogy a 20-HETE/TRPC6 szignalizációs útvonal aktivációja áll a fiatal hipertóniás állatokban megfigyelt fokozott érválaszok hátterében, és ezen útvonal aktivációjának hiánya vezet az idős hipertóniás állatok csökkent válaszaikhoz. Ezt a következő adatok támogatják: fiatal hipertóniás állatok 20-HETE mediált myogén konstriktója magas nyomástartományban (150-160 Hgmm) fokozott, valószínűleg a vaszkuláris citokróm P450 ω -hydroxiláz enzimrendszer fokozott expressziójának köszönhetően. A 20-HETE függő adaptív érválasz hiányzik idős hipertóniás állatokban. Korábbi tanulmányok eredményei szerint a 20-HETE-indukálta símaizom konstriktót részben TRPC6 csatornák közvetítik⁸⁰ hozzájárulva agyi erek myogén konstriktójához.⁸¹ Ezzel összhangban, a citokróm P450 ω -hydroxiláz enzimekhez hasonlóan fiatal hipertóniás állatok agyi ereiben a TRPC6 csatorna is fokozottan expresszált, és gátlásával a fokozott funkcionális válasz blokkolható. A fokozott expresszió nincs jelen idős hipertóniás állatok agyi ereiben, valamint azok nyomás-indukálta válaszeit a TRPC6 gátlása nem befolyásolja. Mivel az áramlás-indukálta konstriktó túlnyomórészt 20-HETE mediált, ezen útvonal diszregulációja az agyi autoreguláció áramlás-indukálta komponensét is károsítja idős hipertóniás állatokban.^{7, 62}



3. ábra. Feltételezett vaszkuláris kórelletani mechanizmusok: Tartósan magas nyomás hatására idős állatokban a 20-HETE/TRPC6 útvonal nem kellően aktiválódik, ami a CBF autoreguláció diszfunkciójához vezet. Ennek köszönhetően fokozódik a hipertónia-indukálta agyi mikrovaskuláris károsodás és vér-agy gát zavar, neuroinflammációhoz és kognitív zavarhoz vezetve.

Eredményeink bizonyítékkal szolgálnak arról, hogy idős hipertóniás állatok autoregulációs diszfunkciója jelentős cerebromikrovaskuláris károsodáshoz vezet. A hiányzó autoregulációs védelemnek köszönhetően a magas vérnyomás valószínűleg eléri a mikrocirkulációt és a vér-agy gát károsodását okozza. A pericyták a vér-agy gát fontos összetevői. Ez alapján feltételezhető, hogy a hipertónia-indukálta pericyta pusztulás hozzájárul a vér-agy károsodásához. Mivel a pericyták nagyon érzékenyek az oxidatív állapot megváltozására, a hipertónia és öregedés által fokozott oxidatív stressz a pericyta pusztulás egyik oka lehet. A pericyták szintén fontos szerepet játszanak az agyi kapilláris architektúra kialakításában, ezért feltételezhető, hogy károsodásuk a látott kapilláris fogyatkozásban is szerepet játszik.

Eredményeink azt mutatják, hogy idős hipertóniás állatokban a vér-agy gát diszruptiója plazma IgG extravazációt eredményez valamint fokozott neuroinflammációhoz vezet. A microglia eredetű pro-inflammációs citokinek, kemokinek és proteázok (pl. MMP) különböző kórelletani helyzetekben neurodegeneráció és diszfunkció okozói lehetnek.⁸² Ez alapján az általunk talált neuroinflammáció hozzájárulhat a hipertónia-indukálta neurális diszfunkcióhoz idős állatokban. Ezt a feltevést erősítik eredményeink, melyek szerint idős hipertóniás állatok szignifikánsan csökkent tanulási képességet mutatnak kontroll idős, fiatal valamint fiatal hipertóniás állatokhoz képest.

Mivel korábbi kutatásainkban kimutattuk, hogy humán agyi erek hemodinamikai erőkre adott válaszai hasonlóak a patkány agyi erek válaszához, feltehető, hogy hasonló vaszkuláris és kognitív kórfolyamatok találhatóak emberekben is idős korban, különösen, amikor hipertónia is jelen van. Ezért kutatásainknak fontos klinikai vonatkozásai is vannak.

