

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Magyar Zsuzsanna Sarolta

**Korai és késői távoli szervi ischaemiás preconditionálás hatásai
parciális máj ischaemia-reperfusio során patkánymodellben**

Témavezető:

Prof. Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2019

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1. A máj makroszkópos és mikroszkópos anatómiája.....	7
2.1.1. A máj sebészi anatómiája	7
2.1.2. A máj szövettani felépítése.....	9
2.1.3. A laboratóriumi patkány máj anatómiai felépítése	10
2.2. A mikrokeringés	13
2.3. Haemorheologiai paraméterek.....	14
2.3.1. Vörösvérsejt deformabilitás.....	15
2.3.2. Vörösvérsejt aggregatio	16
2.3.3. A haemorheologiai paramétereket befolyásoló kórfolyamatok.....	17
2.4. Az ischaemia-reperfusio	19
2.4.1. Ischaemia-reperfusió károsodás patofiziológiája.....	19
2.4.2. A máj ischaemia-reperfusio patomechanizmusa	21
2.4.3. Az ischaemia-reperfusio prevenció lehetőségei.....	23
2.4.4. A távoli szervi ischaemiás preconditionálás	24
3. CÉLKITŰZÉSEK	27
4. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	28
4.1. Kísérleti állatok, műtéti technika és mintavételi eljárás	28
4.2. Légzésszám, hőmérséklet.....	32
4.3. Hemodinamikai paraméterek	33
4.4. Microcirculatio monitorizálása.....	33
4.5. Laboratóriumi vizsgálatok.....	36
4.5.1. Sav-bázis paraméterek.....	36
4.5.2. Haematologiai paraméterek.....	36
4.5.3. Vörösvérsejt deformabilitás.....	37
4.5.4. Vörösvérsejt aggregatio	40
4.6. Szövettani vizsgálat.....	40
4.7. Statisztikai analízis	41
5. EREDMÉNYEK	42
5.1. Légzésszám, hőmérséklet.....	42
5.2. Hemodinamikai paraméterek	44
5.3. Microcirculatio	45

5.4. Laboratóriumi paraméterek	49
5.4.1. Sav-bázis paraméterek.....	49
5.4.2. Haematologiai paraméterek.....	50
5.4.3. Vörösvérsejt deformabilitás.....	52
5.4.4. Vörösvérsejt aggregatio	53
5.5. Szövettani vizsgálatok.....	56
6. MEGBESZÉLÉS.....	58
7. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.....	66
8. ÖSSZEFOGLALÁS/SUMMARY	67
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	69
9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	69
9.2. Az értekezés alapjául szolgáló és egyéb <i>in extenso</i> közlemények hitelesített listája	83
10. TÁRGYSZAVAK.....	85
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	86
12. FÜGGELÉK.....	87

Rövidítések jegyzéke

ATP	adenozin-trifoszfát
BFU	blood flux unit (véráramlási egység)
pCO ₂	parciális szén-dioxid nyomás
EI	elongatiós index
Fvs	fehérvérsejt
Htc	haematocrit
IL-10	interleukin-10
I/R	ischaemia-reperfusio
LD	lézer Doppler
MCH	mean corpuscular hemoglobin (átlagos vörösvérsejt haemoglobin)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció)
MCV	mean corpuscular volume (átlagos vörösvérsejt térfogat)
MOF	multiorgan failure (többszervi elégtelenség)
NO	nitrogén-monoxid
pO ₂	parciális oxigén nyomás
PAS	perjód-acid-schiff
PBS	phosphate buffered saline (foszfát puffer)
PVP	polyvinylpyrrolidone
RIPC	remote ischemic preconditioning (távoli szervi ischaemiás preconditionálás)
SS	shear stress (nyírófeszültség)
Thc	thrombocyta
VEGF	vascular endothelial growth factor (vascularis endoteliális növekedési faktor)
Vvs	vörösvérsejt

*„Az embernek hinnie kell abban,
hogy a megfoghatatlan megfogható,
különben felhagyna a kutatással.”*

(J.W. Goethe)

1. BEVEZETÉS

Részleges, vagy teljes máj ischaemia számos patofiziológiai folyamat során kialakul, mint például trauma, sokk következtében, vagy a májon végzett különböző műtéti beavatkozások és májtranszplantáció során (Fondevila és mtsai, 2003; Zhai és mtsai, 2011 és 2013). E műtétek során a beavatkozás szükséges velejárója lehet az ischaemia és a reperfusio kialakulása (Kim, 2003), hiszen a májat ellátó érkepletek ideiglenes leszorítása sokszor nélkülözhetetlen a műtét sikeres elvégzéséhez (Silva és mtsai, 2002; de Araújo és mtsai, 2005; Jakab, 2014).

Irodalmi adatok alapján jól ismert, hogy az ischaemia-reperfusio komoly szöveti károsodást eredményezhet, ami jelentősen befolyásolja a postoperatív morbiditást és mortalitást. Az ischaemia hatására felborul az egyensúly az oxigén és tápanyag ellátás és szükséglet között, ami hypoxiához és acidosishoz vezet. Az anaerob metabolizmus következtében nő a laktát koncentráció, ami csökkent intracelluláris pH-t eredményez. Az ischaemiás inzultust követően, a véráramlás újraindulása paradox módon fokozza a károsodás mértékét és további gyulladáshoz vezet (Carden és mtsai, 2000; Fondevila és mtsai, 2003; Zhai és mtsai, 2011 és 2013; Eltzschig és mtsai, 2011; Nomi és mtsai, 2015).

A folyamat következtében felszabadult szabadgyökök és mediátorok a mikrokeringést is befolyásolják. A micro-rheológiai paraméterek szoros összefüggésben állnak a mikrokeringés állapotával, a metabolikus változások, az oxidatív stressz pedig hatással lehetnek a vörösvérsejt aggregációra és vörösvérsejt deformabilitásra (Kayar és mtsai, 2001; Gori és mtsai, 2006; Baskurt, 2007; Baskurt és Meiselman, 2008; Németh és mtsai, 2014).

A parenchymás szervek sebészete során fellépő ischaemia-reperfúziós károsodást követően a haemorheológiai paraméterek változást mutatnak. A következményes micro- és macro-rheológiai eltérések a mikrokeringés állapotának megváltozásához és csökkent perfúzióhoz vezetnek (Baskurt, 2007; Németh és mtsai, 2018). A vörösvérsejtek csökkent deformabilitása a vérviszkózitás növekedését eredményezheti (Popel és Johnson, 2005; Lipowsky, 2005; Jung és Rampling, 2016). A fokozott vörösvérsejt aggregatio szintén növeli a vérviszkózitást és növeli az áramlási ellenállást. A sebészeti beavatkozások során fellépő patofiziológias változások kutatása során is kiemelt jelentőségű lehet a haemorheológiai paraméterek változásainak megismerése (Németh és mtsai, 2018).

Számos farmakológiai és sebészeti intervenciós módszer ismert az ischaemia-reperfúziós károsodás és az ehhez kapcsolódó postoperatív komplikációk mértékének megelőzésére és csökkentésére (Kupcsulik és Kokas, 1979; Selzner és mtsai, 2003; Gurusamy és mtsai, 2010; Eltzschig és mtsai, 2011; Jaeschke és mtsai, 2012). A szövetek ischaemiás toleranciájának növelésének egyik módszere a távoli szervi ischaemiás preconditionálás (remote ischemic preconditioning-RIPC), mely rövid idejű ischaemia-reperfúziós ciklusok alkalmazását jelenti az ischaemiát megelőzően, az ischaemiának kitett szervtől távol eső másik szervben, jellemzően végtagon. Az eljárás kedvező hatásai a kísérletes sebészetben bizonyítottak, azonban a terápiás hatás a klinikai gyakorlatban továbbra sem tisztázott (Heusch és mtsai, 2015; Pickard és mtsai, 2015; Krogstrup és mtsai, 2017).

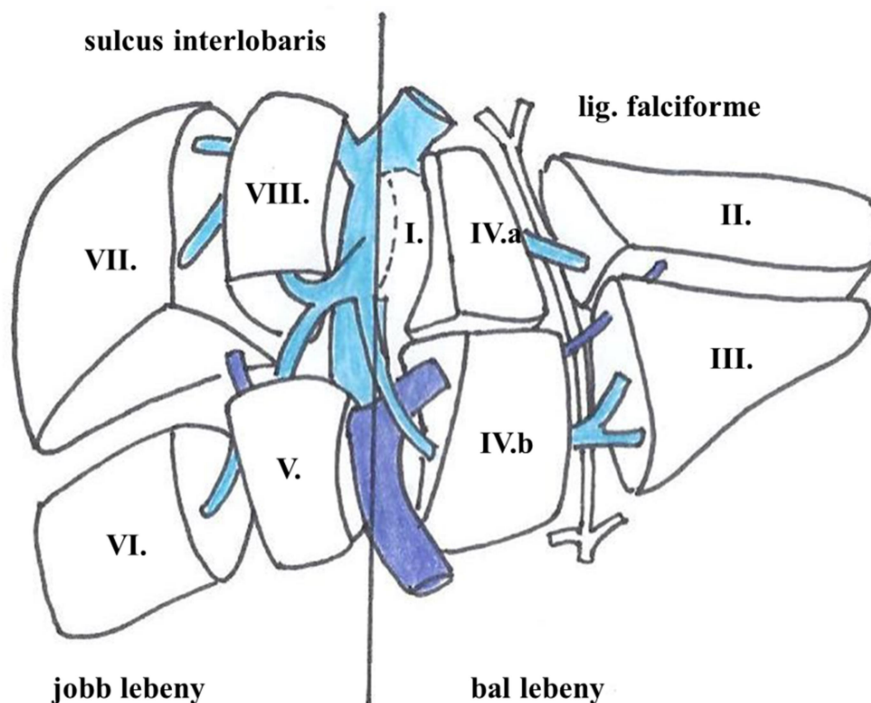
Ugyanakkor a folyamat hatásmechanizmusának részletei nem ismertek teljes mértékben. Nem rendelkezünk általánosan használható protokollal, nem ismert az sem, hogy mennyi idővel érdemes a célszervi ischaemia előtt végezni. Nem ismerünk irodalmi adatokat arra vonatkozóan sem, hogy milyen hatást gyakorol a távoli szervi ischaemiás preconditionálás a micro-rheológiai és a microcirculációs paraméterekre.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A máj makroszkópos és mikroszkópos anatómiája

2.1.1. A máj sebési anatómiája

Testünk legnagyobb mirigye a máj súlya megközelítőleg 1500-2000 g, mely egyetlen, folytonos parenchyma tömegből áll, a jobb hypochondriumban a rekesz jobb kupolájában fekszik. A máj mobilizálásával járó operációknál kiemelt jelentősége van a peritoneális kettőzetek által képzett szalagoknak (lig. coronarium, lig. triangulare dextrum et sinistrum, lig. falciforme, lig. teres hepatis). A máj felszínén elhelyezkedő szalagok tapadási vonalai és a visceralis felszín H alakú barázdarendszere alapján osztható fel a máj lebenyekre. A máj elülső felszínén tapadó lig. falciforme a májat jobb és bal lebenyre osztja fel. A májat mély barázdák osztják fel, Cantlie 1989-ban funkcionális szemlélet alapján osztotta fel a májat jobb és bal májféltre. A Rex-Cantlie-vonal az epehólyag fundusától a v. cava inferiorig húzódik.



1. ábra

A máj sebészeti anatómiája Couinaud alapján
(Gaál Csaba: Sebészet, 2012 alapján)

Az érstruktúra (v. portae, v. hepaticae) alapján a máj anatómiai egységének a segmentum tekinthető (Goldsmith és Woodburn, 1957). A három v. hepatica négy szektorra osztja a májat, melyekbe a v. portae egy-egy ága fut mindkét májfélbe a biliovascularis nyélen keresztül, így alakítva ki a máj nyolc segmentumát (Couinaud, 1954) (1. ábra).

A máj kettős vérellátású szerv, a májon átáramló vérmennyiség megközelítőleg 75%-át szállító v. portae a v. mesenterica superior és a v. lienalis egyesüléséből jön létre a pancreas colluma mögött. A májhilusba érkezve két ágra oszlik: egy széles rövid jobb ágra és egy hosszabb, keskenyebb bal ágra.

A másik tápláló ér, az a. hepatica a truncus coeliacusból ered. A májsejtek soha nem kapnak teljesen oxigenizált vért, mert a májparenchyma hepatocytáinak perfúziója előtt keveredik a két forrásból származó vér. Anatómiai lefutása igen változatos, a normális anatómia mindössze 55%-ban fordul elő (Jakab, 2014).

A máj sinusoidális keringésének gyűjtővénái a bal, középső illetve a jobb v. hepaticába szedődnek össze. A v. hepaticák a segmentumok között futnak, ismerete sebészeti szempontból is nélkülözhetetlen, hiszen véletlen lekötése az adott segment elhalásához vezet.

Az operációk elvégzéséhez szükséges vértelenség eléréséhez alkalmazzák a vascularis exclusiót. Az érkirekesztés a Báron-Pringle műfogással kivitelezhető, mely a ligamentum hepatoduodenale leszorítását jelenti (Pringle, 1908; Jakab, 2014). A módszer előnyeit és hátrányait a I. táblázat foglalja össze.

A máj működése nagymértékben függ a megfelelő oxigénellátottságtól, elsősorban magas energiaigénye és anoxiás, hypoxiás állapotokra való érzékenysége miatt (Kim és mtsai, 2005; Teoh, 2011). Az irodalmi adatok és a klinikai gyakorlat alapján az intermittáló ischaemia-reperfusio alkalmazása egy elfogadott eljárás, hiszen a májszövet akár 60 perc meleg ischaemiát is tolerálni képes. Freitas és munkatársai a módosított Pringle manőver alkalmazásával különböző időtartamú ischaemia-reperfúziós periódusok hatását vizsgálták,

megfigyeléseik alapján csak 30 perc ischaemia és az ezt követő 120 perces reperfusio után lépett fel májparenchyma necrosis, továbbá leírták, hogy csak hosszabb időtartamú ischaemia-reperfusio okoz kiterjedtebb vascularis congestiót, micro-vesiculákat és hydropicus degenerációt a májparenchymában (Freitas és mtsai, 2017).

I. táblázat A Báron-Pringle manőver alkalmazásának előnyei és hátrányai (Jakab, 2014)

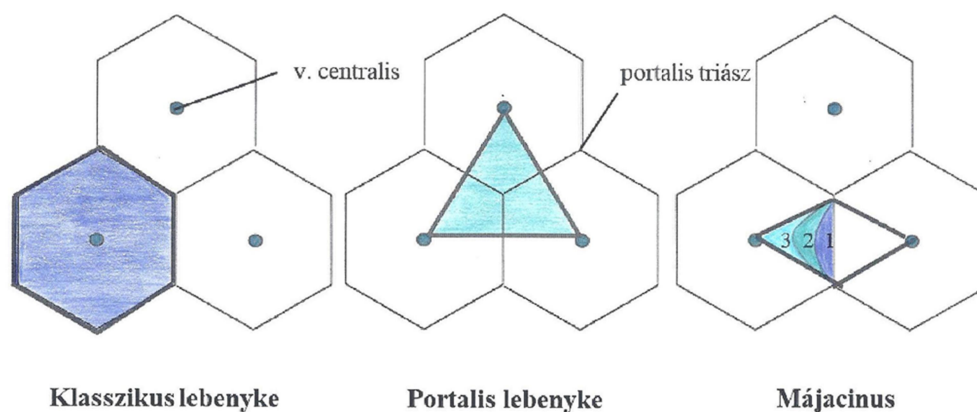
Előnyei	Hátrányai
Egyszerű, biztonságos, gyors	Ha az a. hepatica sinistra az a. gastrica sinistrából ered nincs teljes vértelenség
20 perc ischaemia után az egészséges máj 6 napon belül regenerálódik	A vv. hepaticae nincsenek lezárva
4x ismételhető (80 perc)	Magas centrális vénás nyomás
Teljes vérzéskontroll érhető el	Légembólia veszélye

2.1.2. A máj szövettani felépítése

A klasszikus májlebenyke (lobulus) a máj mikroszkópikus felépítésének fontos egysége. Az átmetszetében hatszögletű képlet közepén helyezkedik el a v. centralis, szögleiteinél fut az úgynevezett Glisson-triász (portális triász: v. portae, a. hepatica és az epeúrendszer ágai). A v. centralistól sugárirányban helyezkednek el egyetlen sejtrétegben a májsejtgerendák, melyek között találhatóak az egymással közlekedő, összefüggő rendszert alkotó májsinusok. A különleges szerkezeti felépítésnek köszönhetően a hepatocyták nagy felületen képesek érintkezni az őket körülvevő vérrel, és látják el feladatukat. A lebenyken belül három zónát különíthetünk el: periportális, középső és centrolubuláris zónák.

A portális lebenyke felépítésének alapjául a ductus interlobularis biliferi gyűjtőterülete szolgál. A háromszögletű egységek szögleiteinél találhatóak a v. centralisok és centrumában van a Glisson-triász.

A keresztmetszeti képen rombusz alakú Rappaport-féle májacinus a portális kiserektől való távolság alapján három zónára osztható. A zónáknak kitüntetett szerepe van ischaemia-reperfúziós károsodás során, hiszen a májsejtek pusztulása a v. centralishoz közel eső 3. zónában a legkifejezettebb. Az 1. zóna vérellátása a legjobb, itt a legintenzívebbek az anyagcsere-folyamatok, és a sejtek ellenállóbbak a hypoxiával szemben, továbbá a regenerációs potenciál is nagy (Rappaport, 1958) (2. ábra).



2. ábra

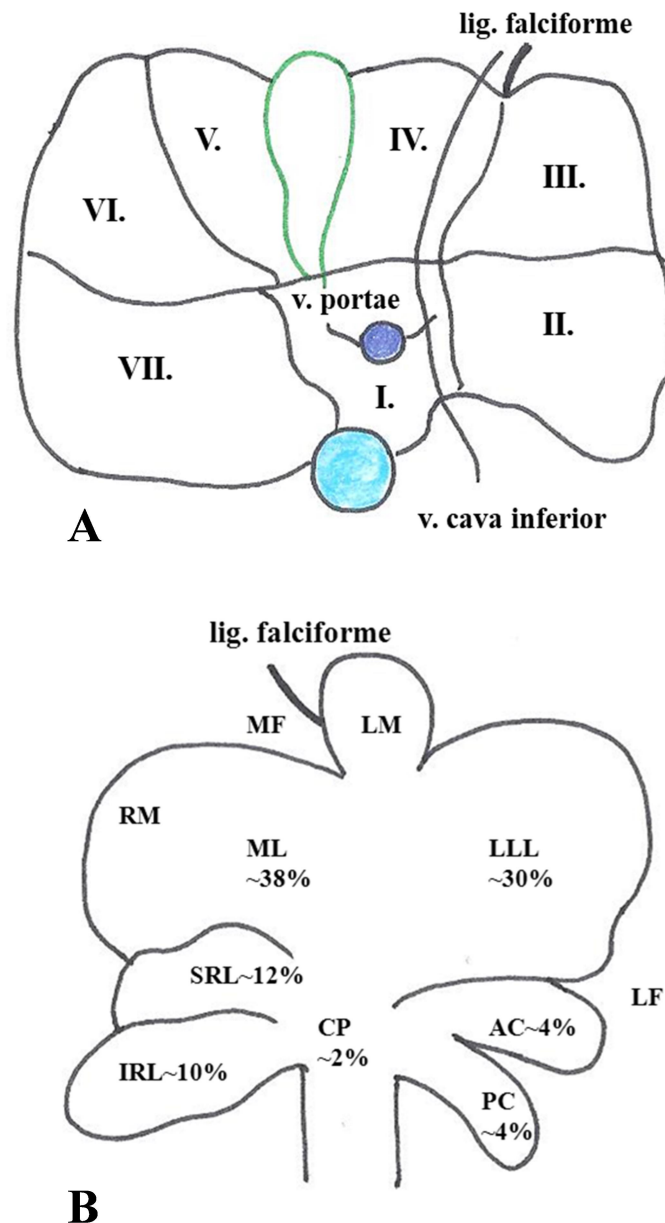
A máj szövettani egységei: klasszikus lebenyke, portalis lebenyke, májacinus
(1: periportális zóna, 2: átmeneti zóna, 3: pericentralis zóna)

A hisztomorfológiai vizsgálatok további értékes információkkal szolgálhatnak az ischaemia-reperfúzió okozta hepatocita károsodás patofiziológiájának jobb megértésében, továbbá, hogy a távoli szervi ischaemiás preconditionálás hogyan befolyásolja a szöveti károsodás mértékét.

2.1.3. A laboratóriumi patkány máj anatómiai felépítése

A laboratóriumi patkány az egyik leggyakrabban használt kísérleti állat a májon végzett kísérletes sebészeti beavatkozások során. A patkány felépítése igen hasonló a humán anatómiához, ezért alkalmas az emésztőrendszeren végzett anatómiai, fiziológiai és biokémiai

vizsgálatokra. Elméletileg bármely sebészeti beavatkozás kivitelezhető a patkány májon is, azonban a patkány máj pontos anatómiai felépítése még továbbra sem ismert, a használt nomenklatura sem egységes (Martins és mtsai, 2007). A lehetséges anatómiai variációk pontos ismerete azonban kiemelten fontos a kísérletek sikeres kivitelezésénél.



3. ábra

Az emberi máj (A) és a patkány máj (B) felépítése
 (Huawen Shi és mtsai, Thongsen Zheng rajza alapján, 2015)
 PC (lobus caudatus posterior), AC (lobus caudatus anterior), CP (processus caudatus),
 IRL (jobb alsó lebeny), SRL (jobb felső lebeny), ML (medialis lebeny), LML (bal medialis lebeny),
 RML (jobb medialis lebeny), LLL (bal lateralis lebeny), MF (medialis fissura), LF (bal fissura)

A humán és patkány máj felépítésében a legnagyobb különbség a lebenyezettség és az epehólyag hiánya (Kruepunga és mtsai, 2018). A patkány máj egy multilobularis szerv, melynek tömege (15,5 g) a teljes testsúly 6%-át teszi ki. Fontos megjegyezni, hogy a különböző szerzők eltérő anatómiai nomenklaturát használnak. Madrahimov 4 lebenyt különböztet meg: bal lateralis lebeny, jobb lebeny, medialis lebeny és caudalis lebeny (Kogure és mtsai, 1999; Madrahimov és mtsai, 2006; Martins és mtsai, 2007). Kogure és munkatársai összehasonlították a patkány és a humán máj felépítését (II. táblázat).

