

Újfajta neuroprotektív stratégiák krónikus agyi hipoperfúziós modellben
patkányban

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Institoris Ádám



Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Élettani Intézet

Szeged

2008

Bevezetés

A demencia a nyugati társadalmakat érintő, növekvő gyakoriságú népbetegség, ahol a betegek kognitív hanyatlása károsítja az életminőséget, és súlyos terhet ró a társadalomra és az egészségügyi elátórendszerre. Számos demenciával járó klinikai kórkép (pl. Alzheimer-kór [AD], vaszkuláris demencia, Binswanger betegség) kezdeti fázisában kimutatható az agyi perfúzió tartós csökkenése, ami feltehetőleg a betegség kialakulásához is hozzájárul. Az agyi hipoperfúzióval összefüggő kognitív zavarok számos kardiovaszkuláris krízisállapot során (pl. pitvarfibrilláció, miokardiális infarktus, nyitott szívműtét) is megfigyelhetők. A demenciákban tapasztalt krónikus agyi hipoperfúzió és a neurodegeneratív folyamat ok-okozati összefüggése nem tisztázott, ezért a csökkent agyi vérátáramlás kísérletes vizsgálatára alkalmas módszereknek nagy jelentőségük van a kognitív tüneteket mérséklő vagy megelőző neuroprotektív stratégiák kifejlesztésében.

A két artéria (a.) carotis communis tartós lekötése (2VO=’’two vessel occlusion’’) patkányban a Willis kör kompenzációja révén az előagyi struktúrák enyhe, de tartós vérátáramlás csökkenését eredményezi. A parietotemporális kéregben és számos fehérállomány (WM)-i területen 60-70%-os, a hippokampuszban 40%-os vérátáramlás csökkenés tapasztalható közvetlenül 2VO-t követően, mely 8 hét-3 hónap elteltével közel az eredeti perfúziós értékre tér vissza. Ezzel együtt átmenetileg fellépő energiaellátási zavar és tartósan csökkent metabolikus aktivitás jelentkezik. A következményes szöveti károsodáshoz gyulladáshoz reakció és feltehetőleg az oxidatív stressz is hozzájárul. Szövettanilag, 2VO-t követően enyhe neuronpusztulás, dendritkárosodás, valamint a gyulladáshoz utaló asztrocita proliferáció és mikroglia aktiváció figyelhető meg a hippokampuszban, a kéregben és több WM-i területen. A krónikus agyi hipoperfúzió következményeként számos tanulási teszttel is igazolható progresszív térbeli tanulásromlás figyelhető meg mind a hipoperfúzió korai (~2 hét), mind késői fázisában (>3 hónap). A 2VO-t követő neuronkárosodás és gyulladáshoz reakció mérséklése hatékony lehet a kognitív tünetek megelőzése céljából.

Az idegsejtek iszkémiás károsodásában a mitokondriumok diszfunkciójának központi szerepe van. Az iszkémiás prekondicionálás során rövid szubletális iszkémiás inzultusok kivédik egy későbbi, egyébként letális iszkémiás epizód hatását. A folyamatért a mitokondriumok belső membránjában található mitokondriális ATP-szenzitív K^+ (mitoK_{ATP}) csatornák kinyílását tartják felelősnek, ami a légzési lánc védelmét okozza és számos adaptív mechanizmust indít el. A mitoK_{ATP} csatornanyitó diazoxid (DIAZ) előkezelésként alkalmazva

számos *in vitro* iszkémiás kísérletben és *in vivo* iszkémia/reperfúziós modellben is neuroprotektívnek bizonyult. A vegyület tartósan fennálló iszkémia során, illetve a klinikailag relevánsabb utókezelésként alkalmazva hatását korábban még nem vizsgálták.

A ciklooxygenáz (COX) enzimek által termelt prosztanoidok fontos szerepet játszanak az agyi vérkeringés szabályozásában. A COX-1 izoforma konstitutív termelődése révén vesz részt az agyi értónus fenntartásában, a COX-2 enzim elsősorban iszkémia, illetve gyulladásos reakció során indukálódva toxikus prosztanoidok és szabadgyök termelés révén járul hozzá az iszkémiás neuronkárosodás kialakulásához. A szelektív COX-2 gátlók *in vitro* és több iszkémia/reperfúziós valamint stroke állatmodellben csökkentették az iszkémia indukálta neuronpusztulás mértékét és mérsékelték a gyulladásos reakciót.

