

Debreceni Orvostudományi Egyetem, Debrecen

Kísérletes Sebészeti Intézet¹

(igazgató: Furka István dr.)

BIOGAL Gyógyszergyár, Debrecen

Biológiai Kutató Osztály²

Debreceni Orvostudományi Egyetem

Patológiai Intézet³

(igazgató: Gomba Szabolcs dr.)

Urológiai Klinika⁴

(igazgató: Tóth Csaba dr.)

Kísérletes adatok az arteria renalis leszorítását követő érkontraktilitási változásokhoz

Mikó Irén dr.¹, Csabina Sándor dr.², Hauck Mátyás dr.¹,
Kovács Judit dr.³, Schmidt Emese¹, Pető Katalin dr.¹, Furka István dr.¹,
Varga Attila dr.⁴, Tóth György dr.⁴, Furka Andrea¹

ÖSSZEFOGLALÁS: Közismert, hogy az ischaemiát követő reperfúzió az érintett szervben túlmenően a szervet ellátó vérerekben is funkcionális és strukturális károsodásokat idézhet elő. Mivel a szervmegtartó veseműtéteknél az arteria renalis bizonyos idejű leszorítása elkerülhetetlen, várható, hogy a leszorítás megszüntetését követő reperfúzió olyan strukturális változásokat indukál az érfalban, amelyek az artériafunkció romlását is eredményezhetik. Szerzők állatkísérleteik során veseműtéteket szimulálva a bal oldali veseartériákat 30, 45, ill. 60 percre érfogóval puhán leszorították. A leszorítással párhuzamosan az állatok egy részénél perfúziós típusú regionális vénás vesehűtést végeztek egyidejű nephrotomia mellett, ahol a kifolyó hűtőoldat az arteria renalis lehűtését is biztosította. Néhány esetben a hűtést antioxidáns kezeléssel kombinálva alkalmazták. A 3. posztoperatív napon mindkét oldali veseartériát eltávolították, a jobb oldali ép artériák szolgáltak kontrollként. A funkcionális változások demonstrálására meghatározták az erek kontraktilitását jellemző noradrenalin dózis-hatás görbéket, majd ezek alapján ED₅₀ értékeket számítottak, amely szerint az ED₅₀ érték növekedéséből a kontraktilitás csökkenésére következtethettek. Megállapították, hogy 30 perces arteria renalis leszorítás mellett a hűtés önmagában is elegendő az ischaemia-reperfúzió okozta károsodások kivédésére. A 45 percig tartó leszorítás esetén a vese vénás hűtése mellett antioxidáns kezelés is szükséges az artériafunkció megtartására. A 60 perces leszorítás hypothermia és antioxidáns együttes alkalmazása mellett is már maradandó kontraktilitáscsökkenést eredményezett.

EXPERIMENTAL DATA CONCERNING INVESTIGATIONS OF CONTRACTILITY FOLLOWING THE CLAMPING OF THE RENAL ARTERY

SUMMARY: It has been well known that reperfusion following ischaemia may cause functional and structural damage not only to the organ involved but also the blood vessels supplying that organ. As in organ-sparing renal surgery it is inevitable to clamp the renal artery for some time, it is expected that reperfusion, following the lifting of clamping, causes structural changes in the vessel wall which may result in a decrease in arterial function. In our model experiments on animals, the left renal arteries were atraumatically clamped for 30, 45 and 60 minutes. Simultaneously with clamping, perfusion regional renal venous cooling was applied to some of the animals, together with nephrotomy. In some cases cooling was performed in combination with antioxidant treatment. On the 3rd postoperative day

renal arteries from both sides were removed, the right, intact ones serving as control. Nor-adrenaline dose effect curves characterizing vessel contractility and ED₅₀ values were determined to demonstrate functional changes. It was established that cooling the renal artery for only 30 minutes was enough to rule out the damage due to ischaemia-reperfusion. If clamping lasted for 45 minutes, venous cooling of the kidney in combination with antioxidant treatment was necessary to spare arterial function. Clamping for 60 minutes resulted in irreversible decrease in contractility even if hypothermia and antioxidant treatment were given simultaneously.