Vdoviakova szerint 6 lebenyt különíthetünk el: bal medialis, bal lateralis, jobb medialis, jobb lateralis, caudalis és a quadrans lebeny (lobus hepatis sinister medialis, lobus hepatis sinister lateralis, lobus hepatis dexter medialis, lobus hepatis dexter lateralis, lobus caudatus, lobus quadratus). A patkány esetében nincs epehólyag és ductus choledochus. A vasculatura tekintetében igen nagy anatómiai variabilitást mutatnak (Vdoviakova és mtsai, 2016).

II. táblázat A patkány máj és a humán máj összehasonlítása (Kogure és mtsai alapján, 1999)

Patkány máj	Emberi máj
Caudalis lebeny, paracavalis portio	I. és VIII. segmentum
Bal lebeny	II. segmentum
Középső lebeny	III., IV., V. segmentum
Jobb lebeny	VI. és VII. segmentum

A máj keringésének szempontjából fontos tény, hogy a patkány máj esetében gyakori a kollaterális artériás keringés és a kommunikáció a hepaticus és portális vénás rendszer között, ellentétben az emberi májjal, ahol ez nem fordul elő (Martins és mtsai, 2007).

2.2. A mikrokeringés

A keringésnek három szakaszát különböztetjük meg, a „tömeges áramlás” - (érátmérő nagyobb, mint 300 μm), az „átmeneti” - (érátmérő: 300-8 μm), és az „egyenkénti” áramlás zónája (érátmérő kisebb, mint 8 μm).

A „tömeges áramlás” zónájában fiziológiás körülmények között elsősorban a hemodinamikai tényezők (perfúziós nyomás, vasodilatátor és vasoconstrictor mechanizmusok) határozzák meg a véráramlást. Patofiziológiás állapotokban, a hemodinamikai rezerv kapacitás kimerülése esetén kiemelt jelentőséggel bírnak a haemorheológiai paraméterek (Chien, 1987; Bernát és Pongrácz, 1999; Baskurt és Meiselman, 2003).

A 300 és 8 μm közötti érátmérővel rendelkező szakaszon a parabolikus áramlási sebesség-profil érvényesül. Az érpálya axisa mentén magasabb haematocrit és az áramlási sebesség növekedése figyelhető meg, míg az érfal mentén létrejön egy sejtszegény plazmaréteg (Poiseuille-zóna). Így kialakul az axiális áramlás, melyet a vörösvérsejt aggregatio felerősít (Bernát és Pongrácz, 1999; Baskurt és Meiselman, 2003; Popel és Johnson, 2005). A Poiseuille-zónában az áramlási sebesség alacsonyabb, ez pedig a haematocrit redukciójához vezet (Fåhræus-effektus) (Fåhræus, 1958). A 100 és 40 μm közötti érszakaszon érvényesül, ami az érátmérő csökkenésével párhuzamosan vérvizkozitás csökkenést jelent (Fåhræus-Lindquist-effektus) (Fåhræus és Lindquist, 1931).

A mikrokeringés területét a 100 μm -nél kisebb erek jelentik, mely a pre-kapilláris arterioláknál kezdődik és a post-kapilláris venulákkal végződik (Copley, 1990; Baskurt és Meiselman, 2003).

A 8 μm -nél kisebb erek esetében létrejön az „egyenkénti áramlás” szakasza, ahol kiemelt jelentőségűek az átáramló alakos elemek, hiszen morfológiai, mechanikus tulajdonságaik és az érfallal való kölcsönhatásaik határozzák meg az áramlás sebességét.

A mikrokeringés állapotát befolyásolja a kapillárisok felépítése, a micro-rheologiai paraméterek, és a hemodinamikai státusz.

Az ischaemia-reperfusio ideje alatt bekövetkező mikrokeringési zavarok tovább fokozhatják a szövetet ért károsodás mértékét (Menger és mtsai, 1999), ezért a microcirculatio monitorozása elengedhetetlen az ischaemia-reperfusio okozta szervi károsodás detektálásában és előrejelzésében.

2.3. Haemorheologiai paraméterek

Alfred Lewin Copley (1910-1992), haematologus definiálta a haemorheologia, azaz a véráramlástan fogalmát: „*A haemorheologia a vér sejtes és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése*” (Copley, 1985).

A fő haemorheologiai paraméterek közé sorolható a teljes vér és plazma viszkozitás, a haematocrit, a vörösvérsejt aggregatio és a vörösvérsejt deformabilitás (Bogár, 1999; Baskurt és mtsai, 2003; Baskurt és Meiselman, 2007).

A haemorheologiai paraméterek közül kiemelt fontosságúak a vörösvérsejtek elnyújthatóságával, deformabilitásával, illetve reverzibilis összekapcsolódásával, azaz aggregációjával összefüggő tényezők, hiszen a microcirculatio területén ezen faktoroknak meghatározó szerepük van.

A vér nem-newtoni folyadékként értelmezhető, viszkozitása függ a sebesség-grádiénstől (Hardeman, 2007), befolyásolja a haematocrit (szuszpendált alakos elemek mennyisége), a plazma viszkozitás (hidratáltsági állapot, nagy elongált térszerkezetű molekulák, mint a fibrinogén, a triglicerid szint) és a vörösvérsejtek micro-rheologiai tulajdonságai (deformabilitás és aggregatio) (Bernát és Pongrácz, 1999; Baskurt és Meiselman, 2003; Németh, 2011).

2.3.1. Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejtek nyírófeszültséggel szemben mutatott passzív alakváltozási képessége a deformabilitás, amely a vörösvérsejtek elnyújthatóságaként értelmezhető. A deformabilitás háttérében különleges mechanikai tulajdonságaik és egyedülálló, bikonkáv alakjuk és szerkezetük áll (Evans és La Celle, 1975; Meiselman, 1981; Chien, 1987). A vörösvérsejtek viszkoelasztikus corpusculumoknak tekinthetők, a deformált állapot létrejöttét követően, amikor az erőhatás megszűnik képesek visszanyerni korábbi alakjukat. Túlzott mértékű erőbehatás esetén azonban az alakban bekövetkezett változás irreverzibilis maradhat (Evans és La Celle, 1975; Bhattacharya, 2011).

A deformabilitás a vörösvérsejtek individuális tulajdonságának tekinthető. Az elongálódás kialakulásában a cytoskeleton, a sejtmembrán viszkozitása, a sejt térfogat, a sejt felszín, a sejt felszín/térfogatának aránya, a sejtek egyéni morfológiai tulajdonságai meghatározó szereppel bírnak. Az alakváltoztatási képességben kimelt szerepe van a sejtmembrán alatt található cytoskeletonnak (Chasis és Shohet, 1987). A vörösvérsejtek különleges bikonkáv alakjának köszönhető, hogy képesek az alakváltozásra a membrán felületének változása nélkül.

A sejt hidratáltsági állapota befolyásolja a sejt felület/térfogat arányát, azaz a sejt morfológiáját. A vörösvérsejtek elnyújthatósága csökken, ha nő a hidratáltság, mivel nő a sejtterület, viszont a sejt felszín nem változik. Ugyancsak deformabilitás csökkenéshez vezet a dehidratáltság is, hiszen a cytosol haemoglobin koncentrációjának és viszkozitásának növekedése mellett a sejt felszín mérete változatlan marad (Meiselman, 1981; Chien, 1987; Mohandas és Chasis, 1993; Baskurt és Meiselman, 2003; de Oliveira és Saldanha, 2010).

A vörösvérsejtek deformabilitási képessége, azaz elnyújthatósága nélkülözhetetlen a keringés úgynevezett „egyenkénti áramlás” zónájában, hiszen itt az érátmérő 8 μm alatt van.

2.3.2. Vörösvérsejt aggregatio

A haemorheologiai paraméterek között másik fontos micro-rheologiai tényező a vörösvérsejt aggregatio, amely a vörösvérsejtek stasisnál vagy alacsony sebesség-grádiensnél bekövetkező reverzibilis összekapcsolódását jelenti (Tóth és Juricskai, 1999; Baskurt és mtsai, 2000; Baskurt és Meiselman, 2003; Baskurt és mtsai, 2012). A folyamathoz több vörösvérsejt interakciója szükséges, szemben a deformabilitással, amely a sejt individuális tulajdonságaként fogható fel. Az aggregatiohoz elengedhetetlen a megfelelő deformabilitás, hiszen az aggregatio során kialakuló pénztekercsképződéshez szükséges a vörösvérsejtek alakváltoztatási képessége. A plazmában keringő nagyméretű, elongált térszerkezetű molekulák, mint a fibrinogén, elősegíti az aggregatio kialakulását (Baskurt, 2003; Baskurt és mtsai, 2012).

A vörösvérsejt aggregatio létrejöttének magyarázatára két elmélet létezik. Az úgynevezett „bridging modell” szerint a vörösvérsejt környezetében lévő elongált térszerkezetű makromolekulák koncentrációja határozza meg, hogy kialakul-e az aggregatio azáltal, hogy a vörösvérsejtek találkozásait, összekapcsolódását támogatják. Ezt támasztja alá, hogy az aggregatio folyamata nem jön létre fiziológiás sóoldatban vagy pufferben szuszpendált sejtek között.

A „depléciós-modell” elmélet a sejtfelszínen létrejövő depléciós zóna kiemelt szerepét hangsúlyozza. Az elmélet szerint a plazma és a vörösvérsejtfalhoz közeli folyadékzóna között ozmotikus gradiens alakul ki annak következtében, hogy a makromolekulák nem képesek teljesen a membránhoz penetrálni a glycocalyx réteg miatt, ez a folyamat pedig elősegíti a sejtek összetapadását (Chien, 1987; Carvalho és mtsai, 2010; Baskurt és mtsai, 2012).

Fiziológiás körülmények között az újrainduló véráramlás, növekvő sebesség-grádiens esetén a vörösvérsejtekre disaggregációs erők hatnak, úgy mint a sejtfelszíni elektrosztatikus taszítóerő, a sejtmembrán csökkent elaszticitása és a nyíróerő (Baskurt és mtsai, 2012).

2.3.3. A haemorheológiai paramétereket befolyásoló kórfolyamatok

A haemorheológiai paraméterek komplex összefüggései révén magyarázható, hogy számos patofiziológiai állapot vezethet a rheológiai értékek változásaihoz.

Az áramlási sebesség szerepe döntő a haemorheológiában. Élettani körülmények között az érátmérőt szabályozó mechanizmusok és a perfúziós nyomás befolyásolja, míg kóros állapotokban a teljes vér viszkozitás is jelentős hatást gyakorol az áramlási sebességre (Schmid-Schönbein, 1976; Baskurt és Meiselman, 2003; Rampling és mtsai, 2007).

A rigidebb vörösvérsejtek deformabilitási képessége romlik, ez pedig a viszkozitás növekedését okozza. A kapillárisok átmérője kisebb is lehet, mint a vörösvérsejtek átmérője, így ezeken az érszakaszokon a vörösvérsejtek csak alakváltoztatás árán tudnak áthaladni. A deformabilitás csökkenése perfúziós zavarokat okoz az adott területen, a megváltozott tápanyag és oxigénellátás pedig szöveti funkciózavarokat okoz (Driessen és mtsai, 1980; Baskurt és mtsai, 2009a; Németh és mtsai, 2012).

Az intakt intracelluláris homeosztázis esszenciális, hiszen a membrán rigiditását és a sejtek fiziológiai mechanikai állapotát meghatározza a sejtmembránban elhelyezkedő ATP-dependens calcium csatorna működésével fenntartott alacsony cytosolicus calcium koncentráció, ezáltal a metabolikus változások és az ATP mennyiségének csökkenése befolyásolja az ioncsatornák megfelelő működését (Hochmuth és Waugh, 1986).

A pH, a laktát koncentráció, az ozmolaritás és a hőmérséklet változásai szintén befolyásolhatják a vörösvérsejtek deformabilitási képességét (Bernát és Pongrácz, 1999; Kuzman és mtsai, 2000; Brun, 2002; Baskurt, 2007 és 2008).

A vörösvérsejt aggregatio fokozódása is a viszkozitás emelkedéshez vezet, továbbá csökken a súrlódási ellenállás az érfal mentén, a mikrokeringés területén nő a vascularis ellenállás. A fokozott aggregatio hatására erősödik az axiális áramlás, itt az áramlási sebesség

magasabb, így az érfal mentén alacsonyabb lesz az áramlási sebesség ami a haematocrit csökkenéséhez vezet, és közös eredőként növekedhet a vasculáris tónus (Cokelet, 1980; Baskurt, 2008; Baskurt és mstai, 2012).

Az aggregátumok érpályán belüli középre sodródásának következtében létrejön az érfal mellett egy sejtmentes zóna, amely jelentősen megnehezíti az oxigén érfalon keresztüli diffúzióját. Az alacsony áramlású területeken az aggregátumok a kapillárisok occlusióját idézhetik elő, ami ischaemiás károsodást eredményez a szövetben (Pearson és Lipowsky, 2000; Bishop és mtsai, 2001; Yedgar és mtsai, 2002).

Összefoglalva a következő tényezők hatnak a vörösvérsejt deformabilitásra és aggregációra: sav-bázis változások, vér pH változás, laktát koncentráció, ozmolaritás, oxigenizáció mértéke, szabadgyök-reakciók, NO szint változásai, mechanikus sérülés, hemodinamikai változások (Meiselman, 1981; Brun, 2002; Popel és Johnson, 2005; Baskurt, 2007; Németh, 2011; Baskurt és mtsai, 2012, Németh és mtsai, 2018).

A haemorheológiai paraméterek romlása csökkent szöveti perfúziót eredményez, ami további károsodásokhoz és a micro-rheológiai paraméterek további változásaihoz vezethetnek (Baskurt és mtsai, 2004; Yalcin és mtsai, 2004).

Mind az alapkutatásokban, mind az állatkísérletes vizsgálatokban a fenti paraméterek változásai gyakran jelző értékűek. A kísérletes modellek során kapott eredmények adekvát értékelése jelentősen hozzájárulhat a micro-rheológiai eltérésekkel és ezzel egyidejűleg a microcirculatio állapotának változásával járó kórfolyamatok megismeréséhez és a megfelelő terápiás stratégia kidolgozásához (Lipowsky, 2005; Baskurt, 2007 és 2008; Németh, 2011).

2.4. Az ischaemia-reperfusio

2.4.1. Ischaemia-reperfusió károsodás patofiziológiája

A vérellátás akadályozottsága a szövetek ischaemiás károsodását eredményezi, az ezt követő reperfusio, a véráramlás újraindulás paradox módon pedig tovább erősíti ezeket a patológiás folyamatokat.

Az ischaemia-reperfusio patomechanizmusa és a kialakuló patofiziológiai folyamatok széles körben vizsgáltak (Nanobashvili és mtsai, 2002; Gori és mtsai, 2006). Az ischaemia-reperfusio során a csökkent tápanyag és oxigénellátás következtében felborul a szövetek metabolikus egyensúlya, mely szövetkárosodáshoz vezet. A komplex folyamat során lokális és szisztémás változások alakulnak ki. A fellépő hypoxia és acidosis következtében csökken az intracelluláris pH és laktát akkumuláció alakul ki, inflammatorikus reakciók, neutrophil aktiváció, komplementrendszer aktiváció, oxigén tartalmú szabadgyök felszabadulás és endothel károsodás lépnek fel (Anaya-Prado és mtsai, 2002; Nanobashvili és mtsai, 2002; Miranda és mtsai, 2004; Gori és mtsai, 2006; Silva és mtsai, 2006).

A lokális metabolikus változások, és az ischaemia által érintett területen bekövetkező leukocytá akkumuláció hatással lehet a szisztémás paraméterekre is, hiszen a kezdetben lokálisan felhalmozódott metabolitok a reperfusio következtében eléri a szisztémás keringést is, és irreverzibilis szervkárosodást eredményezhetnek (Anaya-Prado és mtsai, 2002; Gori és mtsai, 2006; Szokoly és mtsai, 2006; Eltzschig és mtsai, 2011). A gyulladáshoz vezető folyamatok részeként fellépő akut fázis reakciók hatására nő a fibrinogén szint és az immunglobulinok szintje, ezzel párhuzamosan pedig relatív albumin csökkenés léphet fel (Zhai és mtsai, 2011).

A fellépő ATP hiány következtében károsodik az ionpumpák működése, ami intracelluláris Ca^{2+} akkumulációhoz vezet. A megnövekedett intracelluláris Ca^{2+} koncentráció következtében a Ca-függő proteáz működésének hatására a xantin dehidrogenázból xantin-oxidáz képződik. A xantin-oxidáz működéséhez oxigén jelenléte szükséges, amely a

véráramlás újraindulásával ismét rendelkezésre áll. A hypoxantin az ischaemia miatt bekövetkező ATP defoszforilálódása során keletkezik. A xantin-oxidáz enzim hatására szuperoxid anion és hidrogén-peroxid keletkezik, amely károsítja a sejtmembránt, továbbá megváltoztatja a haemoglobin szerkezetét és a különböző strukturális fehérjéket (Popel és Johnson, 2005; Baskurt, 2008; Németh, 2011; Granger és mtsai, 2015).

Tovább súlyosbítja a károsodást a szabadgyökök eliminálására szolgáló enzimek (kataláz, glutation-peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz) reperfusio alatt bekövetkező funkcionális sérülése (Granger és mtsai, 2015).

Az endothel-diszfunkció kulcsszerepet játszhat, hiszen ezen sejtek rendkívül érzékenyen reagálnak mind az oxigénhiányra, mind az azt követő reoxigenizációra (Granger, 1988).

Több tényező akadályozhatja a véráramlás újraindulását, mint például thrombus, endothel duzzadás, interstitialis oedema, haemoconcentratio. Az úgynevezett „no-reflow” jelenség kialakulását indukáló patológias folyamatok már az ischaemia alatt elkezdődnek, de a reperfusio során ez tovább fokozódik és a kapillárisokban a keringés leállítását is okozhatja. A jelenség okozta károsodás mértéke arányos az ischaemia és az azt követő reperfusio időtartamával. A folyamat hátterében az endothel-diszfunkció és duzzadás, a kapilláris permeabilitás növekedése, a megnövekedett thrombocyták szám és fibrinkoncentráció, a leváló sejtek miatt képződő intraluminális micro-thrombusok, a sav-bázis egyensúly felborulása, vascularis spasmus kialakulása, és a gyulladásosejtek aktivációja áll (Reffermann és Kloner, 2002; Rezkalla és mtsai, 2002).

Ezek a kóros folyamatok több ponton is eredményezhetik a micro-rheológiai környezet változását és a mikrokeringés romlását. Ismert, hogy az ischaemia-reperfusio következtében kialakuló károsodás érinti a vörösvérsejtek deformabilitását és aggregációs készségét (Kayar és mtsai, 2001; Németh és mtsai, 2006; Gori és mtsai, 2006). A sav-bázis

egyensúly változásai közvetlenül is befolyásolhatják a vér összetételét, a vörösvérsejtek morfológiai tulajdonságait (Nanobashvili és mtsai, 2002; Baskurt és Meiselman, 2007) és a micro-rheológiai paramétereket (Szokoly és mtsai, 2006; Németh és mtsai, 2018). A reaktív oxigén szabadgyökök lipidperoxidáció által károsítják a vörösvérsejtek membránját és a haemoglobint (Baskurt és Meiselman, 2007).

2.4.2. A máj ischaemia-reperfusio patomechanizmusa

A máj ischaemia-reperfusió károsodásával számolhatunk trauma, máj resectio és transzplantáció során. A műtétek hatékony kivitelezéséhez szükséges a májat ellátó erek kirekesztése a keringésből. Erre alkalmas az úgynevezett Báron-Pringle manőver, mely a ligamentum hepatoduodenale ideiglenes leszorítását jelenti (Pringle, 1908; Sébe és mtsai, 2000; Camargo és mtsai, 2003; Freitas és mtsai, 2017). Az eljárás során csökken a máj, a gyomor, a vékonybél, a vastagbél anterior területének, a pancreas és a lép véráramlása.

Fontos megjegyezni, hogy nem csak a májon végzett műtétek eredményezhetik a máj ischaemia-reperfusió károsodását, hanem közvetett módon a sepsis, trauma, keringési-, légzési elégtelenség, haemorrhagia következtében kialakult keringési zavar és hypoxia is vezethet a máj ischaemia-reperfusió szöveti károsodásához (Birrér és mtsai, 2007; Rushing és mtsai, 2008).

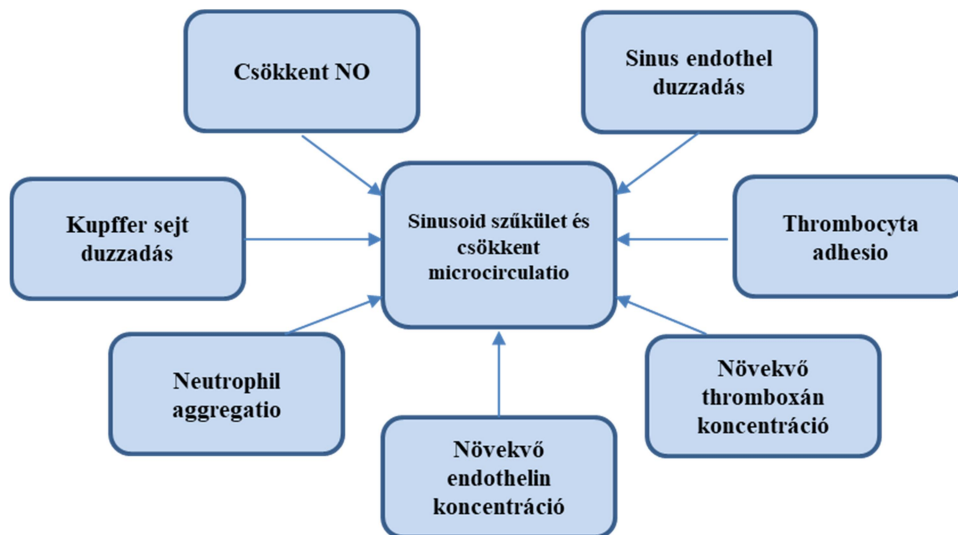
Az ischaemia-reperfusio közvetlen sejtkárosodást okoz, valamint a különböző inflammatorikus útvonal aktiválása révén szervi diszfunkcióhoz vezet a májon (Kim, 2003; Kupiec-Weglinski és mtsai, 2005; Kanoria és mtsai, 2006; Abu-Amara és mtsai, 2010b; Feng és mtsai, 2012; Freitas és mtsai, 2017). A reaktív oxigéngyökök, a citokin szekréció, a neutrophil sejtek infiltrációja, valamint a máj csökkent mikrokeringése tovább fokozza a gyulladásos folyamatokat, ami sejthalálhoz, a működőképes parenchyma veszteséghez és májelégtelenséghez vezet (Fondevila és mtsai, 2003; Jaeschke és mtsai, 2012; Gilbo és mtsai,

2016). A cholangiocyták különösen érzékenyek az ischaemia-reperfúziós károsodásra, a necrosis és a micro-thrombusok kialakulása miatt pedig károsodik a peribiliaris plexus. A sejthalál folyamatában mind a necrosis, mind az apoptózis szimultán jelen lehet. Necrosist követően a sejtmembrán elveszíti integritását, a kiáramló intracelulláris komponensek gyulladást okoznak a környező szövetekben (Gilbo és mtsai, 2016).