II.6. A II. rész tézisei

- 1) **Fiatal hipertóniás egerek agyi artériái fokozott nyomás- és áramlás-indukálta konstriktiót mutatnak,**
- 2) **ezen vaszkuláris adaptációért a 20-HETE/TRPC6 útvonal felerősödése felelős.**
- 3) **A hipertóniában létrejövő adaptív vazomotor válaszoknak köszönhetően fiatal egerek képesek az agyi véráramlás autoregulációját nagy nyomás értékek felé eltolni.**
- 4) **Idős hipertóniás állatok nem mutatnak fokozott nyomás- és áramlás-indukálta agyi érválaszokat,**
- 5) **ennek következtében az autoregulációs adaptáció hiányzik idős hipertóniás állatokban. Ennek köszönhetően:**
- 6) **idős hipertóniás állatokban fokozott vér-agy gát zavar található;**
- 7) **idős hipertóniás állatokban csökkent agyi kapilláris sűrűség, perycita szám és vaszkuláris lefedettség található;**
- 8) **idős hipertóniás állatokban fokozott neuroinflammáció található, amelyek**
- 9) **idős hipertóniás állatokban fokozott kognitív/tanulási diszfunkcióhoz vezetnek.**

III. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI (IF: 41.336)

A tézis a következő publikációkon alapul:

1. **Toth P**, Rozsa B, Springo Z, Doczi T, Koller A. Isolated human and rat cerebral arteries constrict to increases in flow. Role of 20-HETE and TXA₂ receptors. *J Cereb Blood Flow Metab.* (10):2096-105. 2011 (**IF:5.008**)
2. Koller A. and **Toth P**. Contribution of flow-dependent vasomotor mechanism to the autoregulation of cerebral blood flow. *J Vasc Res.* 49(5):375-89. 2012 (**IF:2.65**)
3. **Toth P**, Tucsek Z, Sosnowska D, Gautam T, Mitschelen M, Tarantini S, Deak F, Koller A, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z. Age-related autoregulatory dysfunction and exacerbation of microvascular injury in mice. 2013 submitted

További közlemények:

4. **Toth P**, Koller A, Pusch G, Bosnyak E, Szapary L, Komoly S, Marko L, Nagy J, Wittmann I. Microalbuminuria, indicated by total versus immunoreactive urinary albumins in acute ischemic stroke patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 20(6):510-516. 2011 (**IF: 1.680**)
5. **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.* 2012 *in press* (**IF:4.409**)
6. Bailey-Downs LC, Mitschelen M, Sosnowska D, **Toth P**, Pinto JT, Ballabh P, Valcarcel-Ares MN, Farley J, Koller A, Henthorn JC, Bass C, Sonntag WE, Ungvari Z, Csiszar A. Liver-specific knockdown of IGF-1 decreases vascular oxidative stress resistance by impairing the Nrf2-dependent antioxidant response: A novel model of vascular aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 67(4):313-29. 2012 (**IF:4.598**)
7. Bailey-Downs LC, Sosnowska D, **Toth P**, Mitschelen M, Gautam T, Henthorn J, Ballabh P, Koller A, Farley J, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z. Growth hormone and IGF-1 deficiency exacerbates high fat diet-induced endothelial impairment in obese Lewis dwarf rats: implications for vascular aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 67(6):553-64. 2012 (**IF:4.598**)

8. Csiszar A, Sosnowska D, Tucsek Z, Gautam T, **Toth P**, Losonczy G, Colman RJ, Weindruch R, Anderson RM, Sonntag WE, Ungvari Z. Circulating factors induced by caloric restriction in the nonhuman primate *Macaca Mulatta* activate angiogenic processes in endothelial cells. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012 Aug 17. *In press* (IF: 4.598)
9. Tucsek Z, Gautam T, Sonntag WE, **Toth P**, Saito H, Salomao R, Szabo Cs, Csiszar A, Ungvari Z. Aging exacerbates microvascular endothelial damage induced by circulating factors present in the serum of septic patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012 *in press* (IF:4.598)
10. Bailey-Downs LC, Tucsek Z, **Toth P**, Sosnowska D, Gautam T, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z. Aging exacerbates obesity-induced oxidative stress and inflammation in perivascular adipose tissue in mice: a paracrine mechanism contributing to vascular redox dysregulation and inflammation. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012 *in press* (IF:4.598)
11. Ungvari Z, Tucsek Z, Sosnowska D, **Toth P**, Gautam T, Podlutzky A, Csiszar A, Losonczy G, Valcarcel-Ares NM, Sonntag WE, Csiszar A. Aging-induced dysregulation of Dicer1-dependent microRNA expression impairs angiogenic capacity of rat cerebrovascular endothelial cells. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012 *in press* (IF:4.598)