Célkitűzések

Kísérleteink célja az volt, hogy megvizsgáljunk két, potenciálisan neuroprotektív gyógyszeres kezelés (a DIAZ és a szelektív/nem-szelektív COX gátlók) hatását 2VO-val létrehozott agyi hipoperfúzió különböző időpontjaiban (3 nap, 2 hét, 13 hét), patkányban.

Először leírtuk és összehasonlítottuk a 2VO által létrehozott térbeli tanulási zavart, a neuronkárosodást, dendritpusztulást, asztrocita proliferációt és mikroglia aktivációt a hippokampusz és néhány WM-i régió területén az agyi hipoperfúzió korai és késői szakaszában.

Másodszor, kíváncsiak voltunk a DIAZ esetleges jótékony hatására a 2VO modellben. Összevetettük a DIAZ előkezelés prekondicionáló hatását a DIAZ utókezelés hatásaival. Továbbá, megvizsgáltuk a DIAZ utókezelés és az oldószerként adott antitrombotikus hatású és szabadgyökfogyó dimetil-szulfoxid (DMSO) additív hatásait a 2VO modell késői fázisában (13 hét).

Harmadszor, teszteltük egy szelektív és egy nem-szelektív COX gátló (NS-398 és indometacin) hatását a térbeli tanulás és a szövettani elváltozások tekintetében 3 nappal és 2 héttel a 2VO után.

Anyagok és Módszerek

Műtéti eljárás és kísérleti csoportok

Kísérleteinkhez 242 hím Wistar patkányt használtunk. A kísérleteket a Szegedi Tudományegyetem Állatetikai Bizottságának engedélyével végeztük. Az állatok egyik részén intraperitoneális (i.p.) 5% klorál-hidrátos altatást követően 2VO-t végeztünk, másik része áloperált kontrollként szolgált (SHAM). Az állatokat a műtét, a kezelések és a túlélési idő alapján osztottuk csoportokba. Az első kísérletben a műtét után 13 hetes túlélés mellett vizsgáltuk az 5 napos posztoperatív i.p. DMSO (0,25 ml) és DMSO+DIAZ (5 mg/kg 0,25 ml-ben) kezelés hatásait 2VO és SHAM állatokon. Kontrollként kezeletlen állatok szolgáltak. A második kísérletben 2VO-t követő 2 hetes túlélési idő mellett alkalmaztunk 5 napos i.p. ismételt (5x0,5 mg/kg) vagy egyszeri bólus DIAZ előkezelést és ismételt (5x0,5 mg/kg) utókezelést 0,1N-os NaOH (0,25 ml) oldószerben oldva. A harmadik kísérlet során 3 nap és 2 hét posztoperatív túlélés mellett végeztünk indometacin (3 mg/kg, i.p.), NS-398 (15 mg/kg, i.p.) vagy oldószeres (0,5 ml 5% NaHCO₃) utókezeléseket 2VO és SHAM patkányokon. Az első injekciót közvetlenül a műtét után adtuk.

Kísérlet	Műtét (SHAM, 2VO)	Kezelés	Túlélési idő	Szövettan					
				Morris water-maze	Krezil-ibolya	COX-2 immuno	MAP-2 immuno	GFAP immuno	OX-42 immuno
1	SHAM 2VO	C (kezeletlen)	13 hét	+		+		+	+
		DMSO		+		+		+	+
		DMSO+DIAZ		+		+		+	+
2	SHAM 2VO	C (NaOH)	2 hét	+	+			+	+
		DIAZ utó		+	+			+	+
		DIAZ elő		+	+			+	+
		DIAZ elő bólus		+	+			+	+
3	SHAM 2VO	C (NaHCO ₃)	3 nap 2 hét	+	+		+	+	+
		indometacin		+	+		+	+	+
		NS-398		+	+		+	+	+

A csoportok és a vizsgált paraméterek összefoglalója a 3 kísérletben. Rövidítések: 2VO: kétoldali artéria carotis communis okklúzió; C: kontroll; COX: ciklooxygenáz; DMSO: dimetil-szulfoxid; DIAZ: diazoxid; GFAP: gliális fibrilláris acidikus protein; immuno: immuncitokémia; MAP-2: mikrotubulus asszociált fehérje-2; elő: előkezelés; utó: utókezelés; SHAM: áloperált kontroll.