A máj rezidens makrofágjai, a Kupffer sejtek, kulcsszerepet játszanak az ischaemia-reperfúzióra adott válaszreakció kialakulásában (Raptis és mtsai, 2014; Yue és mtsai, 2017). A Kupffer sejtek által szekretált IL-10 kiemelten fontos a pro-inflammatorikus válasz modulációjában és csökkenti a májkárosodás mértékét (Feng és mtsai, 2012).

A szövetek regenerációs képességét, a sejtkárosodás reverzibilitásának lehetőségeit jelentősen befolyásolja az érintett szövet minősége, általános állapota, a károsodás kiterjedése. Ismert, hogy májcirrhosis és steatosis hepatitis esetén a szövetek ischaemiás toleranciája alacsonyabb, a regenerációs potenciál is korlátozott (Kneuertz és mtsai, 2011). Transzplantáció és máj resectio után a klinikai kimentel szempontjából a legfontosabb a residuális májszövet működőképessége (Olthof és mtsai, 2017).

A májat ért ischaemia-reperfúzió során jelentkező patológias folyamatok során kulcsszerepet kap a vasoconstrictor és vasodilatátor mechanizmusok egyensúlyának felborulása, a komplement aktiváció, a thromboxán és endothelin termelésének növekedése és a prosztaglandin szintézis csökkenése (Abu-Amara és mtsai, 2010b) (4. ábra).



4. ábra

A májat ért ischaemia-reperfúziós károsodás következményei
(Abu-Amara és mtsai alapján, 2010b)

2.4.3. Az ischaemia-reperfusio prevenció's lehetőségei

Tekintettel arra, hogy az ischaemia-reperfusio számos kórfolyamat és sebészeti beavatkozás során kialakulhat, jelenleg is intenzív kutatások folynak olyan farmakológiai ágens vagy intervenció's eljárás kifejlesztésére, amely hatékony lehet az ischaemia-reperfusio által elszenvedett szövetkárosodás prevenció'jában vagy a károsodás mértékének csökkentésében. Mivel a szövetek életképessége alapvetően a megfelelő vérellátottságtól függ, ezért az ischaemia-reperfusio okozta károsodás megelőzése és mérséklése kiemelten fontos. Ezen folyamatok befolyásolhatják az operáció eredményességét, hiszen jelentős szerepet játszanak a postoperatív morbiditásban és mortalitásban (Kim és mtsai, 2005; Teoh, 2011).

Farmakológiai szempontból alkalmazhatóak antioxidáns szerek, vasodilatátorok, rheológiai paraméterekre ható ágensek (Nanobashvili és mtsai, 2002; Abu-Amara és mtsai, 2010).

A következő intervenció's stratégiák ismertek: kontrollált reperfusio, a szövetek ischaemiás toleranciájának fokozása preconditionálás, perconditionálás vagy

postconditionálás által. Az ischaemiás conditionálás rövid idejű, reperfüziós időszakokkal megszakított ischaemiás periódusok sorozatát jelenti az ischaemia előtt vagy után (Murry és mtsai, 1986; Przyklenk és mtsai, 1993; Kharbanda és mtsai, 2002; Costa és mtsai, 2014). A módszer hatékonynak bizonyult az ischaemia-reperfüziós szöveti károsodás mértékének csökkentésében számos szerv esetében, beleértve a májat is (Cheung és mtsai, 2006; Hausenloy és mtsai, 2007; Li és mtsai, 2015; Gilbo és mtsai, 2016).

Az ischaemiás preconditionálás aktiválja a szövet endogén védelmi rendszerét és számos sejttípusra hatással van (Kupffer sejt aktiváció, leukocita adhézió), továbbá befolyásoló hatással bír a mikrokeringés állapotára, pro-inflammatorikus citokin felszabadulásra, apoptosissra, necrosissra (Bahde és mtsai, 2010). A módszer hátránya a szervekre kifejtett közvetlen stressz, a vascularis occlusio pedig a nagyobb erek mechanikai sérülését okozhatja (Tapuria és mtsai, 2008).

Az eljárás alkalmazható az ischaemiának kitett szervén vagy egy attól távol eső, másik szervén (távoli szervi ischaemiás preconditionálás- remote ischaemic preconditioning-RIPC) (Przyklenk és mtsai, 1993; Otani és mtsai, 2008; Gilbo és mtsai, 2016).

2.4.4. A távoli szervi ischaemiás preconditionálás

Több tanulmány beszámol a távoli szervi ischaemiás preconditionálás jótékony és védő hatásairól, mely rövid idejű ischaemia-reperfüziós ciklusok alkalmazását jelenti egy, az ischaemiának kitett célszervtől távol eső másik szervén/szöveten (Kharbanda és mtsai, 2002; Waldow és mtsai, 2005; Kanoria és mtsai, 2006). A távoli szervi ischaemiás preconditionálás gyakran alkalmazható végtagon, így növelve számos szerv (agy, szív, vese, máj) ischaemiás toleranciáját (Tapuria és mtsai, 2009; Hoole és mtsai, 2009; Bøtker és mtsai, 2010; Zhang és mtsai, 2012; Li és mtsai, 2015; Hausenloy és mtsai, 2015; Hu és mtsai, 2016).

Az RIPC az egyik leghatékonyabb protektív eljárásként ismert az ischaemia-reperfüziós károsodással szemben (Otani és mtsai, 2008; Kierulf-Lassen és mtsai, 2015), azonban a pontos hatásmechanizmus részletei még nem tisztázottak. Feltételezhető a mentő kináz útvonalak aktiválódása és a paraszimpatikus válaszreakció hatásai (Costa és mtsai, 2014). Rövid idejű ischaemia-reperfüziós ciklusok alatt a kondicionált szövet csökkent vérellátása következtében csökken az oxigénellátás és a metabolizmus, az ezt követő reperfüzió pedig felerősíti a szabadgyök-reakciót és az inflammatorikus aktivációt (Fondevila és mtsai, 2003; Eltzhig és mtsai, 2011).

Limani és munkatársai idős egereket használtak annak vizsgálatára, hogy az RIPC hatékony prevenció-e máj ischaemia-reperfüzió során. Megerősítést nyert, hogy a távoli szervi ischaemiás preconditionálás hatékonyabb, mint más prevenció eljárások, mivel a standard ischaemiás preconditionálás ineffektívnek bizonyult idős máj esetén. Továbbá azt találták, hogy az RIPC jobban aktiválja a protektív jelátviteli útvonalakat. A VEGF a kulcsmediátor az RIPC protektív hatásainak kialakulásában idős májban, és a korfüggő elváltozásokat is csökkenti a máj sinusoidokban (Limani és mtsai, 2016).

Irodalmi adatok alapján a távoli szervi ischaemiás preconditionálás védőhatását a vérből felszabaduló protektív faktorok indukciója és felszabadulása által fejt ki (Tapuria és mtsai, 2009; Kierulf-Lassen és mtsai, 2015). Bár az effektormechanizmus, melyen keresztül a protektív faktor eljut a preconditionált szövegtől az ischaemián átesett szervhez még ismeretlen, úgy tűnik, hogy a vizsgálat tárgyát képező egész testre hatással vannak az ischaemiás conditionálás által indukált változások. Elképzelhetőnek tűnik, hogy a védelmet biztosító keringő faktorok között maga a vér lehet az egyik.

A legfrissebb kutatási eredmények alapján a preconditionálás során lokális mediátorok szabadulnak fel a preconditionálásnak kitett szervben/szövetben, melyek triggerelik az afferens szenzoros neuronokat, majd a központi idegrendszerbe érkezett szignál hatására a n.

vagus a különböző szervek autonóm beidegzése által szekunder mediátorok felszabadulásához vezet. Szubcelluláris útvonalak és felszíni receptorok közvetítésével fejtik ki protektív hatásukat a célszerven (Szijártó és mtsai, 2012; Pickard és mtsai, 2016).

A távoli szervi ischaemiás preconditionálás által indukált protektív hatások egy korai (2-3 óra) és egy késői (72 óráig tartó) fázisra oszthatóak (Stokfisz és mtsai, 2017; Chen G és mtsai, 2018).

Az eljárás klinikai jelentőségét növeli, hogy a távoli szervi ischaemiás preconditionálás egy non-invazív, könnyen alkalmazható módszer a különböző klinikai szituációkban, mely egy mandzsettával létrehozott ischaemiával kivitelezhető az alsó- vagy felső végtagon.

3. CÉLKITŰZÉSEK

1. Célunk volt olyan állatkísérletes modell kialakítása, ahol a parciális máj ischaemia-reperfusio hatásai vizsgálhatóak.
2. Kísérleteinkben vizsgálni kívántuk patkánymodellen a 60 perc időtartamú 70%-os parciális máj ischaemia és az azt követő 120 perc reperfusio vitális paraméterekre, hemodinamikai státuszra, mikrokeringésre, sav-bázis-, haematológiai-, micro-rheológiai paraméterekre kifejtett hatásait.
3. Kísérletünk célja volt az ischaemia-reperfusio hatására kialakuló morfológiai változások elemzése, és a szövettani eltérések mikrokeringéssel való összefüggéseinek vizsgálata.
4. Célunk volt annak összehasonlítása, hogy milyen mértékű változások mutatkoznak az általunk vizsgált paraméterek esetében a korai és késői távoli szervi ischaemiás preconditionált csoportokban az ischaemia-reperfusión átesett csoporthoz képest.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. Kísérleti állatok, műtéti technika és mintavételi eljárás

A kísérlet a Debreceni Egyetemi Állatjóléti Bizottság (DEMÁB) által jóváhagyott és regisztrált engedély alapján került kivitelezésre (Engedélyszám: 20/2011; 25/2016 DEMÁB), összhangban az 1998. évi XXVIII. „Az állatok védelméről és kíméletéről szóló törvény, a 40/2013. állatkísérletekről szóló Kormányrendelet és Európai Unió (2010/63 EU-Direktíva) előírásaival.

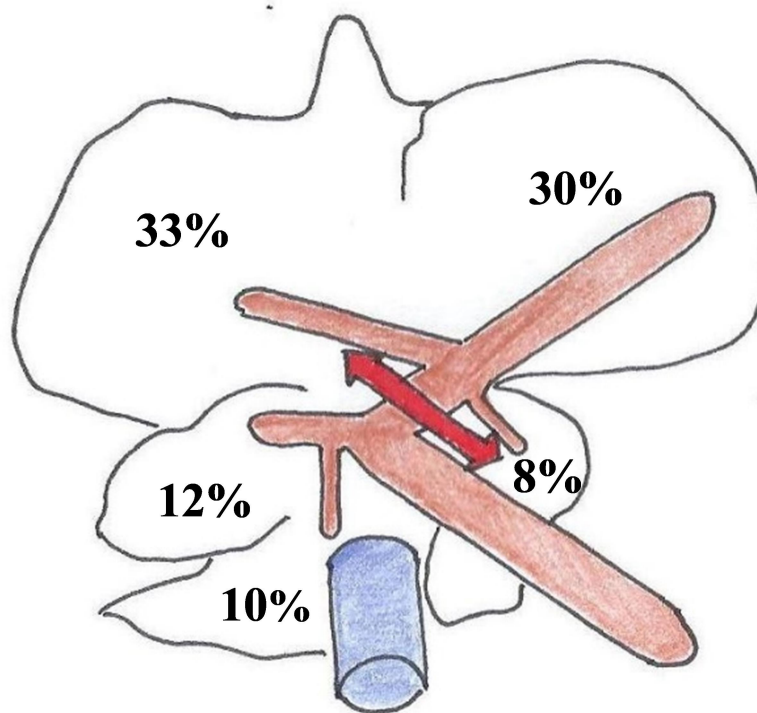
Huszonegy hím és nőstény Crl:WI outbred patkányt (Toxicoop Kft., testtömeg: $386,5 \pm 57$ g) véletlenszerűen kiválasztva három kísérleti csoportba osztottunk, oly módon, hogy minden csoportba 5 hím és 2 nőstény állat kerüljön. A kísérleti állatokat ketrecben, szobahőmérsékleten tartottuk, vízhez és táplálékhoz szabad hozzáférést biztosítva. Azonos korú (14-16 hetes) patkányokat vontunk be a kísérletbe, hiszen a sebészeti beavatkozások során az életkor kritikus tényező lehet (Jiménez-Castro és mtsai, 2013). A műtétet megelőző napon minden állat analgeticumként Flunixin (2,5 mg/kg s.c.) injekcióban részesült.

Az ischaemiás preconditionálási protokollt és a sebészeti beavatkozásokat általános anaesthesiában végeztük (60 mg/kg Thiopental, i.p.). Premedikációként atropin-szulfátot kaptak (0,06 mg/kg, s.c.). Az állatok szupinált testhelyzetben fűtött padon kerültek elhelyezésre az állandó testhőmérséklet fenntartása céljából.

A Kontroll csoportban (n=7) a bal inguinalis és abdominalis régiók teljesen leborotvásra kerültek, majd Betadine-os dezinficiálás történt. A bal lágyéki területen 1 cm-es horizontális metszést követően operáló mikroszkóp segítségével (Leica Wild 64 M650) az a. femoralis kipreparálásra került, majd kanülálás történt (BD NeoflonTM 26G). Median laparotomiát végeztünk, melynek során a metszést a sternum caudalis végétől a processus xiphoideustól a pecten ossis pubisig vezettünk, majd a beleket óvatosan a kísérleti állat bal

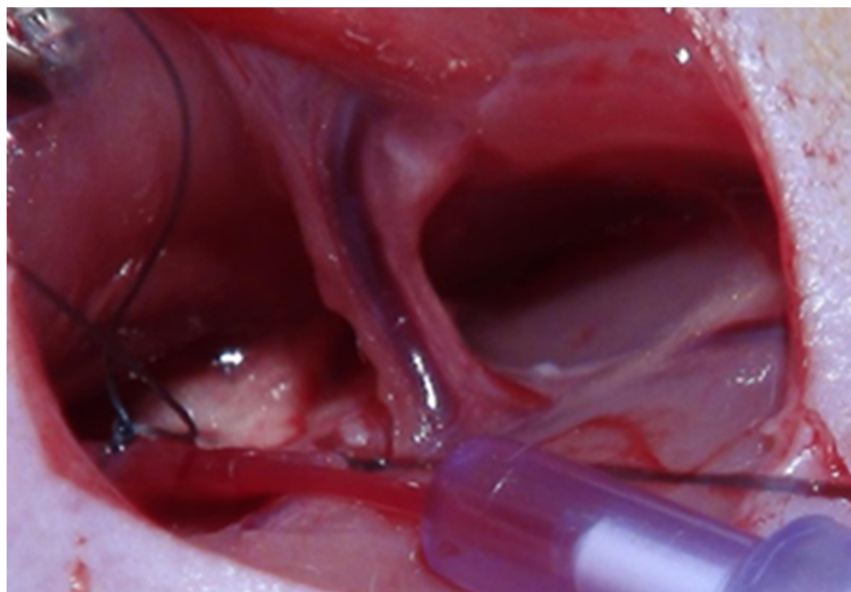
oldalára helyeztük, és nedvesen tartás céljából, valamint a dehidrációt megelőzendő műanyag lappal izoláltuk.

Ezt követően 70%-os parciális máj ischaemiát hoztunk létre oly módon, hogy a bilio-vascularis nyél identifikálását követően vascularis occlusiót létesítettünk. Atraumatikus, mikrosebészeti klippet helyeztünk fel 60 percre az érnýélre úgy, hogy a processus caudatus és a jobb alsó és felső lebeny vérellátása intakt maradt (Kupcsulik és Kokas,1979; Szijártó és mtsai, 2006) (5-7. ábra). A májlebenyek színében bekövetkező változás jelezte a leszorítás sikerességét.

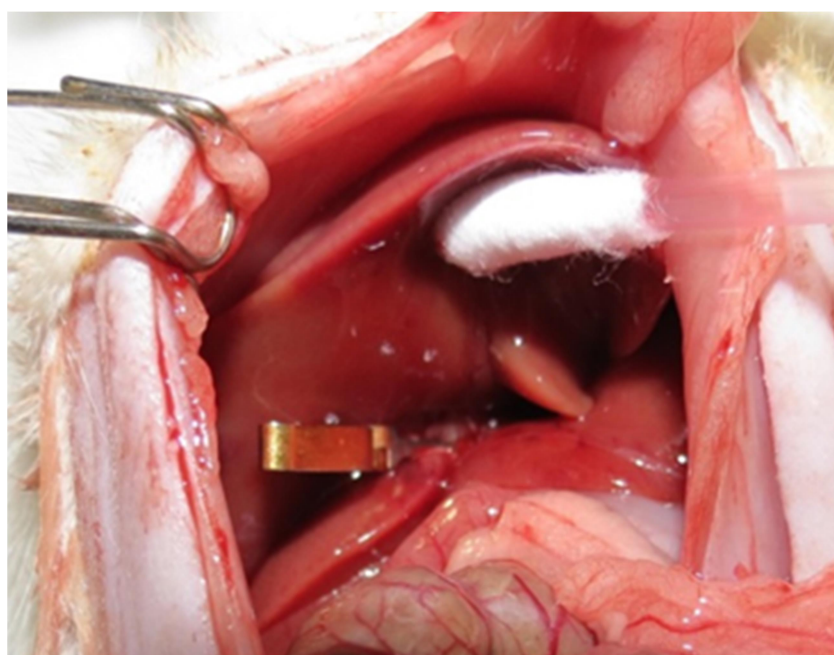


5. ábra

A 70%-os máj ischaemia-reperfusio létrehozása (M. Oltean alapján)



6. ábra
A kanülált bal oldali a. femoralis

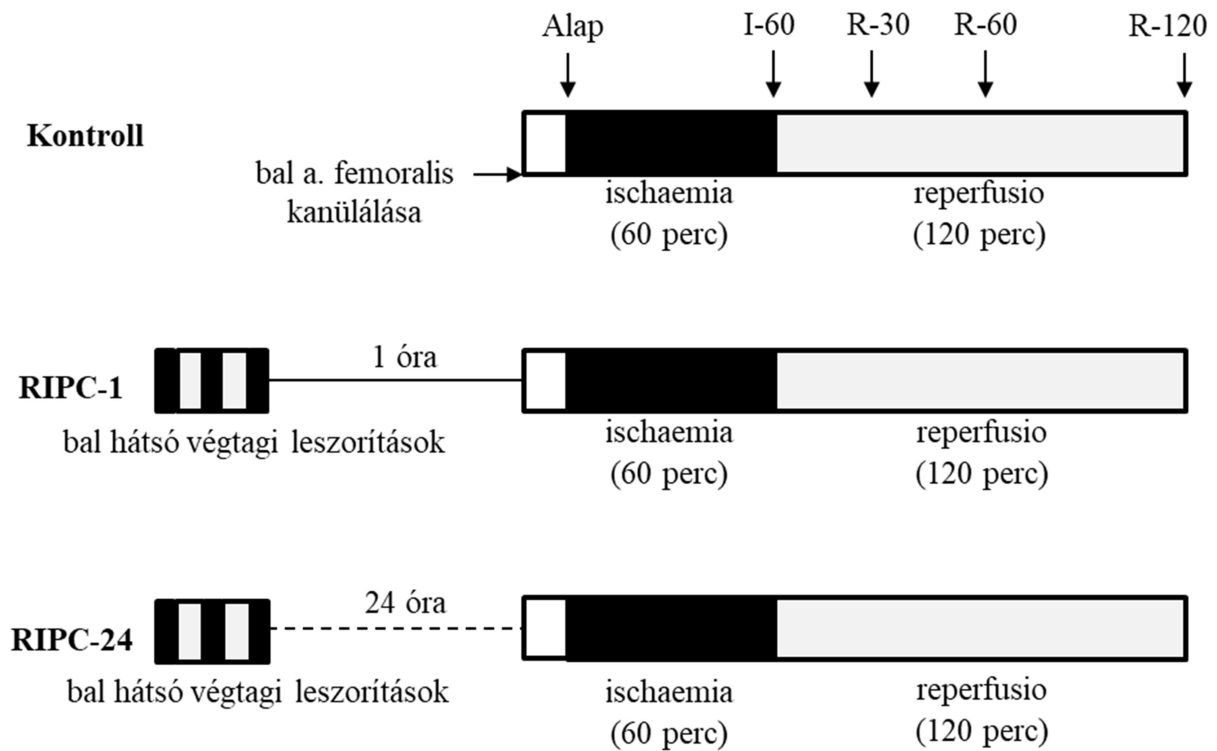


7. ábra
Atraumatikus mikrosebészeti klippel létrehozott vascularis occlusio

Az ischaemiás idő leteltével a klippet eltávolítottuk, majd 120 perc reperfüziós periódust figyeltünk meg. A 60 perces ischaemiás és a 120 perces reperfüziós időszak alatt a hasfali sebet két rétegben fedtük. Első réteggént műanyag lapot használtunk, ezzel

minimalizálva az evaporizációból adódó folyadékvesztést. Második réteggént pedig gézlapot helyeztünk a hasfalra a hővesztés csökkentésére.

A preconditionált csoportokban 3x10 perc időtartamú ischaemiás periódusokat hoztunk létre 10 perces reperfusiók időszakokkal megszakítva. A bal hátsó végtagon a ligamentum inguinale magasságában az ischaemia indukálása céljából tourniquet került felhelyezésre. A preconditionálási protokollt 1 órával (RIPC-1 csoport, n=7), vagy 24 órával (RIPC-24 csoport, n=7) a máj ischaemia előtt végeztük (8. ábra).