Idézhető absztraktok

1. Degrell P, Molnar L, Pollak E, **Toth P**, Molnar GA, Nagy J, Wittmann I. Ultrastructural localization and pathophysiological importance of the IgA deposits of the mesangial matrix in IgA nephropathy. *Act Phys Hun* 93(2-3): 165-166. 2006.
2. Degrell P, Kellermayer M, Berta G, **Toth P**, Fincsur A, Gyomrei Cs, Molnar GA, Nagy J, Wittmann I. Exact localization of fibrinogen-fibrin using laser scanning confocal microscopy in various renal disease and its importance. *Act Phys Hun* 94(4): 341. 2007.
3. **Toth P**, Halmai R, Marko L, Bosnyak E, Toth M, Bagoly E, Szapary L, Wittmann I, Nagy J, Koller A, Komoly S. Manifestation of systemic vascular disease: microalbuminuria and renal dysfunction in acute stroke. *J Vasc Res*. 45 (suppl 2) 119; 2008.
4. **Toth P**, Toth J, Marki A, Racz A, Veresh Z, Koller A. In vitro methods to investigate the vasomotor activity of microvessels. *J Vasc Res*. 45 (suppl 2) 114; 2008.
5. Halmai R, Fesus G, **Toth P**, Koller A, Wittmann I. Water-soluble components of cigarette smoke elicits endothelium independent relaxation of rat renal arteries. *J Vasc Res*. 45 (suppl 2) 118; 2008.
6. Banga P, Racz A, Veresh Z, **Toth P**, Marki A, Koller A. Temperature substantially modulates the basal tone of arterioles. *J Vasc Res*. 45(suppl 2) 109; 2008.
7. **Toth P**, Halmai R, Marko L, Bosnyak E, Toth M, Bagoly E, Szapary L, Wittmann I, Nagy J, Koller A, Komoly S. Evaluation of kidney function and microalbuminuria in patients with acute stroke. *Act Phys Hun* 96(1): 140-140. 2009.
8. **Toth P**, Koller A, Marko L, Halmai R, Bosnyak E, Szapary L, Komoly S, Nagy J, Wittmann I. Correlation between acute stroke and microalbuminuria. Potential role of underlying systemic microvascular endothelial disease. *FASEB J*. 23:613.9. 2009.
9. **Toth P**, Vamos Z, Rozsa B, Hamar J, Komoly S, Koller S. Flow/Shear-Stress induced constrictions of rat middle cerebral artery. „Works and views in endothelium dependent vasodilation”. Iasi, Romania, may 13-14. 2009.
10. **Toth P**, Koller A, Marko L, Halmai R, Bosnyak E, Szapary L, Komoly S, Nagy J, Wittmann I. HPLC is more sensitive to assess urinary albumin than nephelometry in acute stroke patients. *FASEB J*. 23:613.10. 2009.
11. Halmai R, Szijjártó I, Brasnyó P, Fésüs G, **Toth P**, Pusch G, Koller A, Wittmann I. Water extracts of cigarette smoke elicit smooth muscle dependent relaxation of rat renal arteries. Water extracts of cigarette smoke elicit smooth muscle dependent relaxation of rat renal arteries. *FASEB J*. 23:804.23. 2009.
12. **Toth P**, Vamos Z, Rozsa B, Tekus E, Cseplo P, Hamar J, Komoly S, Koller A. Increases in flow/shear stress elicit constrictions of small cerebral arteries. *Act Phys Hun* 97(1): 144-145. 2010.
13. Springo Z, **Toth P**, Komoly S and Koller A (2010). Flow/shear stress-induced responses are opposite in cerebral arteries of different locations. *Frontiers in Neuroscience. Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010*. doi: 10.3389/conf.fnins.2010.10.00130