KEY WORDS: renal artery clamping, contractility, hypothermy, antioxidant treatment.

Bevezetés

Bizonyos veseműtéteknél az arteria renalis leszorítása elkerülhetetlen. A 30 perces vagy azt meghaladó veseartéria-leszorítást igénylő műtéteknél fennáll a meleg ischaemia-reperfúzió okozta vesekárosodás veszélye, ezért az ilyen műtéteket a vese regionális hűtése mellett végzik. A hűtés egyik módja a perfúziós vesehűtés, melynek során a vena renalis collateralis ágain keresztül hűtőfolyadékkal perfundálják a vesét az arteria renalis leszorítása és egyidejű nephrotomia mellett. Ez a hűtési technika, amely felületi hűtést is biztosít mind a vese, mind a veseartéria számára, akár 120-145 perces arteria renalis leszorítást is lehetővé tesz anélkül, hogy a veseparenchyma irreverzibilisen károsodna (5). Kevésbé ismert viszont, hogy a veseartéria különböző idejű reverzibilis, atraumatikus, ún. „puha” leszorításának hatására milyen típusú és milyen mértékű elváltozások alakulnak ki az érfalban. Kutatócsoportunk a különböző időtartamú érlelzorítások által előidézett strukturális és funkcionális veseartéria elváltozások vizsgálatát tűzte ki céljául. Az elváltozások mértékére az érpreparátumok kontraktilis sajátosságainak megváltozásából következtethetünk. Jelen közleményünkben ezeket az eredményeket ismertetjük. Az elváltozások típusának felderítésére irányuló fény- és elektronmikroszkópos morfológiai vizsgálatunkról egy másik dolgozatukban számolunk be.

Anyag és módszer

Műtéti technika:

Kísérleteinkhez 15–25 kg testtömegű, mindkét nembeli keverék kutyákat használtunk. Intramuscularisan adott Xylavet-Ketamin-narkózisban median laparotomiát követően izoláltuk a bal vesét, majd kiproparáltuk az arteria renalist, a vena renalist és annak collateralis ágát. Ezt követően az arteria renalist 30, 45 vagy 60 percre érfogóval puhán leszorítottuk. A kísérleti állatok egy részénél a veseartéria leszorításával egy időben a vena spermatica/ovaria internán keresztül perfundáltatott intracelluláris típusú Sacks-II, vagy Euro-Collins oldattal in situ vénás vese hypothermiát hoztunk létre a munkacsoportunk által korábban kidolgozott módszer szerint (5). Az állatok egy másik részénél az arteria renalis leszorítása és a vese vénás hűtése mellett egyidejű intravénás antioxidáns (MTDQ-DS) kezelést is alkalmaztunk. A 3. posztoperatív napon mindkét oldali veseartériát eltávolítottuk. Kontrollként minden esetben a jobb oldali, ép veseartériák szolgáltak.

Kísérleti csoportok:

1. csoport: kontroll, ép arteria renalis (K)
2. csoport: leszorított arteria renalis (LA)
3. csoport: leszorítás + regionális hypothermia (LA + HY)
4. csoport: leszorítás + regionális hypothermia + antioxidáns kezelés (LA + HY + AO)

Kontraktilitási vizsgálatok:

Az ép és leszorított veseartériák kontraktilitásának vizsgálata céljából az adventitiától gondosan megtisztított erekből 1,5–2,5 mm széles, 12–15 mm hosszú helikális csíkokat preparáltunk. Az artéria szegmenteket az Experimetria Kft. izolált szervi mérőrendszerének 37 °C-ra temperált, 95% O₂–5% CO₂ gázeleggyel buborékoltatott, fiziológias ion-összetételű sóoldatot tartalmazó szervfürdőjébe téve rögzítettük az izometriás érzékelőhöz. Az izomcsíkokat ezt követően olyan mértékben nyújtottuk meg, hogy preparátumokban ébredő passzív tenzió szimulálja az in vivo viszonyokra jellemző átlagos artériás nyomást (1, 2). Az artériapreparátumok kontrakciós képességét 10⁻⁸ – 10⁻³ mol/dm³ koncentráció tartományban noradrenalin által kiváltott aktív tenzióértékek összevetésével jellemeztük (4). A dózis-hatás görbékét úgy szerkesztettük meg, hogy az egyes noradrenalin-koncentrációkhoz tartozó tenzióértékeket az adott preparátum által generált maximális tenzió százalékában megadva a noradrenalin-koncentráció logaritmusának függvényében ábrázoltuk. A mérési pontokra nem lineáris regressziós eljárással szigmoid görbét illesztettünk, a görbe paramétereiből számítottuk ki az 50% tenzió indukálásához szükséges noradrenalin-koncentrációt jelentő ED₅₀ (effektív dózis)-értéket. A kontraktilitás csökkenését az ED₅₀ növekedése jelzi.

Eredmények

Az egyes kísérleti csoportokba tartozó érfal-simaizompreparátumok kontraktilis apparátusának ischaemia-reperfúzió hatására bekövetkező károsodását jól tükrözik az 1. ábrán feltüntetett ED₅₀-értékekben mutatkozó különbségek.

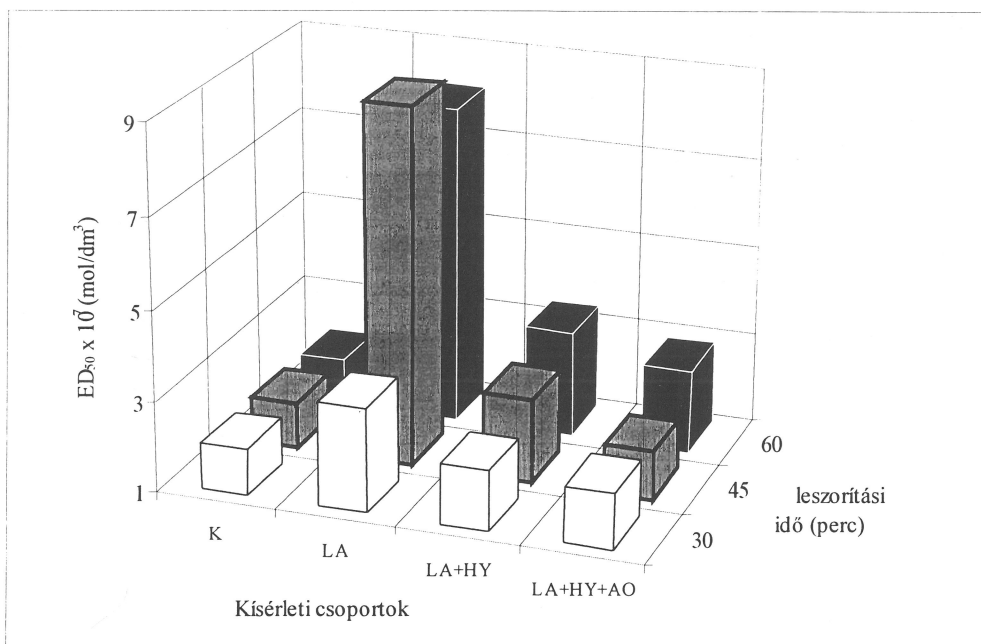
Az egyes oszlopok a műtétenként származó 2-2 érpreparátum ED₅₀-értékének átlagát reprezentálják. A kontrollérték az ellenoldali ép vese 25 preparátum átlageredményei.

1. csoport (K):

Az intakt preparátumok kontraktilitását jellemző noradrenalin ED₅₀-érték kísérleti körülményeik között 2×10^{-7} mol/dm³.

2. csoport (LA):

A 30 perces leszorítás több mint másfélszeresére növeli a kontrollpreparátumokhoz viszonyított ED₅₀-értéket. A 45, valamint 60 perces érleszorítások mintegy négyszeres ED₅₀-növekedést idéznek elő, azaz nagymértékű az érfalleszorítás miatt bekövetkező kontraktilitás csökkenése, az artériafunkció romlása kifejezett.