8. ábra

A távoli szervi ischaemiás preconditionálási és máj ischaemia-reperfusiók protokoll

A műtét kezdetén (Alap), valamint a reperfusio 30., 60. és 120. percében (R-30, R-60, R-120) a kanülált a. femoralisból (Antikoaguláns: K₃-EDTA 1,5 mg/ml) vérvétel (~0,4-0,5

ml) történt laboratóriumi vizsgálatok céljából. Minden vérvételt követően a levett vérmennyiségnek megfelelő testhőmérsékletű fiziológiás sóoldattal pótoltuk a folyadékot.

A műtét kezdetén (Alap), valamint az ischaemia 60. (I-60), a reperfusio 30., 60. és 120. percében (R-30, R-60, R-120) meghatározásra került a légzésszám, a rectalis hőmérséklet, a szervfelszíni hőmérsékletek (ischaemiás és nem-ischaemiás májlebeny), továbbá szöveti áramlásmérés (ischaemiás és nem-ischaemiás májlebeny, jejunum kacs, jobb vese) és hemodinamikai mérések történtek.

A megfigyelt vizsgálati időszakot követően a májból szövettani mintavétel, majd a kísérleti állatok exsanguinációja történt.

4.2. Légzésszám, hőmérséklet

A kísérleti állat általános állapotának követésére rendszeresen meghatároztuk a légzésszámot. A rectalis hőmérséklet mérésére digitális hőmérőt, a szervfelszíni hőmérséklet értékek mérésére infravörös hőmérőt használtunk (Rudolf Riester GmbH, Németország) (9. ábra).



9. ábra
Infravörös hőmérő használata a máj felszíni hőmérséklet meghatározására
(Rudolf Riester GmbH, Németország)

4.3. Hemodinamikai paraméterek

A vérnyomás és a szívfrekvencia indirekt monitorozásra Apollo Amplifier non-invazív vérnyomásmérőt (IITC Inc.,USA) használtunk, melyhez a kísérleti állat farkára mandzsettát helyeztünk (10. ábra).



10. ábra
Apollo Amplifier non-invazív vérnyomásmérő
(IITC Inc., USA)

4.4. Microcirculatio monitorizálása

A mikrokeringésben bekövetkező változások monitorozására lézer Doppler szöveti áramlásmérőt (LD-01 Laser Doppler szöveti áramlásmérő, Experimetria Kft., Magyarország) használtunk (11. ábra).

A lézer Doppler áramlásmérő egy non-invazív, széles körben alkalmazott eszköz a mikrokeringésben bekövetkező változások és a szövetek életképességének diagnosztizálásában. A módszer a Doppler-shift jelenségen alapszik (Doppler, 1842). Az emittált, koherens fény hullámhossza megváltozik, ha mozgásban lévő partikulumokkal találkozik, azonban változatlan marad, ha statikus szöveti elemekbe ütközik (Stern, 1975). A lézer Doppler áramlásmérő által száloptikán kibocsátott lézernyaláb a mozgó vörösvérsejtek felszínéről visszaverődik, és hullámhosszában változás következik be. A visszaverődő nyalábot a készülék detektálja, ez az eltolódás pedig grafikusán

konvertálható a számítógép képernyőjén (Frerichs és mtsai, 1990). A módszer nagy előnye, hogy valós idejű, az eredmény közvetlenül értékelhető, így lehetővé teszi az azonnali beavatkozást.

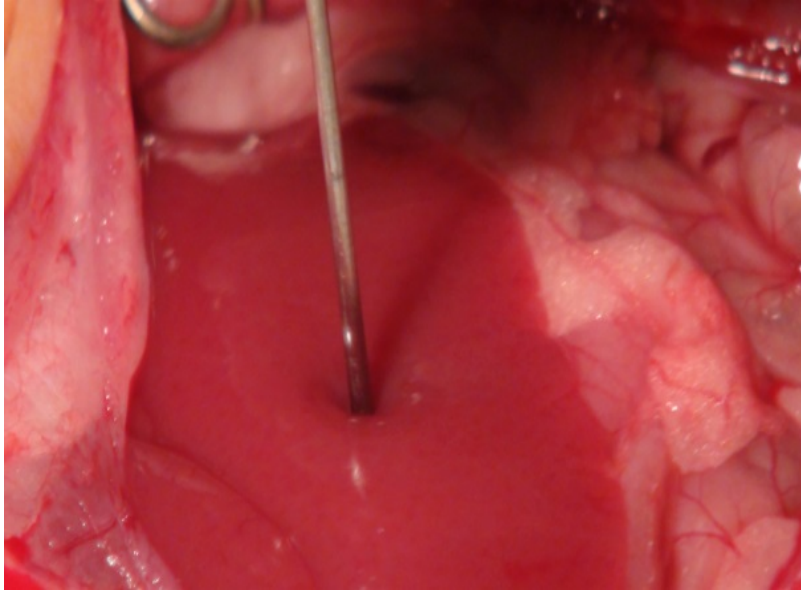


11. ábra
LD-01 Lézer Doppler szöveti áramlásmérő
(Experimetria Kft., Magyarország)

A lézer Doppler áramlásmérés során rögzített hullám mintázatát számos faktor befolyásolhatja, például a hőmérséklet, a mérőfej instabilitása, légző- és izommozgás, a szövetek kiszáradása, lokális vérnyomásváltozás, oxigenizáció mértéke, haemolysis, szérum lipidstátusza (Obeid és mtsai, 1990; Vongsavan és mtsai, 1993).

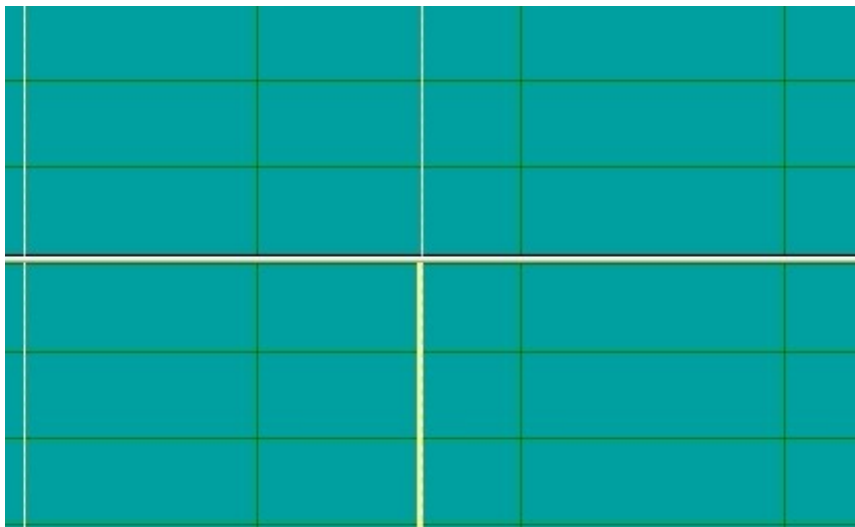
A készülék standard pencil fejt (MNP100XP, Oxford Optronics Ltd., Egyesült Királyság) az ischaemiás- és nem ischaemiás májleány, a jejunum kacs anti-mesenterialis szélén, valamint a jobb vese anterior felszínére helyeztük (12. ábra).

A készülék által kifejezett érték, a BFU (blood flux unit) egy relatív, dimenzió nélküli szám. A változás mértéke egyenesen arányos a mozgó vörösvérsejtek számával és sebességével, azonban független a mozgásuk irányától (Stern, 1975; Obeid és mtsai, 1990; Németh és mtsai, 2003).



12. ábra
A standard pencil fej alkalmazása a máj felszínén

A mérőfej rögzítése és a jel stabilizációját követően 20 másodperces időintervallumon keresztül regisztráljuk a görbét, melyek off-line analizálása után kapjuk meg az eredményeket (13. ábra).



13. ábra
A lézer Doppler áramlásmérő által rögzített reprezentatív görbe

4.5. Laboratóriumi vizsgálatok

4.5.1. Sav-bázis paraméterek

A sav-bázis paraméterek mérésére, hordozható, vezeték nélküli kézi EPOC® Blood Analysing System készüléket használtunk (Siemens Healthcare GmbH, Németország), mellyel meghatározásra kerültek a vérgáz paraméterek, az elektrolit és metabolikus értékek. A méréshez megközelítőleg 0,1 ml vérmennyiség szükséges. Kísérletünkben vizsgáltuk a pH-t, a laktát koncentrációt valamint a pO_2 -t és pCO_2 -t (14. ábra).



14. ábra

EPOC® Blood Analysing System készülék
(Siemens Healthcare GmbH, Németország)

4.5.2. Haematologiai paraméterek

Meghatároztuk a mennyiségi és minőségi haematologiai paramétereket (Vvs [T/l], Hgb [g/dl], Htc [%], MCH [pg], MCV [fl], MCHC [g/dl], Fvs [G/l], Thc [G/l]), melyhez Sysmex F-4500 (TOA Medical Electronics Corp., Ltd., Japán) haematologiai automatát használtunk.

A készülék fotometriás elven határozza meg haemoglobin koncentrációt (Hgb [g/dl]), majd impedancia-elven történő sejtszeparálás (leukocyták: ~30-300 fl, erythrocyták: ~25-250 fl, thrombocyták: ~2-30 fl) alapján ezekből származtatva adja meg a paramétereket (15. ábra).



15. ábra
Sysmex F-4500 haematologiai automata
(TOA Medical Electronics Corp., Ltd., Japán)

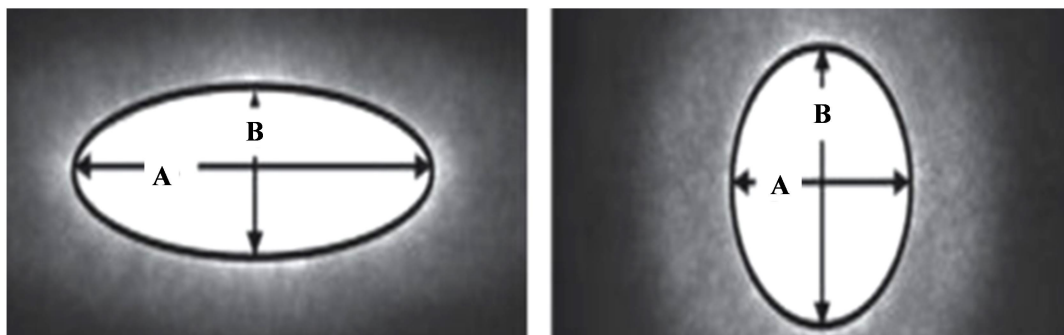
4.5.3. Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejtek deformabilitását LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer (Mechatronics BV, Hollandia) segítségével mértük, mely készülék a vörösvérsejtek nyírófeszültséggel (shear stress, tartomány: 0,5-30 Pa) szemben mutatott elnyújthatóságát méri lézer diffrakciós módszerrel (16. ábra).

A lézer diffrakciós ellipszometria vagy ektacytometria széles körben használt eljárás a vörösvérsejtek elnyújthatóságának vizsgálatára (Hardeman, 2007; Baskurt és mtsai, 2009; Musielak és mtsai, 2009). A készülékben a magas viszkozitású közegben szuszpendált vörösvérsejtek a nyírófeszültség hatására elnyúlnak, a felületükről szóródó lézersugárnyalábok létrehoznak egy diffraktogramot, melynek optikai analízise adja az elongációs indexet (17. ábra).



16. ábra
LoRRca MaxSis Osmocan osmometer
(Mechatronics BV, Hollandia)



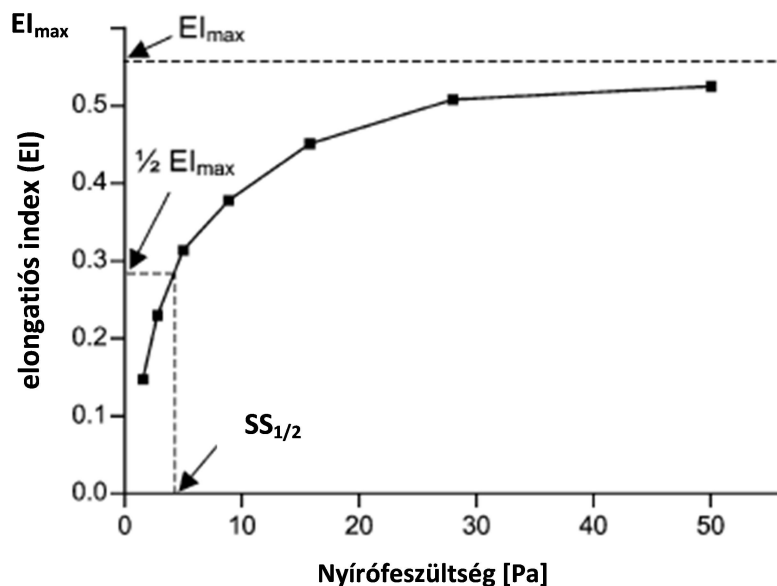
17. ábra
Az elongációs index kalkulálása a lézersugárnyalábok által kialakult diffraktogram optikai analízise alapján: elongációs index $(EI) = (A-B) / (A+B)$
(Hardeman, 2007)

A mérések szempontjából fontos komponenst jelent a szuszpendáló közeg, hiszen egy magas viszkozitású közegre van szükség a nyírófeszültség vörösvérsejtekre történő átadásához, melynek következtében a vörösvérsejtek elongálódni tudnak. Az elnyújthatóság mértéke, így a mérések érzékenysége is függ a közeg viszkozitásától (Fisher és Schmid-Schönbein, 1978; Hardeman, 2007). Jelen munkában szuszpendáló közegként polyvinylpyrrolidone (PVP) – foszfát puffer (PBS) oldatot (PVP: 360 kDa, Sigma-Aldrich

Co. USA) használtunk. A PVP-PBS oldat viszkozitása 22,5 mPas, osmolalitása 326 mOsmol/kg, pH-ja 7,1 volt. Méréseink során 10 µl vért szuszpendáltunk 2 ml PVP-PBS oldatban.

Az alkalmazott 0,5-30 Pa nyírófeszültség (shear stress, SS [Pa]) függvényében rögzíthető az elongációs index profil, ahol a magasabb EI értékek a jobb vörösvérsejt deformabilitást tükrözik (Hardeman, 2007; Baskurt és mtsai, 2009a; Baskurt és mtsai, 2009b).

A kapott eredmények összehasonlítása történhet egy-egy kiválasztott nyírófeszültség értékhez rendelt EI összehasonlításával (pl. EI 3 Pa nyírófeszültségnél) vagy az egyszerűbb összehasonlíthatóság érdekében a görbét leíró számított paraméterekkel. Az egyes EI-nyírófeszültség görbék elemzésére a Lineweaver-Burke analízist ($1/EI = SS_{1/2} / EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$) használtuk (18. ábra), meghatározva a maximális elongációs index értéket (EI_{max}), valamint annak feléhez tartozó nyírófeszültséget ($SS_{1/2}$ [Pa]) (Baskurt és Meiselman, 2004; Baskurt és mtsai, 2009b).



18. ábra

Az elongációs index görbe és a számított paraméterek
(Baskurt és Meiselman, 2004 alapján)

4.5.4. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregációs készségének vizsgálatára a fény-transzmissziós elven működő Myrenne MA-1 Erythrocyta aggregometer (Myrenne GmbH, Németország) alkalmaztuk (19. ábra). A mérésekhez 20 µl vérminta szükséges. Lehetőség van a vörösvérsejt reverzibilis összekapcsolódásának vizsgálatára stasisnál (0 s^{-1} , M index) és alacsony sebesség-grádiensnél (3 s^{-1} , M1 index). Az aggregatio folyamata időben követhető, a mérések 5 vagy 10 másodperccel az aggregatio megindulását követően történnek a készülékben (Baskurt és mtsai, 2009a; Hardeman, 2007). Ezek alapján a készülék négyféle aggregációs index paramétert határoz meg: M 5s, M1 5s, M 10s és M1 10s indexeket. A magasabb érték nagyobb mértékű vörösvérsejt aggregációra utal (Hardeman, 2007).



19. ábra
Myrenne MA-1 Erythrocyta aggregometer
(Myrenne GmbH, Németország)

4.6. Szövettani vizsgálat

A megfigyelt ischaemia-reperfúziós periódus végén hisztopatológiai vizsgálatok céljából szövettani mintavétel történt a bal laterális májlebenyből. A szövettani mintákat 10%-os formalinos fixálást követően a Debreceni Egyetem ÁOK Patológiai Intézetébe küldték, ahol paraffinba ágyazás és mikrotómmal 4 µm vastagságú szeletek metszése történt.

Haematoxylin & eosin és PAS festés készült az ischaemia-reperfusio okozta morfológiai eltérések és csoportok közötti különbségek analizálása céljából. A károsodás mértékének számszerű kiértékeléséhez az irodalomból ismert Suzuki pontrendszer alkalmaztuk (Suzuki és Robinson, 1994). Tapasztalt patológus az ischaemia-reperfusió károsodás három különböző jellegzetes szövettani jelét (sinusoidalis congestio, necrosis, vacuolisatio) kísérleti állatonként 0-tól 4-ig terjedő pontszámmal értékelt, az eltérés súlyosságától függően (III. táblázat).

III. táblázat Suzuki pontrendszer (Suzuki és Robinson alapján, 1994)

	Sinusoidalis pangás	Necrosis	Vacuolisatio
0	nincs	nincs	nincs
1	enyhe	egy-egy sejtnecrosis	enyhe
2	közepes	0-30%	közepes
3	súlyos	30-60%	súlyos
4	nagyon súlyos	több mint 60%	nagyon súlyos

4.7. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzések elvégzésére SigmaStat szoftvert alkalmaztunk (Systat software Inc., San Jose, California, USA).

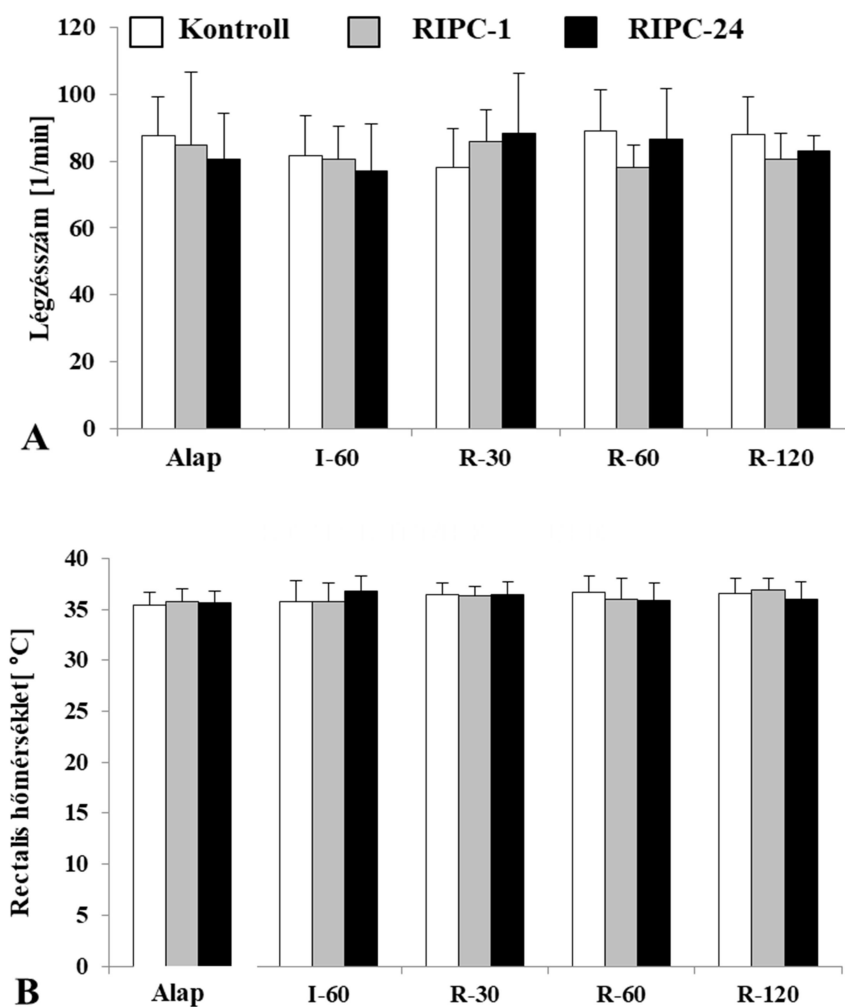
A mérések során kapott adatok átlag és standard deviáció formájában lettek feltüntetve. Az adatok eloszlásának függvényében a csoporton belüli alaphoz viszonyított változások értékelésére ANOVA tesztet (Dunn- vagy Bonferroni módszer), valamint a csoportok közötti különbségek összehasonlítására Student féle t-tesztet vagy Mann-Whitney tesztet használtunk. Az eredményeket $p < 0,05$ mellett tekintettük szignifikánsnak.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Légzésszám, hőmérséklet

A légzésszám tekintetében nem mutatkozott szignifikáns különbség, bár mérsékelt emelkedést detektáltunk a Kontroll és az RIPC-24 csoportban a reperfusio ideje alatt.

A rectalis hőmérséklet közel azonos volt a különböző mérési időpontokban minden vizsgálati csoportban (20. ábra).