14. **Toth P**, Vamos Z, Springo Z, Komoly S, Doczi T, Koller A. Flow/shear stress-induced constriction of rat middle cerebral artery. *FASEB J.* 976.1 2010
15. Marki A, Gara A, Veresh Z, Seress L, **Toth P**, Koller A. Role of endothelial surface layer in mediation of flow-induced dilation of isolated arterioles. *FASEB J.* 975.15. 2010
16. Koller A, **Toth P**, Rozsa B, Cseplo P, Hamar J, Vamos Z. Aging-induced changes in angiotensin II-induced contractions and tachyphylaxis of isolated carotid arteries. *FASEB J.* 775.1. 2010.
17. Vamos Z, Cseplo P, Koller H, Degrell P, Hamar J, **Toth P**, Koller A. Functional availability of vascular angiotensin type 1 (AT1) receptors is altered by aging *FASEB J.* 25:635.2. 2011.
18. Bailey-Downs LC, Mitschelen M, Sosnowska D, Valcarcel-Ares NM, **Toth P**, Koller A, Gautam T, Pinto J, Henthorn J, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z. Liver-specific knockdown of IGF-1 decreases vascular oxidative stress resistance by impairing the Nrf2-dependent antioxidant response *FASEB J.* 25:1093.6. 2011
19. **Toth P**, Doczi T, Koller A. Both human and rat cerebral arteries constrict to increase in intraluminal flow. A novel aspect of the autoregulation of cerebral blood flow *FASEB J.* 25:815.2. 2011
20. **Toth P**, Csiszar A, Sosnowska D, Sonntag WE, Ungvari Z, Koller A. In hypertension CYP450A metabolite 20-HETE exacerbates flow-induced arteriolar constriction and promotes cerebrovascular inflammation. *FASEB J.* 26:853.24. 2012
21. **Toth P**, Tucsek Z, Baley-Downs L, Sosnowska D, Gautam T, Sonntag WE, Ungvari Z, Csiszar A. High fat diet-induced obesity promotes cerebrovascular autoregulatory dysfunction in aged mice. *FASEB J.* 26:685.30. 2012
22. Tucsek Z, Gautam T, Sonntag WE, **Toth P**, Csiszar A, Saito h, Szabo C, Ungvari Z. Aging exacerbates microvascular endothelial damage induced by inflammatory factors present in the circulation during sepsis. *FASEB J.* 2012 26:1058.11. 2012
23. Bailey-Downs LC, Sosnowska D, **Toth P**, Mitschelen M, Gautam T, Henthorn J, Ballabh P, Koller A, Farley J, Sonntag WE, Ungvari Z, Csiszar A. Growth hormone and IGF-1 deficiency exacerbate high fat diet-induced endothelial impairment in obese Lewis dwarf rats: implications for vascular aging *FASEB J* March 29, 2012 26:1057.12
24. Springo Z, **Toth P**, Cseplo P, Szijjarto G, Koller A. The nature and mediation of flow-induced responses of cerebral arteries depends on the origin of vessels. *Cardiovascular Research* 93: p. S33. 2012

IV. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet szeretném kifejezni mentoromnak, Koller Ákos professzornak, aki mindig a nyitott de kritikus gondolkodásra tanított (nem csak a tudományban). Hálás vagyok folyamatos támogatásáért, nem csak mint mentor, de mint barát is.

Szeretném megköszönni Ungvári Zoltán és Csiszár Anna professzoroknak, hogy “második mentoraim” voltak, akik mindig abban segítettek, hogy a saját utamon járjak, és megtanították hogyan lehet ötleteket és asszociációkat tudományos projektekre lefordítani.

Köszönöm Komoly Sámuel professzornak munkám indulásában nyújtott segítségét, valamint Dóczi Tamás professzornak az értékes kooperációt.

Hálával gondolok a néhai Gabor Kaley professzorra, aki lehetővé tette, hogy a New York Medical College-ban dolgozzam, és akinek személyében a vaszkuláris biológia legendás alakját ismerhettem meg. Köszönöm William E. Sonntag professzornak hogy támogatott és munkámat lehetővé tette a University of Oklahoma Health Sciences Center-ben.