Térbeli tanulási teszt

A kísérleti protokolloknak megfelelően az állatokat 1 héttel illetve 11 héttel a műtétet követően a Morris vízi útvesztőben (watermaze) [MM] teszteltük 5 napon keresztül, naponta kétszer. A MM lényege, hogy az állatoknak 2 perc alatt kell megtalálniuk a kör alakú, 160 cm

átmérőjű, vízzel töltött medencében, egy 2 cm-el a vízfelszín alá rejtett platót. A tájékozódást standard kép és hangforrás segítette. Azokat az állatokat, amelyek nem találták meg 2 perc alatt a platót, odavezettük. A patkányok minden próba végén 15 mp-et töltöttek a platón. Az úszás során megtett távolságot és az úszási időt regisztráltuk egy számítógépes képalkotó analizáló rendszerrel.

Szövetteni vizsgálatok

3 nap, 2 hét vagy 13 héttel az operációt követően az állatokat 5%-os klorál-hidrátal i.p. túlaltattuk, 4%-os paraformaldehiddel perfundáltuk és az agyakat eltávolítottuk. Értékeljük a 13 hetet túlélő állatok hippokampusz és kéreg lézióinak gyakoriságát, majd minden agyból fagyasztó mikrotommal 20 µm vastag frontális metszeteket készítettünk. A 3 nap és 2 hét túlélésű csoportból származó metszetek egy részén krezil-ibolya festést végeztünk. E mellett a kísérleti protokollnak megfelelően (lásd táblázat) immunhisztokémiai módszerrel jelöltük a COX-2 pozitív neuronokat, mikrotubulus asszociált fehérje-2 (MAP-2) jelöléssel a denritpusztulást, gliális fibrilláris acidikus protein (GFAP) jelöléssel az asztrocita proliferációt és OX-42 jelöléssel a mikroglia aktivációt.

Mennyiségi morfometria

A krezil-ibolyával festett metszetekről 40x-es nagyítás mellett fényképet készítettünk a hippokampusz CA1 és CA3 piramissejt rétegéről és a gyrus dentatus (DG) szemcsesejt rétegéről. A második kísérletben piramissejt számolást végeztünk a hippokampusz CA1-es régiójában egy optikai rács segítségével. A harmadik kísérletben a három sejtréteg károsodásának gyakoriságát szemikvantitatív módszerrel értékeltük. Az első kísérletben meghatároztuk a COX-2 pozitív sejtdenzitást a CA3 piramissejt- és a DG szemcsesejt rétegeiben. A MAP-2 jelölt metszeteken a CA3 stratum (str.) lucidumban a jelölt terület százalékos lefedettségét határoztuk meg a teljes területre nézve. A GFAP-pozitív és az OX-42-pozitív metszeteken ugyancsak a százalékos lefedettséget mértük a hippocampus régióiban, a corpus callosum és a capsula interna területén. A tractus opticus területén relatív optikai denzitást mértünk.

Statisztikai analízis

A MM eredményeinek statisztikai értékeléséhez kétszemponos ismételt mérések varianciaanalízist (ANOVA), majd a least significant difference (LSD) *post hoc* tesztet végeztük. A MM-ben elvett úszási próbák százalékos arányát az összes próba arányában,

valamint a hippokampális sejtréteg károsodást mutató állatok gyakoriságát chi négyzet próbával hasonlítottuk össze a kísérleti csoportok között. A MAP-2, GFAP és OX-42 immunhisztokémia eredményeit kétutas vagy háromutas ANOVA-val értékeltük a műtét, túlélési idő és kezelések alapján, majd LSD *post hoc* tesztet végeztünk.

Eredmények

Térbeli tanulási teszt

A MM térbeli tanulási tesztben a SHAM állatok úszási távolsága az egymást követő próbák során csökkent, mind 2 héttel, mind 13 héttel az operációt követően, míg a 2VO állatok szignifikánsan rosszabbul teljesítettek mindkét időpontban. Hasonló eredményt tapasztaltunk az elvétett próbák arányában is. A DMSO kezelés önmagában is, de különösen a DIAZ utókezeléssel együtt, kivédte a tanulási zavart 13 héttel a 2VO után. Mind az ismételt, mind a bólus DIAZ előkezelés csökkentette a hipoperfúzió okozta térbeli tanulásromlást 2 héttel a műtétet követően, míg az utókezelés hatástalan volt NaOH oldószer alkalmazása mellett. A COX-2 gátló NS-398 megelőzte a 2VO állatok tanulási zavarát, de az indometacin kezelés statisztikailag hatástalan volt.