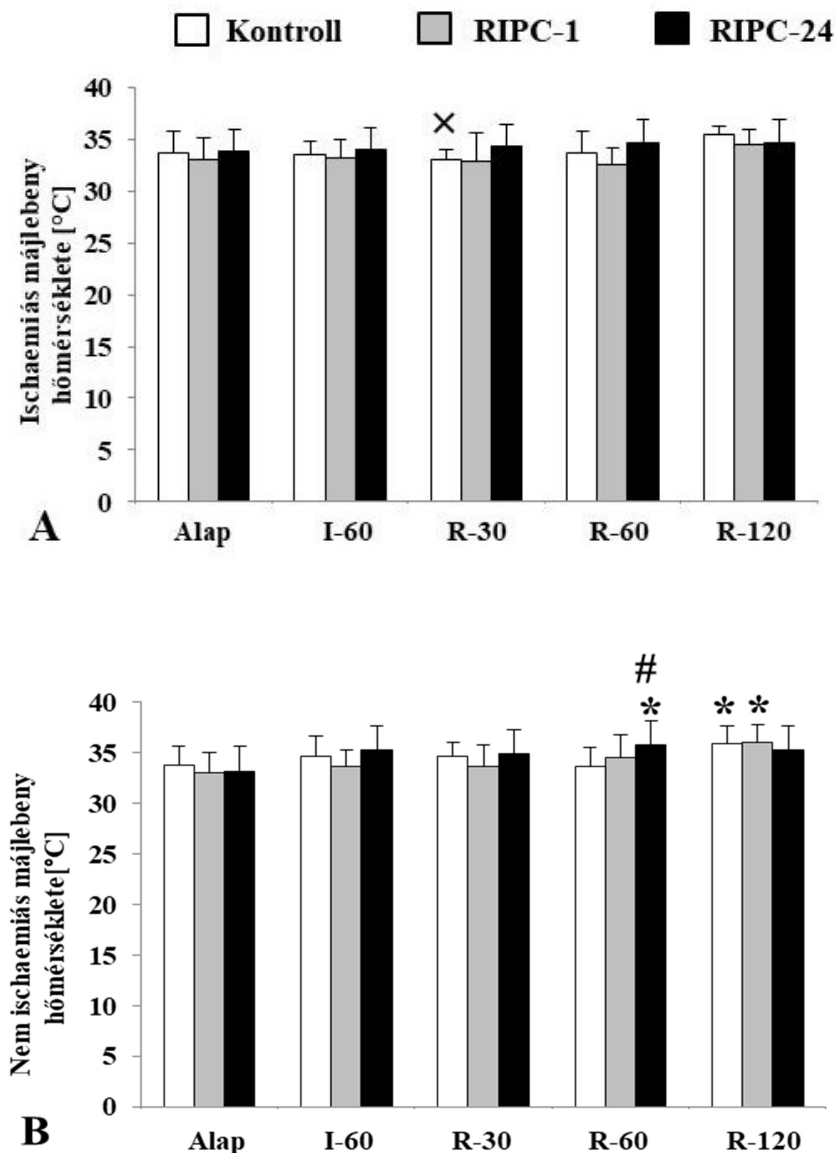


20. ábra

A légzésszám (A) és a rectalis hőmérséklet (B) változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, I-60= ischaemia 60. perc, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc. Átlag \pm S.D.

Az ischaemiás és nem ischaemiás májleány felszíni hőmérséklet értékeit elemezve megállapítható, hogy a nem ischaemiás májleány hőmérséklete emelkedett volt a Kontroll és az RIPC-1 csoportban a reperfusio végére (Kontroll vs. Alap $p=0,049$, RIPC-1 vs. Alap $p=0,012$). Az RIPC-24 csoport esetében az értékek nőttek a reperfusio 60. percére (RIPC-24 vs. Alap $p=0,002$) (21. ábra).



21. ábra

Az ischaemiás májleány hőmérsékletének (A) és a nem ischaemiás májleány hőmérsékletének változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, I-60= ischaemia 60. perc, R-30= reperfusio 30. perc,

R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.

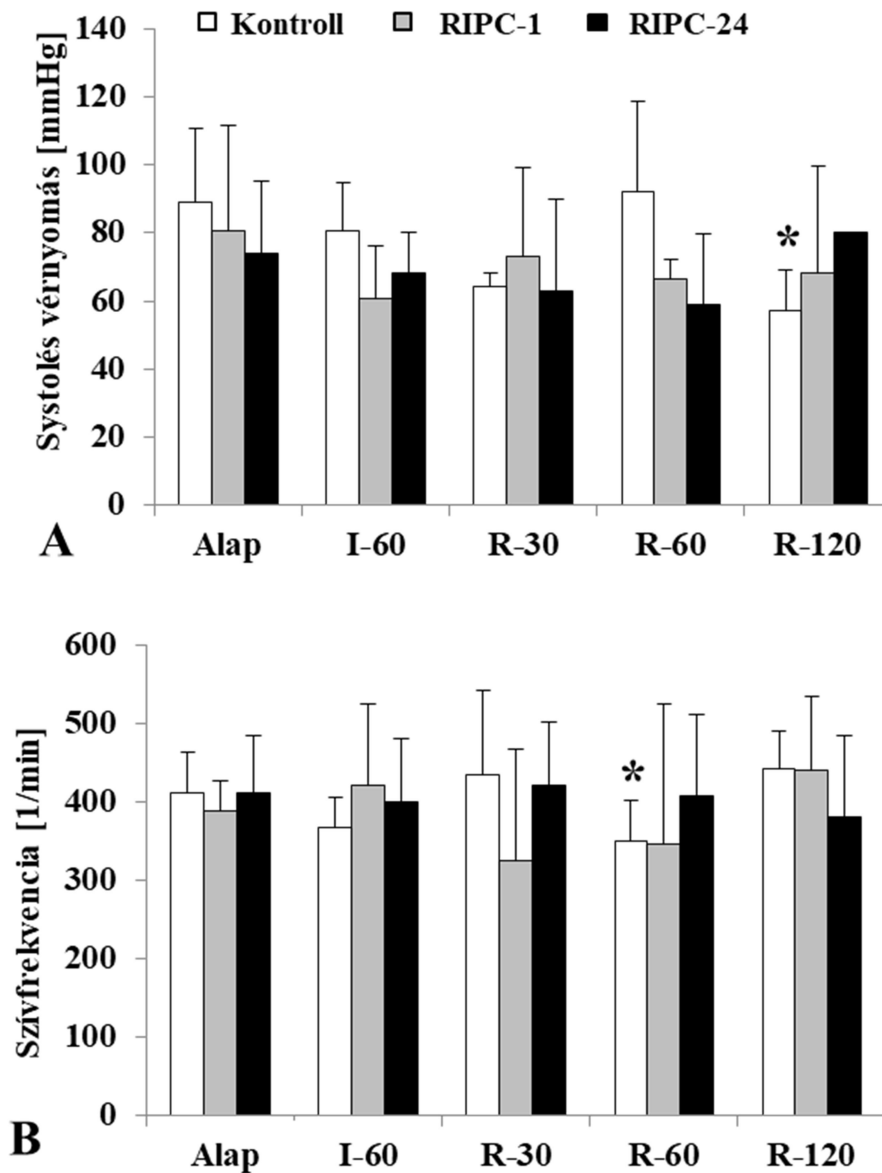
Átlag \pm S.D.; * $p<0,05$ vs. Alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll; \times $p<0,05$ vs. Nem-ischaemiás májleány

Összehasonlítva a különböző csoportok értékeit azonos mértékű változásokat találtunk. A reperfusio 60. percére szignifikáns különbség mutatkozott a Kontroll és az RPC-24 csoport között ($p=0,032$ vs. Kontroll). Az ischaemiás és nem ischaemiás májleány adatai hasonlóak voltak és a megfigyelt változások is azonos mintázatot követtek a kísérlet időtartama alatt. Egy esetben szignifikáns eltérést regisztráltunk a Kontroll csoportban a reperfusio 30. percében ($p=0,015$ vs. Nem ischaemiás májleány) (21. ábra).

5.2. Hemodinamikai paraméterek

A Kontroll csoportban a systolés vérnyomás értékek folyamatos csökkenést mutattak az ischaemia ideje alatt és a reperfusio 30. percére, majd a kiindulási értékekhez hasonló szintet érték el. A reperfusio 120. percére az értékek drámaian csökkentek, mely változás az alap értékekhez képest szignifikáns volt a Kontroll csoportban ($p=0,022$ vs. Alap). A systolés vérnyomás értékek mindkét preconditionált csoportban alacsonyabbak voltak a műtét kezdetén a Kontroll csoporthoz képest, majd mérsékelt csökkenés volt megfigyelhető, azonban a reperfusio végére az értékek meghaladták a Kontroll csoportnál mért adatokat (22. ábra).

A szívfrekvencia változásai mérsékelt fluktuációt mutattak a Kontroll csoportban, az értékek szignifikánsan csökkentek az alap értékekhez viszonyítva ($p=0,045$ vs. Alap). Az RPC-1 csoportban a szívfrekvencia csökkent a reperfusio 30. és 60. percére, majd a 120. percre ismét emelkedett. Az RPC-24 csoportban megközelítőleg azonos szívfrekvencia értékeket mértünk a vizsgálati periódus alatt (22. ábra). Szignifikáns különbség azonban nem volt megfigyelhető.



22. ábra

A systolés vérnyomás (A) és a szívfrekvencia (B) változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, I-60= ischaemia 60. perc, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.

Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. Alap

5.3. Microcirculatio

Az ischaemiás májleibenyen mért BFU értékeket elemezve hasonló mintázatot figyeltünk meg a műtét kezdetén és az ischaemia végén minden csoportban. A reperfusio 30. percére az RIPC-24 csoportban az értékek szignifikánsan csökkentek (p=0,021 vs. Alap;

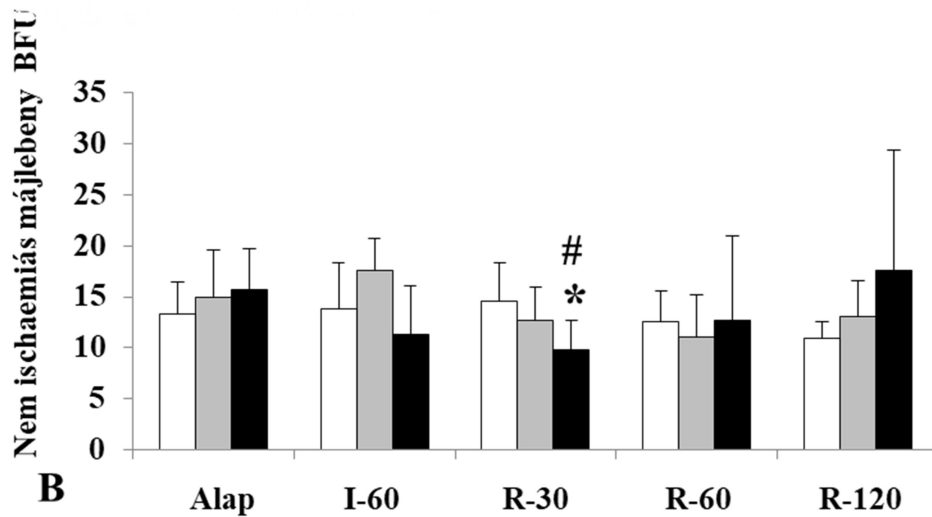
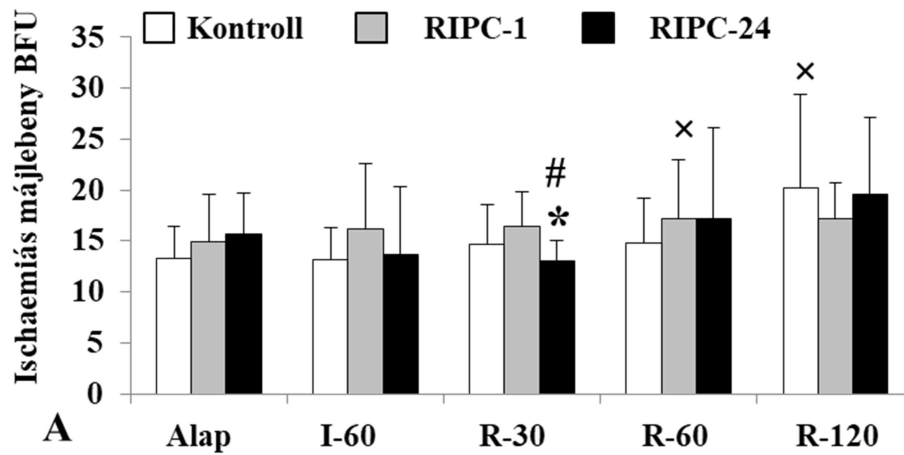
$p=0,036$ vs. Kontroll). A reperfusio 120. percére a BFU értékek mérsékelten emelkedtek mindhárom kísérleti csoportban, de szignifikáns különbség nem volt (23. ábra).

A nem ischaemiás májlebeny BFU értékei nem mutatottak lényeges eltérést a Kontroll csoportban. Az RIPC-1 csoportban a BFU értékek mérsékelten emelkedtek az ischaemia végére, majd fokozatosan csökkentek a reperfusió periódus végére, bár szignifikáns különbséget nem észleltünk. Az RIPC-24 csoportban a BFU paraméterek folyamatosan csökkentek a reperfusio 30. percéig ahol a különbség szignifikánsnak mutatkozott, mind az alap értékekhez, mind a Kontroll csoporthoz viszonyítva ($p=0,021$ vs. Alap; $p=0,036$ vs. Kontroll) (23. ábra).

A Kontroll csoport esetében az ischaemiás májlebenynél mért BFU érték a nem ischaemiás májlebeny BFU szintjéhez viszonyítva szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott a reperfusio 120. percében ($p=0,035$ vs. Nem ischaemiás májlebeny), az RIPC-1 csoportban pedig a reperfusio 60. percében mértünk szignifikánsan alacsonyabb értéket ($p=0,043$ vs. Nem ischaemiás májlebeny) (23. ábra).

A vékonybél jejunum kacsának anti-mesenterialis szélén mért BFU paraméterek emelkedtek az ischaemiás periódus végére a Kontroll és az RIPC-24 csoportban, majd csökkentek a reperfusio ideje alatt, azonban szignifikáns különbség nem mutatkozott. A reperfusio 60. percében szignifikánsan alacsonyabb értéket mértünk az RIPC-1 csoportban a Kontroll csoporthoz képest ($p=0,038$ vs. Kontroll) (24. ábra).

Az RIPC-1 és RIPC-24 csoport BFU értékeit összehasonlítva, a jobb vese mikrokeringésének monitorozása során az RIPC-1 csoportban magasabb értékeket regisztráltunk statisztikailag szignifikáns különbség nélkül. Az RIPC-24 csoport BFU értékeiben bekövetkezett változások szignifikánsak voltak az ischaemia 60. és a reperfusio 60. percében a Kontroll csoporthoz képest ($p=0,001$ vs. Kontroll I-60; $p=0,01$ vs. Kontroll R-60) (24. ábra).



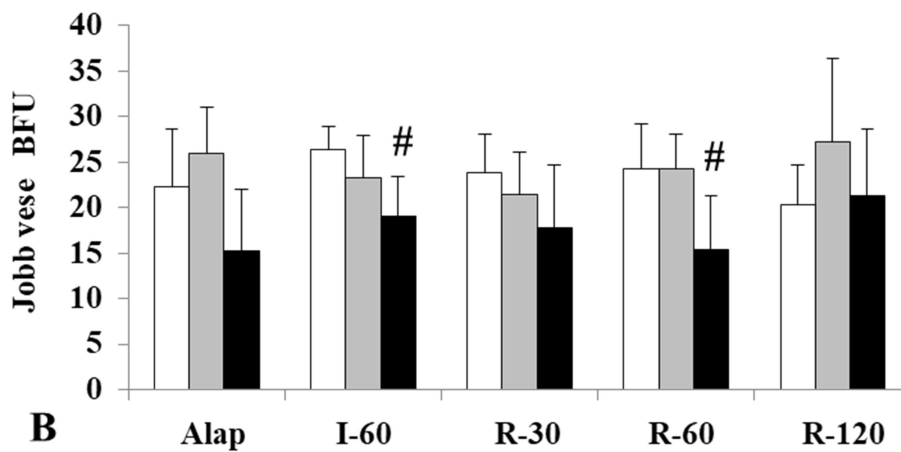
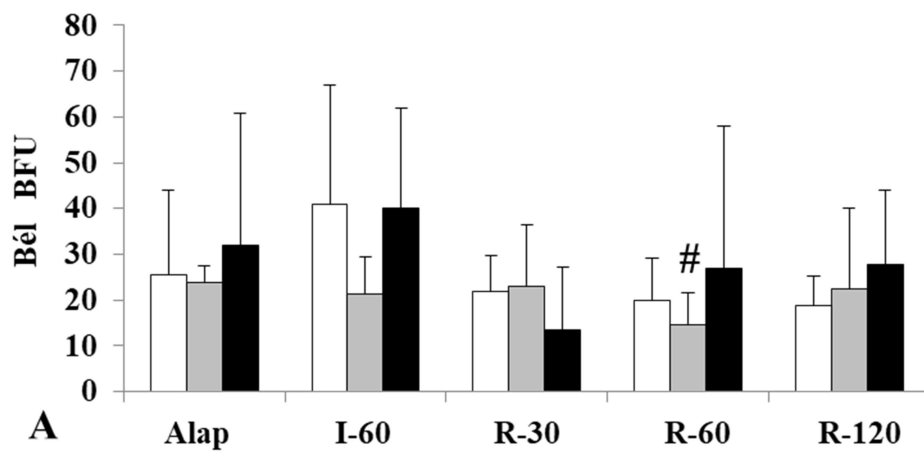
23. ábra

Az ischaemiás májlebeny (A), a nem ischaemiás májlebeny (B) BFU értékeinek változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, I-60= ischaemia 60. perc, R-30= reperfusio 30. perc,

R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.

Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. Alap; # p<0,05 vs. Kontroll; × p<0,05 vs. Nem ischaemiás májlebeny



24. ábra

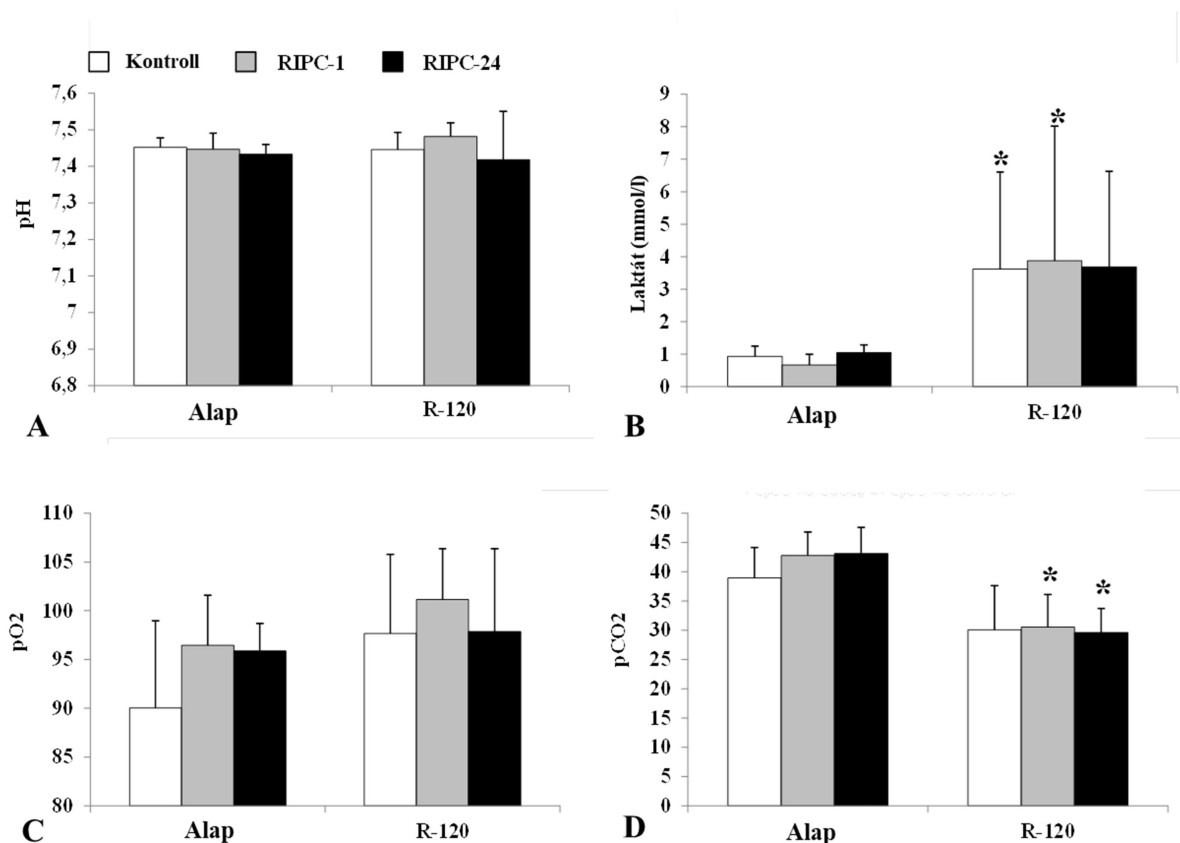
A bél (A), és a jobb vese (B) BFU értékeinek változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.
 Alap= ischaemia előtt, I-60= ischaemia 60. perc, R-30= reperfusio 30. perc,
 R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.
 Átlag ± S.D.; # p<0,05 vs. Kontroll

5.4. Laboratóriumi paraméterek

5.4.1. Sav-bázis paraméterek

A pH értékek vonatkozásában a megfigyelt reperfúziós periódusban minden csoportban mérsékelt változások mutatkoztak. Sem a csoportok közötti adatokban, sem az alap értékekhez viszonyított változásokban nem volt szignifikáns eltérés (25. ábra).

A vizsgált időszak végére a laktát koncentráció szignifikánsan nőtt a Kontroll és az RIPC-1 csoportokban (Kontroll: $p=0,01$; RIPC-1: $p=0,009$), bár a kísérleti csoportok között szignifikáns eltérés nem volt megfigyelhető. Ha a relatív értékeket, azaz az alaphoz viszonyított változás mértékét vizsgáljuk, úgy megállapítható, hogy az RIPC-1 csoportban magasabb értékek voltak megfigyelhetőek az RIPC-24 csoporthoz viszonyítva (Kontroll: $p=0,016$; RIPC-1: $p=0,002$; RIPC-24: $p=0,029$) (25. ábra).



25. ábra

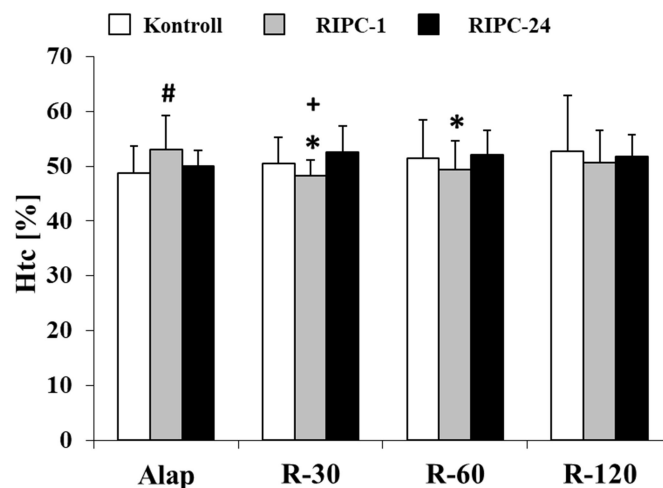
A pH (A), a laktát koncentráció (B), a pO_2 (C) és a pCO_2 (D) változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, R-120= reperfusio 120. percében. Átlag \pm S.D.; * $p < 0,05$ vs. Alap

A reperfusio végére a pO_2 értékek mindhárom csoportban emelkedtek, bár szignifikáns eltérés nem volt megfigyelhető. A pCO_2 paraméterek minden vizsgálati csoportban csökkentek, szignifikáns változást mutatva a preconditionált csoportokban (RIPC-1: $p < 0,001$ vs. Alap; RIPC-24: $p < 0,001$ vs. Alap). Csoportok közötti összehasonlításban szignifikáns különbség nem volt (25. ábra).