Köszönöm minden kollégámnak és munkatársamnak Pécsen (Dr. Vámos Zoltán, Dr. Springó Zsolt, Dr. Rózsa Bernadett, Dr. Cséplő Péter, Szommer Zsuzsanna Dalma), New York-ban (Dr. Fehér Attila, Dr. Nazar Labinsky, Dr. John G. Edwards, Jamie Matthews) és Oklahoma City-ben (Dr. Tucsek Zsuzsanna, Dr. Danuta Sosnowska, Dr. Lora Baley-Downs, Tripti Gautam, Matthew Mitschelen, Julie Farley, Judy Kranz) a segítséget és támogatást.

Végül szeretném megköszönni a családomnak: szüleimnek, akik emberségre, tisztességre és alázatra neveltek; testvéreimnek és barátaimnak, akik úgy szeretnek, ahogy vagyok; és végül de leginkább feleségemnek, Nikinek, aki minden nap egy kicsit jobb emberré tesz.

A szerzőt az American Heart Association posztdoktori ösztöndíja támogatja. További támogatás: the American Federation for Aging Research, the Oklahoma Center for the Advancement of Science and Technology, the NIH, the Ellison Medical Foundation, the Hungarian National Science Research Fund OTKA, the MHT (Hungary) and the Nemzeti Fejlesztési Ügynökség (TÁMOP).