1. ábra. Veséartéria-preparátumok kontraktilitását jellemző noradrenalin ED₅₀-értékek ábrázolása a leszorítási idő függvényében

K: kontrollartéria, LA: leszorított artéria, HY: regionális hypothermia, AO: antioxidáns kezelés

3. csoport (LA + HY):

Ha az artérialeszorítással egy időben *in situ* vénás vesehűtésre is sor kerül, 30 perces érleszorításnál alig van eltérés a kontrollhoz képest: az ED₅₀-érték növekedése 115%-ra mérséklődik a csak leszorított, de nem hűtött preparátumot jellemző 163%-hoz képest, azaz a hypothermia védőhatása szignifikáns. 45 vagy 60 percig tartó érleszorításnál a hűtés már nem nyújt elegendő védelmet, a kontraktilitáscsökkenés 141%, illetve 166%-os.

4. csoport (LA+HY+AO):

Az *in situ* hűtéssel párhuzamosan alkalmazott intravénás antioxidáns kezelés eredményeik szerint nem jelent további védelmet rövid ideig tartó érleszorítás esetén. A 45 percig leszorított ereknél azonban szignifikáns ED₅₀-csökkenés figyelhető meg a csak hűtött preparátumokat jellemző ED₅₀-értékhez képest. 60 perces érleszorítás esetén a hűtés és antioxidáns kezelés együttes alkalmazása sem nyújt teljes védelmet az érfal kontraktilis apparátusának ischaemia-reperfúzió hatására bekövetkező károsodása ellen.

Megbeszélés

Ma már általánosan elfogadott az a nézet, miszerint az ischaemia-reperfúzió okozta szöveti károsodásokért oxigén eredetű szabadgyökök a felelősek. A szöveti károsodások kivédésének egyik kézenfekvő módja a szabadgyökképződés visszaszorítása

az ischaemia időtartamának csökkentése vagy hypothermia által. Egy másik lehetőség a már képződött szabadgyökök eliminálása antioxidáns kezelés révén (3). Kísérleteink során ezeket a lehetőségeket vizsgáltuk, eredményeinket az alábbiakban foglaljuk össze:

A veseműtéteknél szokásos arteria renalis leszorítás kiegészítő kezelések nélkül funkciómrlást: a veseartéria kontraktilitásának csökkenését idézi elő. Ha a veseartéria leszorítása nem haladja meg a 30 percet, akkor a kontraktilitás csökkenésében mutakozó artériakárosodás hypothermiával kivédhető. 45 perces veseartéria-leszorítás által előidézett igen jelentős artériakárosodás csak hűtés és antioxidáns kezelés egyidejű alkalmazásával akadályozható meg. Az arteria renalis 60 percig tartó leszorítása egyidejű regionális hűtés és antioxidáns kezelés mellett is jelentős mértékű veseartéria-károsodást okoz.

A kísérletes munka a Népjóléti Minisztérium T-06 198/93. nyilvántartású támogatásával valósult meg.

Irodalom

1. Csabina, S., Bárány, M., Bárány, K.: Comparison of myosin light chain phosphorylation in uterine and arterial smooth muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 1987; 87B: 271–277.
2. Csabina, S., Csongor, J., Kövér, J.: Characteristics of stretch-release induced tension development in arterial smooth muscle. *Acta Physiol. Hung.* 1995; 83: 289–298.
3. Forsyth, S. F., Guilford, W.G.: Ischaemia-reperfusion injury – a small animal perspective. *Br. Vet. J.* 1995; 151: 281–298.
4. Hauck, M. et al.: Effects of various arterial clamping periods on superoxide radical production, elastase activity and arterial smooth muscle contraction. In: *Chirurgische Forschung*, Eds: Uranüs S., Zuckschwerdt W. Verlag, München–Bern–Wien–New York, 1994: 133–138.
5. Mikó, I. et al.: Experimental in situ renal hypothermia through the renal vein. *Acta Chir. Hung.* 1985; 26: 253–258.