5.4.2. Haematologiai paraméterek

A mennyiségi és minőségi haematologiai paramétereket a IV. táblázat foglalja össze. A vörösvérsejtszám és a haematocrit (Htc [%]) mérsékelt emelkedést mutattak a megfigyelt reperfusió időszak ideje alatt a Kontroll és az RIPC-24 csoportban. Az RIPC-1 csoportban szignifikánsan alacsonyabb haematocrit értékeket mértünk a reperfusio 30. és 60. percében (RIPC-1: $p = 0,021$, $p = 0,039$). Az alapértékek tekintetében szignifikáns különbség mutatkozott a Kontroll és az RIPC-1 csoport között (RIPC-1: $p = 0,049$). Bár az eltérés mértéke nem volt szignifikáns, a haematocrit értékek folyamatos növekvő tendenciája volt megfigyelhető a követési periódusban a Kontroll csoportban (26. ábra).



26. ábra

A haematocrit koncentráció változásai
a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc,
R-120= reperfusio 120. perc.

Átlag \pm S.D.; * $p < 0,05$ vs. Alap; # $p < 0,05$ vs. Kontroll; + $p < 0,05$ vs. RIPC-24

IV.táblázat A haematologiai paraméterek összehasonlító adatai

		Alap	R-30	R-60	R-120
Vvs	Kontroll	7,44 ± 1,69	7,85 ± 1,13	8,1 ± 1,02	7,92 ± 0,41
[T/l]	RIPC-1	8,13 ± 0,51	7,85 ± 0,36 ⁺	7,7 ± 0,46 ^{*+}	7,97 ± 0,41 ⁺
	RIPC-24	8,59 ± 0,37	8,77 ± 0,41	8,8 ± 0,57	8,87 ± 0,6 [#]
Hgb	Kontroll	11,53 ± 2,92	12,41 ± 1,2	12,51 ± 1,62	12,4 ± 1,21
[g/dl]	RIPC-1	12,72 ± 1,05	12,13 ± 0,48 ⁺	11,87 ± 0,62 ^{*+}	12,26 ± 1,14 ⁺
	RIPC-24	12,99 ± 0,97	13,15 ± 0,86	13,07 ± 1,28	13,13 ± 1,05
MCH	Kontroll	15,41 ± 1,08	15,55 ± 1,05	15,45 ± 0,91	15,63 ± 0,81
[pg]	RIPC-1	15,65 ± 0,77	15,47 ± 0,67 ⁺	15,44 ± 0,76 ⁺	15,34 ± 0,78
	RIPC-24	15,12 ± 0,66	14,98 ± 0,46	14,82 ± 0,57	14,81 ± 0,51 [#]
MCV	Kontroll	60,03 ± 2,16	62,42 ± 6,7	61,94 ± 3,38	60,83 ± 1,76
[fl]	RIPC-1	62,53 ± 2,16	60,53 ± 2,62	61,71 ± 1,83 ⁺	61,28 ± 2,61 ⁺
	RIPC-24	58,32 ± 2,04	59,66 ± 3,9	57,93 ± 1,81 [#]	58,17 ± 1,47 [#]
MCHC	Kontroll	25,63 ± 1,32	25,03 ± 1,24	24,96 ± 0,62	25,7 ± 0,91
[g/dl]	RIPC-1	25,03 ± 1,4	25,57 ± 0,82	25,03 ± 1,24	25,1 ± 1,46
	RIPC-24	25,95 ± 1,25	25,18 ± 1,3	25,6 ± 0,99	25,38 ± 0,67
Fvs	Kontroll	5,61 ± 2,54	5,69 ± 1,44	5,42 ± 0,9	4,86 ± 1,22
[G/l]	RIPC-1	6,81 ± 2,87	6,97 ± 1,57	6,9 ± 1,6 ^{##}	6,53 ± 2,36
	RIPC-24	5,36 ± 0,97	6,38 ± 1,95	5,72 ± 1,15	5,62 ± 1,76
Thc	Kontroll	737,88 ± 275,29	844,1 ± 142,77	726,6 ± 179,81	661,63 ± 261,72
[G/l]	RIPC-1	914,08 ± 227,62	781,5 ± 205,83	790,67 ± 199,45	712,92 ± 180,87*
	RIPC-24	856,92 ± 157,63	766,75 ± 216,59	733,25 ± 221,92	748,92 ± 228,95

Vvs=vörösvérsejt szám, Hgb=haemoglobin, MCH = mean corpuscular haemoglobin, MCV = mean corpuscular volume, MCHC = mean corpuscular haemoglobin concentration, Fvs = fehérvérsejtszám, Thc= thrombocyta szám.

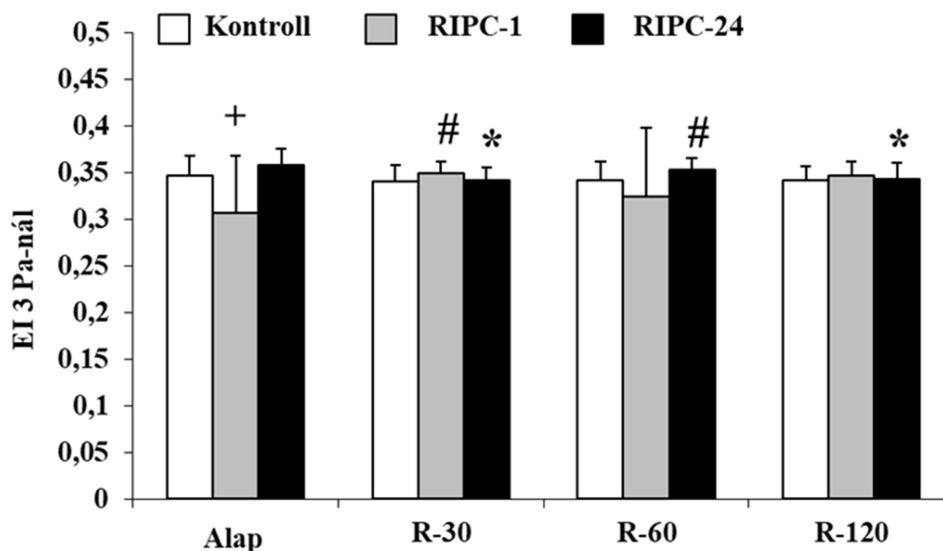
Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. Alap; # p<0,05 vs. Kontroll; ⁺ p< 0,05 vs. RIPC-24

5.4.3. Vörösvérsejt deformabilitás

Az elongációs index-nyírófeszültség görbékét elemezve megállapítható, hogy a vörösvérsejtek deformabilitási képessége javult az RIPC-1 csoportban, mivel az elongációs index értékek magasabbak voltak a reperfusió periódus végére (27. ábra).

A 3 Pa-nál mért elongációs index értékek csökkenése szignifikáns volt a reperfusio 30. (p=0,031 vs. Alap) és 120. (p=0,008 vs. Alap) percére az RIPC-24 csoportban. Az értékek magasabbak voltak a reperfusio 30. perce után az RIPC-1 csoportban (p=0,041 vs. Kontroll) és a reperfusio 60. percét követően az RIPC-24 csoportban (p=0,022) a Kontroll csoporthoz viszonyítva (27. ábra).

A kalkulált paraméterek esetében az EI_{max} és $SS_{1/2}$ hányadosában ($EI_{max}/SS_{1/2}$) szignifikáns változás mutatkozott az RIPC-24 csoportban a reperfusio 30. és 120. percére (p=0,043 vs. Alap; p=0,002 vs. Alap) (28. ábra).

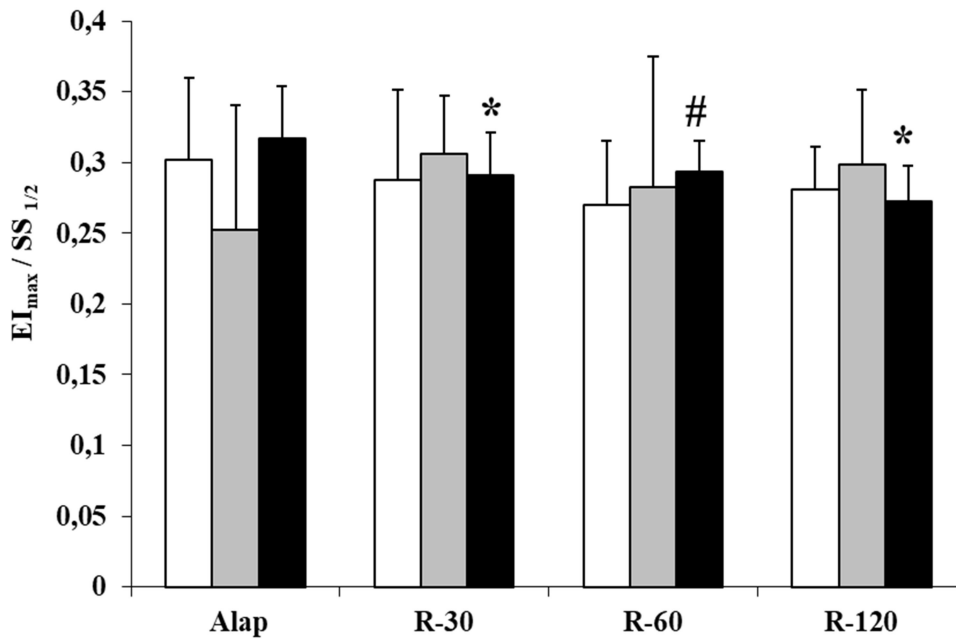


27. ábra

A 3 Pa-nál mért elongációs index (EI) változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.

Átlag \pm S.D.; * p<0,05 vs. Alap; # p<0,05 vs. Kontroll; + p<0,05 vs. RIPC-24



28. ábra

A $EI_{max}/SS_{1/2}$ változásai a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.
 Alap= ischaemia előtt, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.
 Átlag \pm S.D.; * $p < 0,05$ vs. Alap; # $p < 0,05$ vs. Kontroll

5.4.4. Vörösvérsejt aggregatio

A Myrenne aggregometer segítségével négy vörösvérsejt aggregációs paraméter (M 5s, M1 5s, M 10s, M1 10s) került meghatározásra.

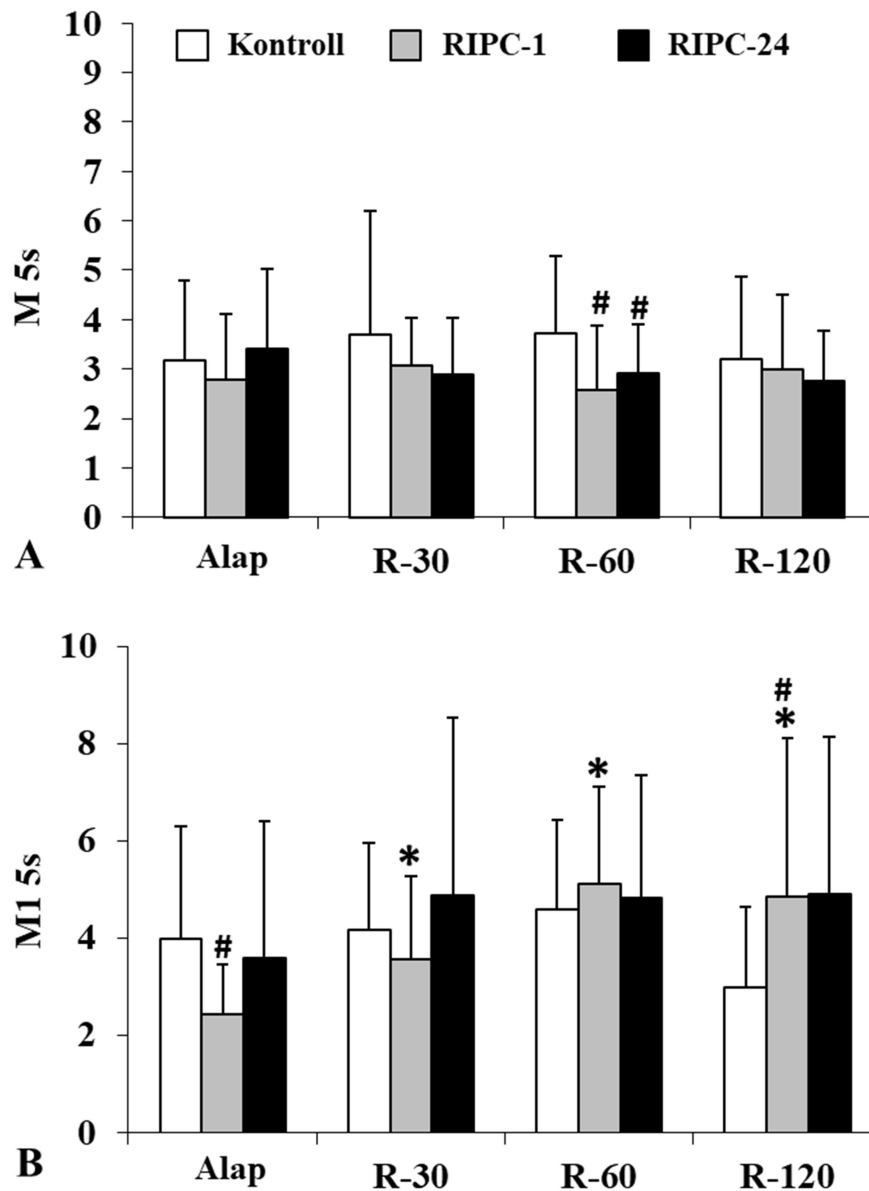
A Kontroll csoportban mérsékelt emelkedés volt megfigyelhető a reperfusio 30. és 60. percében, majd az aggregációs index paraméterek csökkentek a megfigyelt reperfusió időszak végére.

Stasisnál az értékek csökkentek mindkét preconditionált csoportban a reperfusio ideje alatt, de érdekes módon az eredmények ellentétesek voltak az alacsony sebesség-grádiens mellett végzett mérési módban, ahol az aggregációs index értékek folyamatosan emelkedtek, legkifejezettebben az RIPC-24 csoportban (29. és 30. ábra).

A növekedés mértéke szignifikánsnak mutatkozott az RIPC-1 csoportban a reperfusio 30. (M1 5s: $p=0,011$ vs. Alap), 60. (M1 5s: $p < 0,001$, M1 10s: $p=0,042$ vs. Alap) és 120. percében (M1 5s: $p=0,002$, M1 10s: $p < 0,001$ vs. Alap) (29. és 30. ábra).

Az aggregációs index értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak az RIPC-24 csoportban a Kontroll csoport értékeihez viszonyítva a műtét előtt (M 10s: $p=0,033$), valamint a reperfusio 30. (M 10s: $p=0,008$) és 60. (M5s: $p=0,031$) percében (29. és 30. ábra).

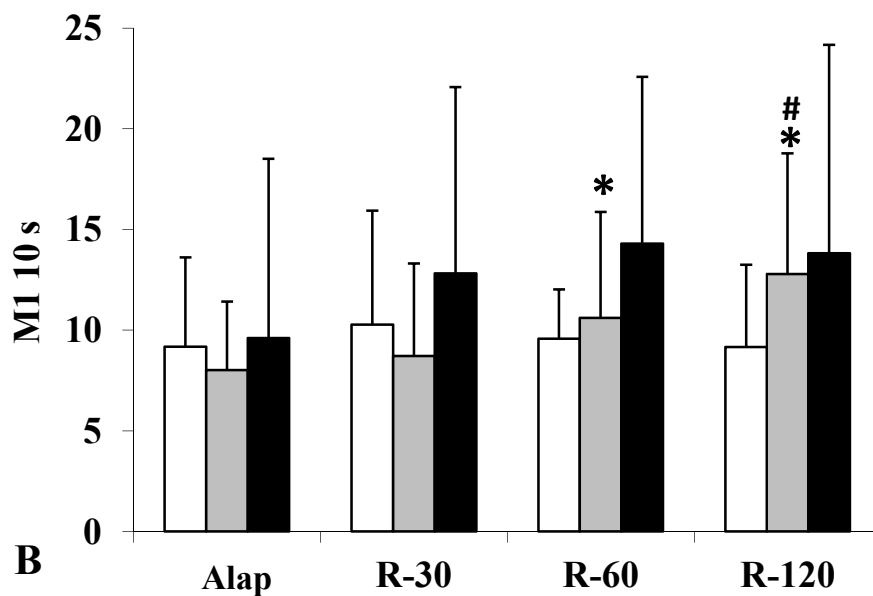
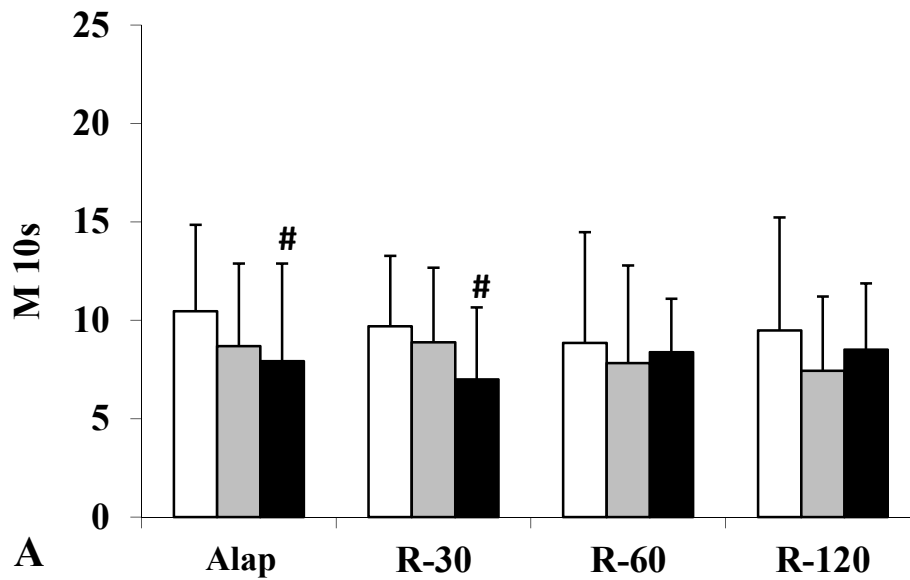
AZ RIPC-1 csoportban szignifikáns változásokat észleltünk a műtét kezdetén (M1 5s: $p=0,05$), R-60 (M 5s: $p=0,031$) és R-120 (M1 5s $p=0,048$) mérési időpontokban (29. ábra).



29. ábra

A vörösvérsejt aggregációs index változásai M 5s (A), M1 5s (B) módban a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.
 Átlag \pm S.D.; * $p<0,05$ vs. Alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll



30. ábra

A vörösvérsejt aggregációs index változásai M 10s (A), M1 10s (B) módban a Kontroll, RIPC-1 és RIPC-24 csoportokban.

Alap= ischaemia előtt, R-30= reperfusio 30. perc, R-60=reperfusio 60. perc, R-120= reperfusio 120. perc.

Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. Alap; # p<0,05 vs. Kontroll

5.5. Szövetteni vizsgálatok

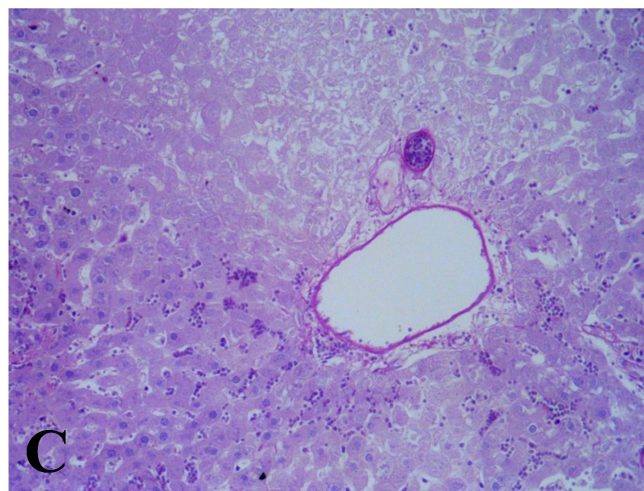
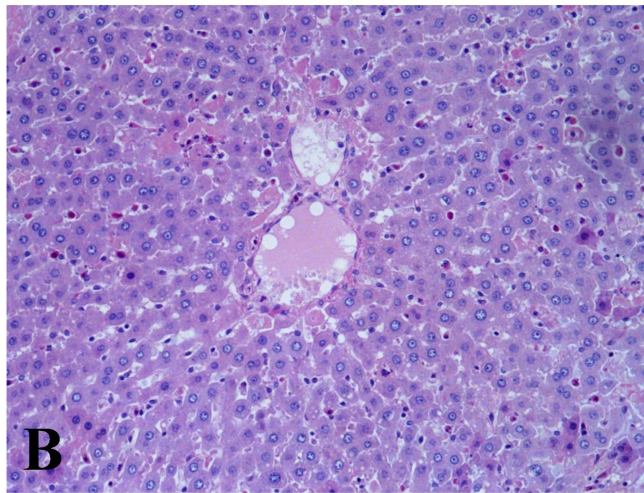
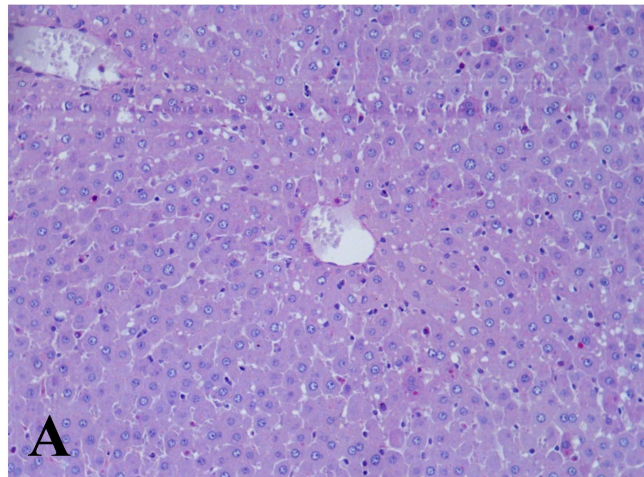
Jelen tanulmányban a következő szövetteni eltéréseket figyeltük meg ischaemia-reperfusiót követően:

- sinusoidalis congestio jelei
- pericentralis desorganisatio
- necrosis a pericentralis régióban
- hepatocytá dilatatio
- gyulladás jelei
- a centralis zónában a cytoplasma eosinophilabb és homogénebb volt.