Irodalomjegyzék

- Schaller B, Graf R. Different compartments of intracranial pressure and its relationship to cerebral blood flow. *J Trauma*. 2005;59:1521-1531
- Lassen NA, Christensen MS. Physiology of cerebral blood flow. *Br J Anaesth*. 1976;48:719-734
- Schaller B, Graf R. Different compartments of intracranial pressure and its relationship to cerebral blood flow. *J Trauma*. 2005;59:1521-1531
- Kontos HA. Regulation of the cerebral circulation. *Annu Rev Physiol*. 1981;43:397-407
- Kontos HA, Wei EP, Navari RM, Levasseur JE, Rosenblum WI, Patterson JL, Jr. Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *Am J Physiol*. 1978;234:H371-383
- Osol G, Halpern W. Myogenic properties of cerebral blood vessels from normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1985;249:H914-921
- Toth P, Rozsa B, Springo Z, Doczi T, Koller A. Isolated human and rat cerebral arteries constrict to increases in flow: Role of L20-hete and tp receptors. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2011;31:2096-2105
- Lucas SJ, Herlan YC, Galvin SD, Thomas KN, Ogoh S, Ainslie PN. Influence of changes in blood pressure on cerebral perfusion and oxygenation. *Hypertension*. 2010;55:698-705
- Rosenblum WI. Autoregulatory plateau: Does it exist? *J Cereb Blood Flow Metab*. 1995;15:174-177
- Pohl U, de Wit C. A unique role of NO in the control of blood flow. *News Physiol Sci*. 1999;14:74-80
- Pohl U, Herlan K, Huang A, Bassenge E. EDRF-mediated shear-induced dilation opposes myogenic vasoconstriction in small rabbit arteries. *Am J Physiol*. 1991;261:H2016-2023
- Sun D, Huang A, Koller A, Kaley G. Flow-dependent dilation and myogenic constriction interact to establish the resistance of skeletal muscle arterioles. *Microcirculation*. 1995;2:289-295
- Ungvari Z, Koller A. Selected contribution: No released to flow reduces myogenic tone of skeletal muscle arterioles by decreasing smooth muscle Ca²⁺ sensitivity. *J Appl Physiol*. 2001;91:522-527; discussion 504-525
- Ayata C, Dunn AK, Gursoy OY, Huang Z, Boas DA, Moskowitz MA. Laser speckle flowmetry for the study of cerebrovascular physiology in normal and ischemic mouse cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24:744-755
- Bellapart J, Fraser JF. Transcranial doppler assessment of cerebral autoregulation. *Ultrasound Med Biol*. 2009;35:883-893
- Faraci FM, Heistad DD. Regulation of large cerebral arteries and cerebral microvascular pressure. *Circ Res*. 1990;66:8-17
- Faraci FM, Heistad DD. Regulation of the cerebral circulation: Role of endothelium and potassium channels. *Physiol Rev*. 1998;78:53-97
- Faraci FM, Mayhan WG, Heistad DD. Segmental vascular responses to acute hypertension in cerebrum and brain stem. *Am J Physiol*. 1987;252:H738-742
- Lunn V, Fog M. The reaction of the pial arteries to some cholin-like and adrenalin-like substances. *J Neurol Psychiatry*. 1939;2:223-230
- MacKenzie ET, Farrar JK, Fitch W, Graham DI, Gregory PC, Harper AM. Effects of hemorrhagic hypotension on the cerebral circulation. I. Cerebral blood flow and pial arteriolar caliber. *Stroke*. 1979;10:711-718
- MacKenzie ET, Strandgaard S, Graham DI, Jones JV, Harper AM, Farrar JK. Effects of acutely induced hypertension in cats on pial arteriolar caliber, local cerebral blood flow, and the blood-brain barrier. *Circ Res*. 1976;39:33-41
- Magun JG. 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*. 1973;204:107-134
- Mueller SM, Heistad DD, Marcus ML. Total and regional cerebral blood flow during hypotension, hypertension, and hypocapnia. Effect of sympathetic denervation in dogs. *Circ Res*. 1977;41:350-356
- Zaharchuk G, Mandeville JB, Bogdanov AA, Jr., Weissleder R, Rosen BR, Marota JJ. Cerebrovascular dynamics of autoregulation and hypoperfusion. An MRI study of CBF and changes in total and microvascular cerebral blood volume during hemorrhagic hypotension. *Stroke*. 1999;30:2197-2204; discussion 2204-2195
- Cipolla MJ. *The cerebral circulation*. San Rafael (CA); 2009.
- Bayliss WM. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol*. 1902;28:220-231
- Fog M. The relationship between the blood pressure and the tonic regulation of the pial arteries. *J Neurol Psychiatry*. 1938;1:187-197
- Forbes HS. Regulation of the cerebral vessels; new aspects. *AMA Arch Neurol Psychiatry*. 1958;80:689-695
- McHedlishvili G. Physiological mechanisms controlling cerebral blood flow. *Stroke*. 1980;11:240-248
- Vinall PE, Simeone FA. Cerebral autoregulation: An in vitro study. *Stroke*. 1981;12:640-642
- Koller A, Bagi Z. On the role of mechanosensitive mechanisms eliciting reactive hyperemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H2250-2259
- Koller A, Sun D, Huang A, Kaley G. Corelease of nitric oxide and prostaglandins mediates flow-dependent dilation of rat gracilis muscle arterioles. *Am J Physiol*. 1994;267:H326-332
- Koller A, Sun D, Kaley G. Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Circ Res*. 1993;72:1276-1284
- Cipolla MJ, Gokina NI, Osol G. Pressure-induced actin polymerization in vascular smooth muscle as a mechanism underlying myogenic behavior. *Faseb J*. 2002;16:72-76
- Osol G, Brekke JF, McElroy-Yaggy K, Gokina NI. Myogenic tone, reactivity, and forced dilatation: A three-phase model of in vitro arterial myogenic behavior. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283:H2260-2267
- Wallis SJ, Firth J, Dunn WR. Pressure-induced myogenic responses in human isolated cerebral resistance arteries. *Stroke*. 1996;27:2287-2290; discussion 2291
- Garcia-Roldan JL, Bevan JA. Flow-induced constriction and dilation of cerebral resistance arteries. *Circ Res*. 1990;66:1445-1448
- Garcia-Roldan JL, Bevan JA. Augmentation of endothelium-independent flow constriction in pial arteries at high intravascular pressures. *Hypertension*. 1991;17:870-874
- Ngai AC, Winn HR. Modulation of cerebral arteriolar diameter by intraluminal flow and pressure. *Circ Res*. 1995;77:832-840
- Shimoda LA, Norins NA, Jeutter DC, Madden JA. Flow-induced responses in piglet isolated cerebral arteries. *Pediatr Res*. 1996;39:574-583
- Shimoda LA, Norins NA, Madden JA. Responses to pulsatile flow in piglet isolated cerebral arteries. *Pediatr Res*. 1998;43:514-520
- Thorin-Trescases N, Bevan JA. High levels of myogenic tone antagonize the dilator response to flow of small rabbit cerebral arteries. *Stroke*. 1998;29:1194-1200; discussion 1200-1191