Neuronkárosodás, dendritpusztulás és makroszkópos agyi lézió

A hippokampusz CA1 régiójának piramissejt rétegében a lekötést követő 2 hétben progresszív sejtréteg károsodást és enyhe mértékű (7%-os) sejtpusztulást tapasztaltunk. A CA3 és a DG sejtrétegeiben a károsodás 2VO után 3 nappal gyakoribb volt, mint 2 hét elteltével (37,5% vs 20%). 13 héttel a 2VO-t követően az állatok kétharmada mutatott makroszkópos hippokampusz léziót, szövettanilag pedig szignifikánsan alacsonyabb COX-2 pozitív szemcsesejt denzitást találtunk a DG területén. A MAP-2 jelölés a hippokampusz CA3 str. lucidumában a 2VO hatására progresszív dendritpusztulást mutatott. A DIAZ előkezelés kivédte a CA1 piramissejt pusztulást a 2VO után 2 héttel. A DIAZ+DMSO kezelés csökkentette a makroszkópos hippokampusz léziók gyakoriságát a 2VO-t követően 13 héttel. Mindemellett a DMSO kezelés önmagában is mérsékelte a COX-2 pozitív szemcsesejt pusztulást a DG területén. A NaOH-ban oldott DIAZ utókezelésként hatástalan volt. Az indometacin kezelés növelte a CA1 és CA3-ban a nekrotikus sérülés gyakoriságát 3 nappal (50-60%) a 2VO után, 2 hét (0%) elteltével azonban már nem tudtunk léziót detektálni. Az NS-398 a DG-ben fokozta a lézió gyakoriságát (100%), de a CA3-ban csökkenést okozott a

kontroll 2VO állatokhoz képest (0% vs 20%). Egyik COX gátló kezelés sem befolyásolta a MAP-2 pozitív dendritsérülés mértékét.

Asztrocita proliferáció

A GFAP pozitív asztrociták proliferációját a hippocampusz területén minden túlélési időpontban kiértékeltek, a corpus callosum, a capsula interna és a tractus opticus területén csak 13 héttel a 2VO után vizsgáltuk. 2VO-t követően 3 nappal és 2 héttel a hippocampuszban még nem jelentkezett változás, de 11 héttel később már csökkent GFAP-jelölődést tapasztaltunk. Az asztrocita proliferáció a corpus callosum és a capsula interna területén nem változott, a tractus opticusban növekedés jelentkezett. A DIAZ utókezelésként adva fokozta a hippocampusz CA1 régiójának GFAP jelölődését 2 héttel a 2VO után, míg 13 hétnél a DMSO-val együtt csökkentette a GFAP szignált, de csak a corpus callosum területén. Az indometacin kezelés nem befolyásolta, ugyanakkor az NS-398 fokozta az asztrocita proliferációt 2VO után 3 nappal a hippocampusz CA1 területén.

Mikroglia aktiváció

Az OX-42 pozitív mikroglia aktivációját ugyanúgy vizsgáltuk, mint az asztrocita proliferációt. A hippocampusz területén a hipoperfúzió első 2 hetében nem tapasztaltunk OX-42 jelfokozódást. Tizenegy héttel később a 2VO állatok mikroglia aktivációja már szignifikánsan magasabb volt a CA1 régióban, mint a SHAM állatok esetén. Mindemellett a mikroglia aktiváció a corpus callosum és a tractus opticus területén is jelentősen emelkedett. A DIAZ előkezelés nem változtatta meg a mikroglia aktiváció mértékét, míg az utókezelés megduplázta az OX-42 jelölődést a hippocampusz CA1 régióban. Ugyanakkor 2VO után 13 héttel a DMSO-ban adott DIAZ utókezelés csökkentette a mikroglia aktivációt a hippocampusz és a corpus callosum területén. A DMSO kezelés önmagában a tractus opticusban mérsékelte az OX-42 festődés mértékét. A mikroglia aktiváció mértékét a COX gátló kezelések nem befolyásolták.