A hisztológiai változásokat számszerűsítve megállapítható, hogy az ischaemiás májleány szövetteni metszeteiben mérsékelt sinusoidalis congestio, necrosis és a vizsgált minták 50%-ban enyhe vacuolisatio volt megfigyelhető a Kontroll csoport esetében (31. ábra).

Az RIPC-1 csoport metszeteit vizsgálva azt találtuk, hogy a szövetkárosodás mértéke kifejezettebb volt a Kontroll csoporthoz képest, hiszen a sinusoidok közvetlen közelében elhelyezkedő necrotizált hepatocyták száma magasabb volt, továbbá congestio és gyulladásos sejtek jelenléte is igazolódott. Hasonló hisztopatológiai eltérések mutatkoztak az RIPC-24 csoportban, azonban a vacuolisatio mértéke erőteljesebb volt, és a Suzuki pontrendszer alapján kalkulált összpontszám is magasabb volt az RIPC-1 és Kontroll csoport értékeinél (Kontroll: $4,125 \pm 1,96$; RIPC-1: $5,83 \pm 1,6$; RIPC-24: $6,13 \pm 2,12$).

A megfigyelt morfológiai eltérések alapján az alkalmazott preconditionálási protokollok egyike sem mérsékelte az ischaemia-reperfusio okozta károsodás mértékét, melynek háttérében feltételezhetően az RIPC-24 csoportban az anaesthesia, és mindkét preconditionált csoportban az operáció előtt megkezdődött akut fázis reakció hatásai állhatnak.



31. ábra

A Kontroll (A), RIPC-1 (B) és RIPC-24 (C) csoportok májból vett minták szövettani képe
H&E és PAS festés, eredeti nagyítás: 20X

6. MEGBESZÉLÉS

A máj ischaemia-reperfüziós károsodása felléphet műtéti beavatkozások során, csak úgy, mint máj resectio vagy transzplantáció és aorta- vagy szívműtét alkalmával. A májon végzett sebészeti beavatkozások során kialakuló ischaemia-reperfüziós károsodás vezető okként szerepel a szervi diszfunkció és postoperatív szövődmények kialakulásában (Henderson, 1999; Yue és mtsai, 2017).

Ischaemia-reperfüzio során a máj vérellátásának megszűnése, majd helyreállítása elsőként a metabolikus egyensúly felborulásához és sejtkárosodáshoz vezet, ezt követően pedig reaktív szabadgyökök képződnek és inflammatorikus útvonalak aktiválódnak, következményes szövetkárosodással (Eltzschig és mtsai, 2011; Zhai és mtsai, 2011). Számos faktor és mediátor részt vesz a máj ischaemia-reperfüziós károsodásában, valamint többféle típusú sejt (hepatocyták, sinusoidalis endothelsejtek, Kupffer sejtek, Ito sejtek) játszik szerepet ebben a komplex multifaktoriális folyamatban. Az ischaemia időtartamától és a máj parenchyma minőségi állapotától függően a károsodás mértéke széles határok között mozog az enyhe biokémiai változásoktól kezdve, a máj necrosison, májelégtelenségen át a halálig (Kim, 2003; Abu-Amara és mtsai, 2010b; Dello és mtsai, 2012; Feng és mtsai, 2012; Olthof és mtsai, 2017).

A csökkent oxigén és tápanyagellátás felerősíti a sejtkárosodást, mely mikrokeringési zavart és csökkent májfunkciót eredményez (Pannen és mtsai, 2002; Spiegel és mtsai, 2006), továbbá a vörösvérsejt rheológiai tulajdonságának változásaival, így a deformabilitási készség és az aggregatio romlásával jár (Baskurt, 2007; Németh és mtsai, 2014; Németh és mtsai, 2018). Jól ismert és irodalmi adatokkal is alátámasztott tény, hogy a micro-rheológiai paraméterek jelentős hatást gyakorolnak a mikrokeringésre (Schmid-Schönbein, 1976; Lipowsky, 2005; Jung és mtsai, 2011; Németh és mtsai, 2004 és 2014). Az ischaemia ideje alatt a vörösvérsejtek károsodnak, az elszenvedett morfológiai változások pedig romló

deformabilitást és megnövekedett aggregációs készséget eredményeznek, amelyet a „no-reflow” jelenség hatásai tovább súlyosbítanak (Reffelmann és Kloner, 2002).

Az ischaemia-reperfusio okozta károsodás adekvát megelőzése és kezelése jelentős kihívást jelent a transzplantáció és májsebészeti beavatkozások során (Kupcsulik és Kokas, 1979; Fondevila és mtsai, 2003; Selzner és mtsai, 2003; Zhai és mtsai, 2011). Számos farmakológiai és mechanikai eljárás ismert az ischaemia-reperfusió károsodás következtében kialakuló szöveti károsodás megelőzésére és mérséklésére (Kupcsulik és Kokas, 1979; Selzner és mtsai, 2003; Heusch és mtsai, 2015; Gilbo és mtsai, 2016). A különböző módszerek közös célja a májszövet ischaemiás tűrőképességének növelése, ezáltal lehetőség lenne hosszabb idejű lezorítások alkalmazására is, ami további vértelenséget biztosítana a máj műtétek elvégzése során.

A legtöbb ischaemia-reperfusio patofiziológiáját vizsgáló kutatás elsősorban az ischaemiát elszenvedő célszervre, vagy a gyulladást befolyásoló farmakológiai ágens megismerésére fókuszál, azonban a mechanikai prevenciók stratégiák (preconditionálás, postconditionálás, RIPC) haemorheológiai paraméterekre gyakorolt hatásáról szóló ismereteink csekélyek (Zhai és mtsai, 2011 és 2013; Heusch és mtsai, 2015; Pickard és mtsai, 2015; Gilbo és mtsai, 2016).

A különböző távoli szervi ischaemiás preconditionálási protokollok hatása a klinikumban és a kísérletes sebészetben is széles körben vizsgált. Az eljárás során alkalmazott különböző időtartamú és számú ischaemia-reperfusiók periódusok, a szövetmennyiség befolyásolhatja a beavatkozás kimenetelét és jótékony hatásait (Galagudza és mtsai, 2016).

A máj ischaemia-reperfusio esetében alkalmazott távoli szervi ischaemiás preconditionálás javítja a májfunkciót és a microvasculáris áramlást, melyet a kísérleti eredmények is alátámasztanak (Kanoria és mtsai, 2006; Tapuria és mtsai, 2009). Bár számos tényező befolyásolhatja az RIPC hatékonyságát, azonban az RIPC pontos mechanizmusát

illetően nem áll rendelkezésre kellő mennyiségű információ, a preconditionálási protokoll és a szervi ischaemia közötti ideális időintervallum sem ismert. Irodalmi adatok alapján gyermek szívsebészetben a. coronaria bypass során alkalmazva, a 24 órával az operációt megelőzően végrehajtott távoli szervi ischaemiás preconditionálási protokoll jótékony hatásai kifejezettebbek voltak (Cheung és mtsai, 2006).

A mechanizmus jobb megértése hasznos lehet az RIPC terápia alkalmazásának optimalizálásához. Az ischaemia-reperfúziós sérülések heterogenitása és az eltérő hatásmechanizmusok korlátozhatják az RIPC alkalmazási lehetőségeit.

A kísérletek tervezésénél figyelembe kell venni, hogy az általánosan használt anaestheticumok, analgeticumok hatást gyakorolhatnak a preconditionálás eredményére, mivel antagonizálhatják vagy utánozhatják annak védőhatását (Barbosa és mtsai, 2015; Schlapfer és mtsai, 2015). Számos kutatás bizonyítja, hogy az anaestheticumok interferálhatnak az RIPC hatására aktiválódó szignál-transzdukciós útvonalakkal, ily módon befolyásolhatják az RIPC jótékony hatásait. A propofol szívsebészeti alkalmazása csökkentheti az RIPC troponin T szintre gyakorolt kedvező hatását (Ney és mtsai, 2018).

Az ischaemia-reperfúzió által indukált micro-rheológiai és microcirculációs változások jól ismertek (Baskurt és Meiselman, 2003; Baskurt, 2007; Kusza és Siemionow, 2011; Németh és mtsai, 2014), de a máj ischaemia-reperfúzió során alkalmazott távoli szervi ischaemiás preconditionálás haemorrhológiai paraméterekre gyakorolt hatásairól jelenleg nem rendelkezünk kellő mennyiségű információval, a szakirodalomban fellelhető adatok alapján a kérdéskör több pontja még tisztázatlan (Grau és mtsai, 2016). Feltételeztük, hogy a micro-rheológiai paraméterek vizsgálata informatív lehet az RIPC mechanizmusának és hatásainak jobb megértésében. Továbbá feltételeztük, hogy az RIPC alkalmazásának ideje befolyással lehet az eredmények közötti különbségekre.

Tanulmányunk célja a parciális máj ischaemiát megelőző két különböző időben végzett távoli szervi ischaemiás preconditionálás vitális paraméterekre, mikrokeringési- és hemodinamikai paraméterekre, sav-bázis értékekre, haematologiai, micro-rheologiai, paraméterekre kifejtett hatásainak és a hisztomorfológiai változások vizsgálata volt.

Feltételeztük, hogy ezen vizsgálatok informatívak lehetnek a parciális máj ischaemiában alkalmazott távoli szervi ischaemiás preconditionálás patofiziológiai hátterének jobb megértésében.

Kísérletünk során az egyik csoportban 1 órával, a másik csoportban 24 órával a tervezett ischaemia előtt végzett RPC protokollt alkalmaztuk annak eldöntésére, hogy melyik bizonyul hatékonyabbnak a vizsgált paraméterek esetében.

Vizsgálati eredményeink azt mutatták, hogy a preconditionált csoportokban a systolés vérnyomás ingadozásai nem mozogtak olyan széles tartományban, mint az megfigyelhető volt a Kontroll csoportnál. Ez szintén megállapítható a szívfrekvencia értékek esetében. Feltételezhetően a távoli szervi ischaemiás preconditionálás hatással lehet a kísérleti állatok hemodinamikai státuszára. Klinikai vizsgálatok során Xu és munkatársai beszámoltak az alsó végtagi távoli szervi ischaemiás preconditionálás systolés és diastolés vérnyomásértékekre gyakorolt kedvező hatásairól szívkoszorúér betegségben szenvedő páciensek esetében. Eredményeik alapján, úgy tűnik, hogy az RPC jótékonyan befolyásolhatja a coronariák collateralis keringését és a coronariák perfúziós nyomását (Xu és mtsai, 2018).

Az ischaemiás és nem ischaemiás májleány felszínén mért hőmérséklet eredmények tekintetében az RPC-24 csoportban regisztráltunk magasabb értékeket a kísérlet időtartama alatt, bár a reperfusio végére a Kontroll és az RPC-1 csoportok értékei kismértékben meghaladták az RPC-24 csoport adatait.

Az ischaemiás májleány mikrokeringését vizsgálva az 1-órás preconditionálási protokoll kezdetben hatékonyabb védelmet biztosított az ischaemia-reperfusio okozta

károsodással szemben, hiszen itt magasabb BFU értékeket regisztráltunk. A reperfusio 120. percére azonban a 24-órás preconditionált csoport értékei bizonyultak jobbnak. A nem-
ischaemiás májlebeny esetében már a reperfusio 60. percétől az RIPC-24 csoportnál regisztráltunk magasabb értékeket. A bélnél az RIPC-24, míg a vesénél az RIPC-1 csoportban mértünk magasabb BFU paramétereket.

Szijártó és munkatársai leírták, hogy az ischaemiás preconditionálás csökkentheti a 45 vagy 60 perces ischaemia okozta májkárosodást és a mikrokeringési változásokat, ezen változások pedig lézer Doppler szöveti áramlásmérővel pontosan követhetőek voltak (Szijártó és mtsai, 2006).

A preconditionálást követő 24 órás várakozás kedvezően befolyásolta a laktát koncentrációt. A vörösvérsejt aggregációs index értékek romlottak M1 módban. Az elongációs index értékek mérsékelt javulása volt megfigyelhető az RIPC-1 csoportban.

A micro-rheologiai paraméterek változása ismert ischaemia-reperfusio során, mely eltérések főként a szabadgyök reakcióknak, mechanikus sejtkárosodásnak, metabolikus változásoknak (pH, laktát) és akut fázis reakcióknak tulajdoníthatóak (Baskurt, 2007; Németh és mtsai, 2014). Feltételezhető, hogy a két preconditionált csoport között fellépő különbségek az akut fázis reakció következménye, amely egy nappal az első vérvételt megelőzően kezdődhetett az RIPC-24 csoportban. Tekintettel arra, hogy laboratóriumi patkányok esetében a levehető vérmennyiség korlátozott, nem volt lehetőségünk az akut fázis fehérjék és egyéb paraméterek széleskörű vizsgálatára.

Szövettani szempontból a következő változások figyelhetőek meg ischaemia-reperfusiót követően: endothel sejt disruptio, sejtduzzadás, vacuolisatio, neutrophil infiltráció, hepatocellularis necrosis és apoptosis (Kim, 2003). A necroticus sejtek morfológiájára jellemző a kifejezettebb eosinophilia, cytoplasmaticus vacuolumok jelenléte és a sejtmagban bekövetkező változások. Apoptosis során a sejtfal intakt marad, a gyors fagocitózis miatt

pedig nem indukál gyulladást. A sejtméret csökken, és kromatin lerakódás figyelhető meg a periférián (Freitas és mtsai, 2017).

A Suzuki pontrendszer alapján kapott szövettani eredményeket elemezve megállapítható, hogy az elváltozások kifejezettebbek voltak a preconditionált csoportokban (Suzuki és Robinson, 1994). A csoportok közötti különbségek háttérben feltételezhetően az akut fázis reakciók állnak, amelyek az RIPC-24 csoportban már egy nappal a mérési időszak előtt elkezdődtek. Eredményeink alapján nem dönthető el egyértelműen, hogy a szövettani változások esetében a preconditionálásnak vannak-e kedvező hatásai az ischaemia-reperfúziós károsodással szemben.

Rakic és munkatársai a távoli szervi ischaemiás preconditionálás és a lokális ischaemiás preconditionálás (LIPC) hepatoprotektív hatásait hasonlították össze colorectalis carcinoma májmetastasisa miatt májresectián átesett pácienseken. Eredményeik alapján a szérum transzamináz és bilirubin szint legnagyobb mértékben a Kontroll csoportban nőtt, a legalacsonyabb a LIPC csoportban volt. A Rodriguez score alapján értékelt szövettani vizsgálataikban leírták, hogy a LIPC és RIPC enyhített az ischaemiás károsodás mértékén (Rakic és mtsai, 2018).

Több kutatás beszámol a májtranszplantációt megelőzően történő alkalmazás protektív hatásairól az ischaemia-reperfúziós károsodással szemben (Wang és mtsai, 2013; Jia és mtsai, 2015). Úgy tűnik, hogy a távoli szervi ischaemiás preconditionálás hatékonyan csökkenti a szövetkárosodást, apoptosist, javítja a graft keringését, pozitívan befolyásolja a gyulladáscitokin expressziót. A conditionálási protokoll ischaemiát megelőzően történő alkalmazása effektívebbnek bizonyult, mint a reperfúziót követően (Czigány és mtsai, 2018).

A különböző típusú ischaemiás károsodások korlátozzák az ischaemiás conditionálási protokollok hatékonyságát. Kutatások alapján a szűk időkeret kritikus tényező a prevenció módszerek kivitelezésében (Rodriguez-Lara és mtsai, 2016).

A colorectalis metastasis miatt májresectián átesett betegek átlagéletkora 60 év, mely számos egyéb társbetegséggel jár együtt, ez jelentős rizikófaktort jelent a postoperatív időszakban kialakuló morbiditás és mortalitás kialakulásában, egyúttal befolyásolhatják az alkalmazott távoli szervi preconditionálás hatékonyságát (Kanoria és mtsai, 2017).

Az eljárás alkalmazható tervezett sebészeti beavatkozások előtt (szívsebészet, szervtranszplantáció, percutan coronaria intervenció). Szívsebészeti beavatkozások, mint például arteria coronaria bypass operációt megelőzően alkalmazott távoli szervi conditionálás enyhíti a myocardium károsodás mértékét (Hausenloy és mtsai, 2007; Candilio és mtsai, 2015). A különböző RIPC kedvező hatásainak vizsgálata további fontos információkat szolgáltat a folyamat patofiziológiájának jobb megértésében és a klinikai gyakorlatban alkalmazható legoptimálisabb, leghatékonyabb protokoll megtalálásában.

A távoli szervi ischaemiás preconditionálás alkalmazásában potenciális prevenció és terápia, eddig még kiaknázatlan lehetőségek rejlenek, ezért további vizsgálatok kiemelt cél a kísérletes sebészeti kutatások során. Fontos megemlíteni, hogy az eljárás a mindennapi betegellátásban is alkalmazható, a módszer technikai kivitelezése könnyen elsajátítható, eszközigénye és költsége is minimális, betegek által is jól tolerálható, hiszen egy egyszerű mandzsettával elvégezhető a prevenció beavatkozása. A beavatkozás minden invazivitást nélkülöz, ellentétben az ischaemiás pre- és postconditionálással, mely adott szerv vasculaturájának occlusiójával jár, ezáltal több kockázatot rejt és a szervezetre is nagyobb megterhelést jelent.

Kiemelendő, hogy a sebészeti és egyéb intervenció beavatkozások előtti alkalmazáson túl, egyre több kutatási eredmény és klinikai vizsgálat beszámol a távoli szervi ischaemiás preconditionálás különböző patológiai állapotokban kifejtett előnyös hatásairól.

Intenzív kutatások folynak a távoli szervi ischaemiás preconditionálás, mint prevenció és terápia stratégia alkalmazásának lehetőségei terén neurológiai kórképek

esetében. Segíthet a vér-agy gát integritásának fenntartásában és elősegítheti a protektív intracelluláris molekulák expresszióját, így védelmet jelenthet egy akut ischaemiás stroke-ot követő további ischaemiás károsodás kivédésében (Hougaard és mtsai, 2014).

Xia és munkatársai megállapították, hogy az RIPC hatékony lehet cerebrális károsodással szemben. Az RIPC neuroprotektív hatásai feltételezhetően kapcsolatban állhatnak HIF-1alfa/AMPK/HSP70-nel. Eredményeik alapján az RIPC hatékony terápiás stratégia lehet az ischaemiás károsodással szemben (Xia és mtsai, 2017).

Chen és munkatársai korábbi vizsgálataik során beszámoltak a végtagi RIPC protektív hatásáról ischaemiás stroke esetén. Megállapították, hogy a neuroprotektív hatás kifejlődésének hátterében a cirkuláló immunsejt populációk aktiválódása áll. Egyik legújabb tanulmányukban a lép, mint a legnagyobb perifériás immunszerv szerepét vizsgálták a protektív hatás kialakulásában patkánymodellen. A kísérlet során a hátsó végtagi ischaemiás preconditionálási protokoll alkalmazását követően közvetlenül emelkedett a $CD3^+ CD4^+$ cytotoxicus T sejtek száma a lépben, valamint relatív későbbi $CD3^+ CD161^+$ NKT és $CD3^- CD45RA^+$ B lymphocyták szám emelkedést figyeltek meg. Továbbá megállapították, hogy az egy nappal vagy két héttel az RIPC előtti splenectomia csökkentette az RIPC jótékony hatásait (Chen és mtsai, 2018).

Vizsgálataink limitáló tényezőjeként említhető, hogy a levehető vérmennyiség korlátozott a kistestű laborállatoknál, mint a patkány. A vérmennyiség determinálta a vizsgálható paraméterek számát is, hiszen a különböző mérőberendezések meghatározott vérmennyiséget igényelnek. A kísérlet időtartama alatt nyert vérminták száma nem tette lehetővé hosszútávú követéses vizsgálat kivitelezését, így a távoli szervi ischaemiás preconditionálás késői-akár 72 óráig tartó- hatásainak vizsgálatát (Jiménez-Castro és mtsai, 2013).

7. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Kialakítottunk egy olyan modellt, ahol a parciális máj ischaemia és reperfusio előtt alkalmazott távoli szervi ischaemiás preconditionálás hatásai jól vizsgálhatóak.
2. Az ischaemia-reperfusio hatására a hemodinamikai paraméterek stabilitása csökkent, a máj mikrokeringésében romlás mutatkozott, a laktát koncentrációban jelentős emelkedés volt megfigyelhető. Romlott a vörösvérsejt deformabilitás, a vörösvérsejt aggregációs index értékek egy kezdeti mérsékelt emelkedést követően csökkentek a kísérlet végére.
3. A preconditionált csoportokban a systolés vérnyomás és a szívfrekvencia ingadozása kisebb volt, mint a Kontroll csoport esetében, így kedvezően befolyásolhatja a kísérleti állatok hemodinamikai státuszát. Kimutattuk, hogy a mikrokeringési értékek a korai hatású távoli szervi ischaemiás preconditionált csoportban voltak magasabbak a reperfusio 60. percéig. A laktát koncentráció kisebb mértékben emelkedett a késői hatású távoli szervi ischaemiás preconditionált csoportban. A haemorheológiai paraméterek tekintetében a vörösvérsejt deformabilitásra kedvezőbb hatást gyakorolt a preconditionálást követő 1 órás várakozás. A vörösvérsejt aggregációs index mindkét preconditionált csoportban alacsonyabb volt a Kontroll csoporthoz viszonyítva.
4. A szövettani eredményeket elemezve megállapítható, hogy a hisztopatológiai eltérések kifejezettebbek voltak a preconditionált csoportokban. A kialakult hisztológiai kép alapján nem egyértelmű, hogy a távoli szervi ischaemiás preconditionálás jótékony hatással rendelkezik-e a szövettani károsodás megelőzésében és csökkentésében.

A két különböző időben végzett távoli szervi ischaemiás preconditionálás kedvező hatásai eltérőek voltak a különböző vizsgált paraméterek esetén. További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy melyik protokoll a kedvezőbb, és ez mennyi idővel előzze meg a tervezett szervi ischaemia-reperfúziót a máj vonatkozásában.

8. ÖSSZEFOGLALÁS/SUMMARY

A távoli szervi ischaemiás preconditionálás (remote ischemic-preconditioning, RIPC) kedvező hatásait több irodalmi adat is alátámasztja, azonban továbbra sem tisztázott, hogy mennyi idővel a tervezett ischaemia előtt érdemes végezni az eljárást. E kérdéskör tisztázására célul tűztük ki két különböző időpontban végzett RIPC vitális és hemodinamikai paraméterekre, mikrokeringésre, sav-bázis, haematologiai, haemorheologiai paraméterekre gyakorolt hatásainak vizsgálatát parciális máj ischaemia-reperfusio során.