43. Bryan RM, Jr., Marrelli SP, Steenberg ML, Schildmeyer LA, Johnson TD. Effects of luminal shear stress on cerebral arteries and arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H2011-2022
44. Madden JA, Christman NJ. Integrin signaling, free radicals, and tyrosine kinase mediate flow constriction in isolated cerebral arteries. *Am J Physiol.* 1999;277:H2264-2271
45. Gaw AJ, Bevan JA. Flow-induced relaxation of the rabbit middle cerebral artery is composed of both endothelium-dependent and -independent components. *Stroke.* 1993;24:105-109; discussion 109-110
46. Drouin A, Thorin E. Flow-induced dilation is mediated by akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide in mouse cerebral arteries. *Stroke.* 2009;40:1827-1833
47. Drouin A, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Belanger E, Fernandes P, Baraghis E, Lesage F, Gillis MA, Villeneuve L, Hamel E, Ferland G, Thorin E. Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 300:H1032-1043
48. Ungvari Z, Pacher P, Kecskemeti V, Koller A. Fluoxetine dilates isolated small cerebral arteries of rats and attenuates constrictions to serotonin, norepinephrine, and a voltage-dependent Ca^{2+} channel opener. *Stroke.* 1999;30:1949-1954
49. Racz A, Veresh Z, Lotz G, Bagi Z, Koller A. Cyclooxygenase-2 derived thromboxane a_2 and reactive oxygen species mediate flow-induced constrictions of venules in hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis.* 208:43-49
50. Fink B, Laude K, McCann L, Doughan A, Harrison DG, Dikalov S. Detection of intracellular superoxide formation in endothelial cells and intact tissues using dihydroethidium and an hplc-based assay. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;287:C895-902
51. Harper SL, Bohlen HG, Rubin MJ. Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats. *Am J Physiol.* 1984;246:H17-24
52. Fujii K, Heistad DD, Faraci FM. Flow-mediated dilatation of the basilar artery in vivo. *Circ Res.* 1991;69:697-705
53. Fujii K, Heistad DD, Faraci FM. Role of the basilar artery in regulation of blood flow to the brain stem in rats. *Stroke.* 1991;22:763-767
54. Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature.* 2010;468:232-243
55. Iadecola C, Yang G, Ebner TJ, Chen G. Local and propagated vascular responses evoked by focal synaptic activity in cerebellar cortex. *J Neurophysiol.* 1997;78:651-659
56. Bari F, Louis TM, Busija DW. Effects of ischemia on cerebral arteriolar dilation to arterial hypoxia in piglets. *Stroke.* 1998;29:222-227; discussion 227-228
57. Raisis JE, Kindt GW, McGillicuddy JE, Giannotta SL. The effects of primary elevation of cerebral venous pressure on cerebral hemodynamics and intracranial pressure. *J Surg Res.* 1979;26:101-107
58. Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, Ellis-Davies GC, MacVicar BA. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature.* 2008;456:745-749
59. Mayhan WG, Faraci FM, Heistad DD. Disruption of the blood-brain barrier in cerebrum and brain stem during acute hypertension. *Am J Physiol.* 1986;251:H1171-1175
60. Gebremedhin D, Lange AR, Narayanan J, Aebly MR, Jacobs ER, Harder DR. Cat cerebral arterial smooth muscle cells express cytochrome p450 4a2 enzyme and produce the vasoconstrictor 20-hete which enhances l-type Ca^{2+} current. *J Physiol.* 1998;507 (Pt 3):771-781
61. Harder DR, Gebremedhin D, Narayanan J, Jefcoat C, Falck JR, Campbell WB, Roman R. Formation and action of a p-450 4a metabolite of arachidonic acid in cat cerebral microvessels. *Am J Physiol.* 1994;266:H2098-2107
62. Gebremedhin D, Lange AR, Lowry TF, Taheri MR, Birks EK, Hudetz AG, Narayanan J, Falck JR, Okamoto H, Roman RJ, Nithipatikom K, Campbell WB, Harder DR. Production of 20-hete and its role in autoregulation of cerebral blood flow. *Circ Res.* 2000;87:60-65
63. Yu M, Cambj-Sapunar L, Kehl F, Maier KG, Takeuchi K, Miyata N, Ishimoto T, Reddy LM, Falck JR, Gebremedhin D, Harder DR, Roman RJ. Effects of a 20-hete antagonist and agonists on cerebral vascular tone. *Eur J Pharmacol.* 2004;486:297-306
64. Dunn KM, Renic M, Flasch AK, Harder DR, Falck J, Roman RJ. 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.* 2008;295:H2455-2465
65. Bryan RM, Jr., Steenberg ML, Marrelli SP. Role of endothelium in shear stress-induced constrictions in rat middle cerebral artery. *Stroke.* 2001;32:1394-1400
66. Terashvili M, Pratt PF, Gebremedhin D, Narayanan J, Harder DR. Reactive oxygen species cerebral autoregulation in health and disease. *Pediatr Clin North Am.* 2006;53:1029-1037, xi
67. Escalante B, Sessa WC, Falck JR, Yadagiri P, Schwartzman ML. Vasoactivity of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is dependent on metabolism by cyclooxygenase. *J Pharmacol Exp Ther.* 1989;248:229-232
68. Schwartzman ML, Falck JR, Yadagiri P, Escalante B. Metabolism of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid by cyclooxygenase. Formation and identification of novel endothelium-dependent vasoconstrictor metabolites. *J Biol Chem.* 1989;264:11658-11662
69. Brickman AM, Reitz C, Luchsinger JA, Manly JJ, Schupf N, Muraskin J, DeCarli C, Brown TR, Mayeux R. Long-term blood pressure fluctuation and cerebrovascular disease in an elderly cohort. *Arch Neurol.* 2010;67:564-569
70. Reitz C, Tang MX, Manly J, Mayeux R, Luchsinger JA. Hypertension and the risk of mild cognitive impairment. *Arch Neurol.* 2007;64:1734-1740
71. Kuller LH, Lopez OL, Jagust WJ, Becker JT, DeKosky ST, Lyketsos C, Kawas C, Breitner JC, Fitzpatrick A, Dulberg C. Determinants of vascular dementia in the cardiovascular health cognition study. *Neurology.* 2005;64:1548-1552
72. Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, Powers WJ, DeCarli C, Merino JG, Kalaria RN, Vinters HV, Holtzman DM, Rosenberg GA, Wallin A, Dichgans M, Marler JR, Leblanc GG. National institute of neurological disorders and stroke-canadian stroke network vascular cognitive impairment harmonization standards. *Stroke.* 2006;37:2220-2241
73. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1990;2:161-192
74. Strandgaard S, Jones JV, MacKenzie ET, Harper AM. Upper limit of cerebral blood flow autoregulation in experimental renovascular hypertension in the baboon. *Circ Res.* 1975;37:164-167
75. Harper SL, Bohlen HG. Microvascular adaptation in the cerebral cortex of adult spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1984;6:408-419
76. Kontos HA, Wei EP, Raper AJ, Rosenblum WI, Navari RM, Patterson JL, Jr. Role of tissue hypoxia in local regulation of cerebral microcirculation. *Am J Physiol.* 1978;234:H582-591
77. Smeda JS. Cerebral vascular changes associated with hemorrhagic stroke in hypertension. *Can J Physiol Pharmacol.* 1992;70:552-564