Összefoglalás és megbeszélés

A 2VO-val létrehozott krónikus agyi hipoperfúzió hatásai a vizsgált paraméterekre

Változások az agyi hipoperfúzió késői fázisában

Az első kísérlet során az agyi hipoperfúzió hatására jelentkező kognitív és hisztopatológiai eltérések az AD-ben tapasztalt károsodásokkal koherensek, ami arra utal,

hogy a károsodott agyi perfúzió iniciálhat progresszív gyulladást és neurodegeneratív folyamatot. Tizenegy héttel a 2VO-t követően szignifikáns tanulásromlást tapasztaltunk a MM tanulási tesztben. A hipoperfúziót követő 2 hétben csak mérsékelt neuronvesztést és dendritpusztulást tapasztaltunk a hippocampusban, amíg 13 héttel 2VO után már makroszkópos léziók is gyakran előfordultak, ami a folyamat progresszív jellegére utal. E mellett a COX-2 pozitív neuronszám csökkenés a DG-ben a memóriakárosodással függhet össze. A 2VO modell késői fázisában az asztrocita proliferáció régióspecifikusan csak a tractus opticus és a corpus callosum területén emelkedett, ami hasonló az AD-ben leírt változásokhoz. Ez arra utal, hogy az asztrocita proliferáció mértéke valószínűleg a hipoperfúzió súlyosságával függ össze. A fokozott mikroglia aktiváció a hippocampus és a WM területén a fennálló gyulladással összefüggő reakciót jelzi.

Változások az agyi hipoperfúzió korai fázisában

A krónikus agyi hipoperfúzió korai időszaka és az akut szisztémás keringési zavarok során tapasztalt memóriazavarok párhuzamba állíthatók egymással, utóbbiak hátterében az iszkémiás neurohisztológiai eltérések nem ismertek. A második és harmadik kísérletsorozatokban a 2 hetes enyhe agyi iszkémia reprodukálható térbeli tanulási zavart okozott. Szöveti vizsgálatainkkal a hippocampus neuronrétegeinek enyhe és szelektív károsodását, valamint súlyosbodó dendritpusztulást mutattunk ki glia aktiváció nélkül.

A DIAZ kezelés hatásai

A DIAZ utókezelés anorganikus oldószer alkalmazásával a tanulásra és a neuronpusztulásra nézve nem mutatott jótékony hatást a hipoperfúzió első 2 hetében, ugyanakkor fokozta az iszkémiának kitett gliasejtek aktivációját a hippocampus területén. A DIAZ hatását az asztrocitákra és a mikrogliaira eddig nem tisztázták és az általunk tapasztalt aktiváció funkcionális jelentőségét nem sikerült igazolni. Ezzel szemben a DMSO-ban oldott, DIAZ-al kezelt állatok 13 hét elteltével is megőrizték a tanulási képességüket. A kezelés kivédte a makroszkópos léziók kialakulását és mérsékelte a mikroglia aktiváció mértékét a hippocampusban és a corpus callosum területén, ami a DMSO DIAZ-ot potenciáló hatására utal. A DMSO kezelés önmagában is mutatott neuroprotektív hatást. Mérsékelte a léziók gyakoriságát, kivédte a DG COX-2 pozitív szemcsejeteinek pusztulását, illetve a mikroglia aktivációt a tractus opticus területén. A neuroprotekciónak hátterében a DMSO jól ismert szabadgyök fogó és antitrombotikus hatásai állhatnak.

A DIAZ előkezelés szemben az utókezeléssel önmagában is neuroprotektívnek bizonyult a 2VO modellben. Mind az ismételt, mind a bólus előkezelés kivédte a tanulásromlást és a neuronpusztulást a hippocampusban. A memóriára gyakorolt jótékony hatását valószínűleg ismert idegsejt-prekondicionáló hatása révén hozta létre, amely megelőzte az iszkémiás neuronpusztulás kialakulását.

A COX gátlók hatásai

A harmadik kísérletsorozatban az NS-398 kezelés kivédte a tanulási zavart. Ugyanakkor mind az indometacin, mind az NS-398 káros hatást gyakorolt a hippocampus sejtrétegeire a SHAM és különösen a 2VO állatokban. A szerek nem befolyásolták a szinaptikus denzitást, az asztrocita proliferációt és a mikroglia aktivációt a hippocampus területén. Eredményeink indirekt módon utalnak arra, hogy a hippocampus sejtrétegeinek intakt állapota nem szükséges feltétele a térbeli tanulás folyamatának. Tehát a szelektív COX-2 gátlás vagy a túlélő hippocampus neuronok funkcióját őrizte meg, vagy a térbeli tanulásért felelős egyéb agyi struktúrákon fejtett ki védő funkciót a gyulladáshoz vezető reakció mérséklése és a fiziológiás COX-1 aktivitás megőrzése révén. A COX gátlás idegsejtekre gyakorolt káros hatása arra utal, hogy a COX-2 enzim által termelt egyes prosztanoidok fontosak lehetnek az iszkémiás károsodással szembeni védelemben.