78. New DI, Chesser AM, Thuraisingham RC, Yaqoob MM. Cerebral artery responses to pressure and flow in uremic hypertensive and spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284:H1212-1216
79. Koller A, Toth P. Contribution of flow-dependent vasomotor mechanisms to the autoregulation of cerebral blood flow. *J Vasc Res.* 2012;49:375-389
80. Inoue R, Jensen LJ, Jian Z, Shi J, Hai L, Lurie AI, Henriksen FH, Salomonsson M, Morita H, Kawarabayashi Y, Mori M, Mori Y, Ito Y. Synergistic activation of vascular trpc6 channel by receptor and mechanical stimulation via phospholipase c/diacylglycerol and phospholipase a2/omega-hydroxylase/20-hete pathways. *Circ Res.* 2009;104:1399-1409
81. Welsh DG, Morielli AD, Nelson MT, Brayden JE. Transient receptor potential channels regulate myogenic tone of resistance arteries. *Circ Res.* 2002;90:248-250
82. Kaneko YS, Nakashima A, Mori K, Nagatsu T, Nagatsu I, Ota A. Microglial activation in neuroinflammation: Implications for the etiology of neurodegeneration. *Neurodegener Dis.* 2012;10:100-103
83. Gao HM, Liu B, Zhang W, Hong JS. Critical role of microglial nadph oxidase-derived free radicals in the in vitro mptp model of parkinson's disease. *Faseb J.* 2003;17:1954-1956