Kísérleteinkből az alábbi következtetéseket vonhatjuk le. A $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ csatornanyitó DIAZ előkezelésként alkalmazva kivédi az agyi hipoperfúzióval összefüggő memóriazavart, ezért alkalmas lehet az előre prognosztizálható agyi keringési zavarok kognitív tüneteinek megelőzésére. A COX-2 enzim által mediált gyulladáshoz vezető reakció gátlása hatékonyan csökkentheti az agyi hipoperfúzió okozta térbeli tanulásromlást, ugyanakkor a COX-2 gátlók adása káros következményekkel is járhat az iszkémiás idegsejtek túlélése szempontjából.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Prof. Bari Ferencnek a laboratóriumában TDK hallgatóként és PhD hallgatóként eltöltött évek során nyújtott rengeteg türelméért, támogatásáért és biztatásáért, valamint hogy lehetővé tette számomra a tudományos kutatómunka végzését. Külön köszönet illeti Dr. Farkas Esztert, aki mentorként és barátként segített hallgató koromtól kezdve, megtanította a kísérleti módszereket, segítette tudományos gondolkodásom fejlődését és sokat segített a kéziratok elkészítésében is. Köszönöm továbbá neki a tézis elkészítéséhez nyújtott sok segítséget. Köszönöm Prof. Paul G. M. Luitennek,

hogy kétszer egy hónapot tölthettem Hollandiában a Groningeni Egyetem Molekuláris Neurobiológiai Intézetében az immunhisztokémiai munkák egy részének elvégzése céljából. Szeretném megköszönni az Élettani Intézet dolgozóinak, különösen a cerebrovaszkuláris laboratórium tagjainak a vidám pillanatok és a hétköznapi problémákban nyújtott segítséget. Köszönöm továbbá az Anatómiai Intézet dolgozóinak, hogy a munkám egy részét ott végezhettem, és a szövettani munkákban nyújtott segítséget. Köszönet illeti Prof. Toldi Józsefet, hogy lehetővé tette számunkra a tanulási tesztek elvégzését. Végül, köszönetet szeretnék mondani családomnak és barátaimnak, akik mindig támogattak engem.

A disszertáció alapjául szolgáló kéziratok

1. Farkas, E., Institóris, Á., Domoki, F., Mihály, A., Luiten, P.G.M. and Bari, F. (2004) Diazoxide and dimethyl sulphoxide prevent cerebral hypoperfusion-related learning dysfunction and brain damage after carotid artery occlusion. *Brain Res.*, 1008(2), 250-258.
2. Farkas, E., Annaházi, A., Institóris, Á., Mihály, A., Luiten, P.G.M., Bari, F. (2005) Diazoxide and dimethyl sulphoxide alleviate experimental cerebral hypoperfusion-induced white matter injury in the rat brain. *Neurosci. Lett.*, 373(3), 195-199.
3. Farkas, E., Domoki, F., Institóris, Á., Annaházi, A., Busija, D.W., Bari, F. (2006) Neuroprotection by diazoxide in animal models for cerebrovascular disorders. *Vasc. Dis. Prev.* 3, 253-263.
4. Farkas, E., Institóris, Á., Domoki, F., Mihály, A., Bari, F. (2006) The effect of pre- and post-treatment with diazoxide on the early phase of chronic cerebral hypoperfusion in the rat. *Brain Res.*, 1087, 168-174.
5. Institóris, A., Farkas, E., Berczi, S., Sule, Z., Bari, F. (2007) Effects of cyclooxygenase (COX) inhibition on memory impairment and hippocampal damage in the early period of cerebral hypoperfusion in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 574(1):29-38.
6. Institóris, Á., Domoki, F., Busija, D.W., Bari, F., (2008) The role of cyclooxygenase (COX)-2 in ischemic brain injury. *Recent Advances and New Strategies in Stroke Research* (Signpost, 2008 ed. F. Erdo) (nyomtatásban).