Általános anaesthesiában Crl:WI patkányokon a Kontroll csoportban 70%-os parciális ischaemiát hoztunk létre, majd 120 perc reperfúziós periódust figyeltünk meg. A preconditionált csoportokban 3x10 perces reperfúziós szünetekkel megszakított ischaemiás periódusokat alkalmaztunk 1 vagy 24 órával a máj ischaemia előtt (RIPC-1 és RIPC-24 csoport). A műtét előtt, a reperfusio 30., 60. és 120. percében a kanülált a. femoralisból vérvétel történt a sav-bázis, haematologiai, vörösvérsejt aggregatio és -deformabilitás meghatározása céljából, mellyel párhuzamosan és az ischaemia 60. percében légzésszám, rectalis- és szervfelszíni hőmérséklet, hemodinamikai és mikrokeringési mérések történtek. A vizsgálat végén szövettani mintavétel történt az ischaemiás májlebenyből.

A systolés vérnyomás mindhárom csoportban csökkent, de a Kontroll csoportban nagyobb ingadozás mutatkozott. A mikrokeringés tekintetében máj vonatkozásában az RIPC-24 csoportnál regisztráltunk magasabb értékeket a kísérlet végén. A laktát koncentráció kevésbé emelkedett az RIPC-24 csoportban. A Kontroll csoportban mindvégig magasabb haematocrit értékeket figyeltünk meg. A vörösvérsejt deformabilitás az RIPC-1 csoportban javult, a vörösvérsejt aggregatio mértéke legkifejezettebb az RIPC-24 csoportban volt M1 módban. A szövettani eltérések a preconditionált csoportokban voltak kifejezettebbek.

Összefoglalásként elmondható, hogy a máj ischaemia-reperfusio okozta haemorheologiai változásokon a távoli szervi ischaemiás preconditionálás enyhített patkánymodellen. A túlélés, a hemodinamika és a microcirculatio tekintetében mind a korai, mind a késleltetett RIPC csökkentett az ischaemia-reperfusio okozta károsodás mértékén. A szövettani eredmények ellentmondásosak, az eredmények alapján nem dönthető el egyértelműen, hogy az RIPC kedvező hatású-e a hisztopatológiai változásokkal szemben. A rendelkezésre álló adatok alapján még nem ítéhető meg, hogy a protokoll mennyivel előzze meg a szervi I/R történéseket máj vonatkozásában, ezért ennek tisztázására további vizsgálatok szükségesek.

SUMMARY

Several studies described the beneficial effects of remote ischemic-preconditioning, however there is no consensus on the optimal time of the preconditioning before I/R. The aim of the study was to investigate the hemodynamic, microcirculatory, acid-base, hematological, hemorheological and histological changes in two different timing of remote ischemic preconditioning in partial liver ischemia.

In anesthetized Crl:WI rats 60-minute partial (~70%) liver ischemia was induced followed by 120-minute reperfusion (Control, n=7). In the preconditioned groups a tourniquet was applied on the left thigh for 3x10 minutes 1 hour (RIPC-1, n=7) or 24 hours (RIPC-24, n=7) before the liver ischemia. Blood samples were taken before the operation and at the 30th, 60th and 120th minutes of reperfusion (R-30, R-60, R-120) from the cannulated femoral artery for testing acid-base, hematological parameters, red blood cell aggregation and deformability. Respiratory rate, rectal- and liver surface temperature, hemodynamic and microcirculatory measurements were performed before and just after the liver ischemia, and at R-30, R-60, R-120.

Blood pressure decreased in all groups, which fluctuated in the Control group. Liver microvascular perfusion increased in the RIPC-24 group at the end of the experiment. The lactate concentration elevated moderately in the RIPC-24 group. The hematocrit values continuously increased in the Control group. In the RIPC-1 group the red blood cell deformability was better, while the aggregation index worsened in the RIPC-24 group in M1 mode. The histological changes were more severe in the RIPC groups.

As a summary, it can be concluded, that the RIPC diminish the hemorheological changes caused by liver ischemia-reperfusion injury. Regarding the survival, the hemodynamic and the microcirculation both RIPC protocol could improve the condition after partial hepatic I/R. The histological results are controversial, therefore it could not be decided whether the RIPC has beneficial effects on histological changes. However, based on these results the optimal time of the remote organ preconditioning could not be clearly defined in case of the liver, therefore further investigations are needed.

9. IRODALOMJEGYZÉK

9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Abu-Amara M, Gurusamy K, Hori S, Glantzounis G, Fuller B, Davidson BR. Systematic review of randomized controlled trials of pharmacological interventions to reduce ischaemia-reperfusion injury in elective liver resection with vascular occlusion. *HPB (Oxford)*. 2010a; 12:4-14.
2. Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, Fuller B, Davidson B, Seifalian A. Liver Ischemia/Reperfusion Injury: Processes in Inflammatory Networks-A Review. *Liver Transpl*. 2010b;16:1016-1032.
3. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *J surg Res*. 2002;105(2):248-258.
4. de Araújo FA Jr, Braz MN, Rocha Neto OG, Costa FD, Brito MVH. Copaiba oil effect in rat aminotransferases submitted to hepatic ischemic and reperfusion with and without preconditioning. *Acta Cir Bras*. 2005;20(1):93-99.
5. Bahde R, Spiegel H. Hepatic ischaemia-reperfusion injury from bench to bedside. *Br J Surg*. 2010;97(10):1461-1475.
6. Barbosa TC, Machado AC, Braz ID, Fernandes IA, Vianna LC, Nobrega AC, Silva BM. Remote ischemic preconditioning delays fatigue development during handgrip exercise. *Scand J Med Sci Sports*. 2015;25(3):356-364.
7. Baskurt OK, Bor-Küçükataç M, Yalcin O, Meiselman HJ, Armstrong JK. Standard aggregating media to test the „aggregability” of rat red blood cells. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2000;22:161-166.
8. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*. 2003;29(5):435-450.
9. Baskurt OK, Yalcin O, Meiselman HJ. Hemorheology and vascular control mechanisms. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2004;30(3-4):169-178.
10. Baskurt OK, Meiselman HJ. Analyzing shear stress-elongation index curves: Comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2004;31:23-30.
11. Baskurt OK. Mechanism of blood rheology alterations. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Amsterdam: IOS Press; 2007, pp.170-190.

12. Baskurt OK, Meiselman HJ, In vivo hemorheology, in Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Amsterdam: IOS Press; 2007, pp.322-338.
13. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology*. 2008; 45:629-638.
14. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, et al. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2009a;42(2):75-97.
15. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ. Parameterization of red blood cell elongation index-shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009b;69(7):777-788.
16. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ. Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. *Biorheology*. 2009;46:251-264.
17. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, eds: *Red Blood Cell Aggregation*. CRC Press, Boca Raton, USA, 2012.
18. Bernát SI, Pongrácz E, eds. *A klinikai haemorheologia alapjai*. Budapest: Kornétás Kiadó; 1999.
19. Bhattacharya A. Red blood cell mechanics. *J. Indian. Med. Assoc*. 2011;109:668-670.
20. Birrer R, Takuda Y, Takara T. Hypoxic hepatopathy: pathophysiology and prognosis. *Intern Med*. 2007;46(14):1063-1070.
21. Bishop JJ, Popel AS, Instaglietta M, Johnson PC: Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. *Biorheology*. 2001; 38:263-274.
22. Bogár L. Diagnosztika. In: Bernát SI, Pongrácz E, eds. *A klinikai haemorheologia alapjai*. Budapest: Kornétás Kiadó; 1999:33-50.
23. Bøtker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, Bøttcher M, Køltoft AK, Terkelsen CJ, et al. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial. *Lancet*. 2010;375(9716):727-734.
24. Brun J. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2002;26:63-79.

25. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000;190(3):255-266.
26. Camargo LM, Enencio Neto J, Freitas SH, Simoes MJ, Gomes PO, Sébe AA. Ultrastructural aspects of the intestinal villi after hepatic pedicle clamping in rats. *Acta Cir Bras.* 2003;18:509-513.
27. Candilio L, Malik A, Ariti C, Barnard M, Di Salvo C, Lawrence D, Hayward M, Yap J, Roberts N, Sheikh A, Kolvekar S, Hausenloy DJ, Yellon DM. Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2015;100:185–192.
28. Carvalho FA, Connell S, Miltenberger-Miltenyi G, Pereira SV, Tavares A, Ariens RA, Santos NC. Atomic force microscopy based molecular recognition of a fibrinogen receptor on human erythrocytes. *ACS Nano.* 2010;4(8):4609-4620.
29. Chasis JA, Shohet SB. Red cell biochemical anatomy and membrane material properties. *Ann Rev Physiol.* 1987;49:237-248.
30. Chen C, Jiang W, Liu Z, Li F, Yang J, Zhao Y, Ran Y, Meng Y, Ji X, Geng X, Du H, Hu X. Splenic responses play an important role in remote ischemic preconditioning-mediated neuroprotection against stroke. *J Neuroinflammation.* 2018;28:15(1):167.
31. Chen G, Thakkar M, Robinson C, Doré S. Limb remote ischemic conditioning: mechanisms, anesthetics, and the potential for expanding therapeutic options. *Front Neurol.* 2018;9:40.
32. Cheung MM, Kharbanda RK, Konstantinov IE, Shimizu M, Frndova H, Li J, Holtby HM, Cox PN, Smallhorn JF, Van Arsdell GS, Redington AN. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(11):2277-2282.
33. Chien S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Ann Rev Physiol.* 1987;49:177-192.
34. Cokelet GR. Rheology and hemodynamics. *Ann Rev Physiol.* 1980;42:311-324.
35. Copley AL. The history of clinical hemorheology. *Clin Hemorheol.* 1985;5:765-811.
36. Copley AL. Fluid mechanics and biorheology. *Clin Hemorheol.* 1990;10(3):315-331.
37. Costa Fl, Yamaki VN, Gonçalves TB, Coelho JV, Percário S, Brito MV. Combined remote ischemic preconditioning and local postconditioning on liver ischemia-reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 2014;192(1):98-102.

38. Couinaud C. [Liver lobes and segments: notes on the anatomical architecture and surgery of the liver]. *Presse Med.* 1954;62(33):709-712.
39. de Oliveira, S, Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2010;44:63-74.
40. Czigany Z, Bleilevens C, Beckers C, Stoppe C, Möhring M, Fülöp A, Szijarto A, Lurje G, Neumann UP, Tolba RH. Limb remote ischemic conditioning of the recipient protects the liver in a rat of arterialized orthotopic liver transplantation. *PloS One.* 2018;13(4):e0195507.
41. Dello SAWG, Reisinger KW, van Dam RM, Bemelmans MHA, van Kuppevelt TH, van den Broek MA, Olde Damink SW, Poeze M, Buurman WA, Dejong CH. Total intermittent pringle maneuver during liver resection can induce intestinal epithelial cell damage and endotoxemia. *PLoS One.* 2012;7(1):e30539
42. Doppler JC. Über das farbige Licht der Dopplersterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. *Abh. Konigl. Böhm. Ges. Wiss.* 1842.
43. Driessen GK, Haest CW, Heidtmann H, Kamp D, Schmid-Schönbein H. Effect of reduced red blood cell „deformability” on flow velocity in capillaries of rat mesentery. *Pflugers Arch.* 1980;388(1):75-78.
44. Ellett JD, Atkinson C, Evans ZP, Amani Z, Balish E, Schmidt MG, van Rooijen N, Schnellmann RG, Chavin KD. Murine Kupffer cells are protective in total hepatic ischemia/reperfusion injury with bowel congestion through IL-10. *J Immunol.* 2010;184(10):5849-5858.
45. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion - from mechanism to translation. *Nat Med.* 2011;17(11):1391-1401.
46. Evans EA, La Celle PL. Intrinsic material properties of erythrocyte membrane indicated by mechanical analysis of deformation. *Blood.* 1975;45:29-43.
47. Fahreus R. The influence of the rouleou formation of the erythrocytes on the rheology of the blood. *Acta Med Scand.* 1958;161(2):151-165.
48. Fåhreus R, Lindquist The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol.* 1931;96:562-568.
49. Feng M, Wang Q, Zhang F, Lu L. Ex vivo induced regulatory T cells regulate inflammatory response of Kupffer cells by TGF beta and attenuate liver ischemia reperfusion injury. *Int Immunopharmacol.* 2012;12(1):189-196.

50. Fisher T, Schmid-Schönbein H: Tank tread motion of red cell membranes in viscometric flow. In: Bessis M, Shohet SB, Mohandas N, eds. *Red Cell Rheology*. Berlin: Springer Verlag; 1978, pp.347-358.
51. Fondevila C, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury. *Exp Mol Pathol*. 2003;74(2):86-93.
52. Freitas SH, Dória RGS, Bueno RS, Rocha WB, Filho JRE, Vidane AS, Ambrósio CE. Evaluation of potential changes in liver and lung tissue of rats in an ischemia-reperfusion injury model (modified pringle maneuver). *PloS One* 2017;12(6):e0178665.
53. Freichs KU, Feuerstein GZ. Laser Doppler flowmetry. A review of its application for measuring cerebral and spinal cord blood flow. *Mol Chem Neuropathol*. 1990;12(1):55-70.
54. Gaál Cs, Lázár Gy, Damjanovich L, Bátorfi J, Jakab F, Kupcsulik P, Perner F, Oláh A, Végh Gy. Hasi sebészet. In: *Sebészet Gaál Cs, ed. Budapest: Medicina Könyvkiadó; 2012, pp.690-959.*
55. Galagudza MM, Sonin DL, Vlasov TD, Kurapeev DI, Shlyakhto EV. Remote vs. local ischaemic preconditioning in the rat heart: infarct limitation, suppression of ischaemic arrhythmia and the role of reactive oxygen species. *Int J Exp Pathol*. 2016;97(1):66-74.
56. Gilbo N, Catalano G, Salizzoni M, Romagnoli R: Liver graft preconditioning, preservation and reconditioning. *Dig Liver Dis*. 2016;48(11):1265-1274.
57. Goldsmith NA, Woodburn RT. The surgical anatomy pertaining the liver resection. *Surg Gynecol Obstet*. 1957;105 (3):310-318.
58. Gori T, Lisi M, Forconi S. Ischemia and reperfusion: The endothelial perspective. A radical view. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2006;35(1-2): 31-34.
59. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol*. 1988;255:H1269-1275
60. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept. *Redox Biol*. 2015;6:524-551.
61. Grau M, Kollikowski A, Bloch W. Remote ischemia preconditioning increases red blood cell deformability through red blood cell-nitric oxide synthase activation. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2016;63(3):185-197.
62. Gurusamy KS, Gonzalez HD, Davidson BR. Current protective strategies in liver surgery. *World J Gastroenterol WJG*. 2010;16(48):6098-6103.

63. Hardeman MR, Goedhart PT, Shin S. Methods in hemorheology. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Amsterdam: IOS Press; 2007, pp.242-266.
64. Hausenloy DJ, Mwamure PK, Venugopal W, Harris J, Barnard M, Grundy E, Ashley E, Vichare S, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Keogh B, Mac Allister RJ, Yellon DM. Effect of remote ischaemic preconditioning on myocardial injury in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;370(9587):575-579.
65. Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, Ariti C, Jenkins DP, Kolvekar S, et al. Remote ischemic preconditioning and outcomes of cardiac surgery. *N Engl J Med*. 2015;373(15):1408-1417.
66. Henderson JM. Liver transplantation and rejection: An overview. *Hepato-Gastroenterol*. 1999;46 (Suppl 2):1482-1484.
67. Heusch G, Bøtker HE, Przyklenk K, Redington A, Yellon D. Remote ischemic conditioning. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(2):177-195.
68. Hochmuth RM, Waugh R. Erythrocyte membrane elasticity and viscosity. *Annu Rev Physiol*. 1986;49:209-219.
69. Hoole SP, Heck PM, Sharples L, Khan SN, Duehmke R, Densem CG, et al. Cardiac Remote Ischemic Preconditioning in Coronary Stenting (CRISP Stent) Study: a prospective, randomized control trial. *Circulation*. 2009;119(6):820-827.
70. Hougaard KD, Hjort N, Zeidler D, Sørensen L, Nørgaard A, Hansen TM et. al. Remote ischemic preconditioning as an adjunct therapy to thrombolysis in patients with acute ischemic stroke: a randomized trial. *Stroke*. 2014;45:159-167.
71. Hu J, Liu S, Jia P, Xu X, Song N, Zhang T, et al. Protection of remote ischemic preconditioning against acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2016;20(1):111.
72. Jakab F: Műtétek a májon. In: Horváth ÖP, Kiss J, eds. *Littmann sebészeti műtéttan*. Budapest: Medicina Könyvkiadó; 2014, pp.569-592.
73. Jaeschke H, Woolbright BL. Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. *Transplant Rev (Orlando, Fla)*. 2012;26(2):103-114.
74. Jia J, Li J, Jiang L, Zhang J, Chen S, Wang L, Zhou Y, Xie H, Zhou L, Zheng S. Protective effect of remote limb ischemic preconditioning on the liver grafts of rats with a novel model. *PLoS One*. 2015;10(3):e0121972.

75. Jiménez-Castro MB, Elias-Miró M, Casillas-Ramirez A, Peralta C. Experimental Models in Liver Surgery. In: Hesham Abdeldayem, Hepatic Surgery. London: Intech Open; 2013, pp. 121-166.
76. Jung F, Mrowietz C, Hiebl B, Franke RP, Pindur G, Sternitzky R. Influence of rheological parameters on the velocity of erythrocytes passing nailfold capillaries in humans. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2011;48(1):129-139.
77. Jung F, Rampling M. Role of blood viscosity in the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;64(3):251-254.
78. Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 2006;93(6):762-768.
79. Kanoria S, Robertson FP, Mehta NN, Fusai G, Sharma D, Davidson BR. Effect of remote ischemic preconditioning in liver injury in patients undergoing major hepatectomy for colorectal liver metastasis: a pilot randomised controlled feasibility trial. *World J Surg.* 2017;41(5):1322-1330.
80. Kayar E, Mat F, Meiselman HJ, Baskurt OK. Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology.* 2001;38(5-6):405-414.
81. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, et al: Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation.* 2002;106(23):2881-2883.
82. Kierulf-Lassen C, Nieuwenhuijs-Moeke GJ, Krogstrup NV, Oltean M, Jespersen B, Dor FJ. Molecular mechanisms of renal ischemic conditioning strategies. *Eur Surg Res.* 2015;55(3):151-183.
83. Kim PK, Vallabhaneni R, Zuckerbraun BS, McCloskey C, Vodovotz Y, Billiar TR. Hypoxia renders hepatocytes susceptible to cell death by nitric oxide. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2005;51(3):329-335.
84. Kim YI. Ischemia-reperfusion injury of the human liver during hepatic resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2003;10(3):195-199.
85. Kneuert PJ, Maithel SK, Staley CA, Kooby DA. Chemotherapy-associated liver injury: impact on surgical management of colorectal cancer liver metastases. *Ann Surg Oncol.* 2011;18(1):181-190.
86. Kogure K, Ishizaki M, Nemoto M, Kuwano H, Makuuchi M. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 1999;6(2):171-175.
87. Krogstrup NV, Oltean M, Nieuwenhuijs-Moeke GJ, Dor FJ, Møldrup U, Krag SP et al. Remote ischemic conditioning on recipients of deceased renal transplants does not

- improve early graft function: a multicenter randomized, controlled clinical trial. *Am J Transplant*. 2017;17(4):1042-1049.
88. Kruepunga N, Hakvoort TBM, Hikspoors JPJM, Köhlers SE, Lamers WH. Anatomy of rodent and human livers: What are the differences? *Biochim Biophys Acta*. 2018; piiS0925-4439(18)30189-3 [Epub ahead of print]
 89. Kupcsulik P, Kokas P. Ischemic damage of the liver. Part II: In vivo investigation of the prevention of the ischemic lesion of the liver. *Acta Hepatogastroenterol (Stuttg)*. 1979;26(4):284-289
 90. Kupiec-Weglinski JW, Busuttil RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Transplant Proc*. 2005;37(4):1653-1656.
 91. Kusza K, Siemionow M. Is the knowledge on tissue microcirculation important for microsurgery? *Microsurgery*. 2011;31(7):572-579.
 92. Kuzman D, Znidarcic T, Gros M, Vrhovec S, Svetina S, Zeks B. Effect of pH on red blood cell deformability. *Pflug. Arch.-Eur. J. Physiol*. 2000;440(5 Suppl):R193-R194.
 93. Li S, Ma C, Guo S, Esmail F, Yang H, Jia L, et al. Safety and feasibility of remote limb ischemic preconditioning in patients with unilateral middle cerebral artery stenosis and healthy volunteers. *Cell Transplant*. 2015;24(9):1901-1911.
 94. Limani P, Linecker M, Oberkofler CE, Barmettler G, Kaech A, Graf R, Humar B, Clavien PA. Remote Ischemic Preconditioning: A Novel Strategy in Rescuing Older Livers From Ischemia-Reperfusion Injury in a Rodent Model. *Ann Surg*. 2016;264(5):797-803.
 95. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation*. 2005;12(1):5-15.
 96. Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch C, Dahmen U. Marginal hepatectomy in the rat: from anatomy to surgery. *Ann Surg*. 2006;244(1):89-98.
 97. Martins PNA, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver Int*. 2007;27(3):384-392.
 98. Meiselman HJ. Morphological determinants of red blood cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest*. 1981;41(Suppl 161):27-34.
 99. Menger MD, Richter S, Yamauchi J, Vollmar B. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepato-gastroenterology*. 1999;46(Suppl 2):1452-1457.
 100. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol*. 1993;30:171-192.

101. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-1136.
102. Musielak M. Red blood cell-deformability measurement: review of techniques. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2009;42:47-64.
103. Nanobashvili J, Neumayer C, Fuegl A, Sporn E, Prager M, Polterauer P, Malinski T, Huk I. Ischaemia/reperfusion injury of skeletal muscle: Mechanism, morphology, treatment strategies, and clinical applications. *Eur Surg*. 2002;34:83-89.
104. Nemeth N, Lesznyak T, Brath E, Acs G, Nagy A, Pap-Szekeres J, Furka I, Miko I. Changes in microcirculation after ischemic process in rat skeletal muscle. *Microsurgery*. 2003;23:419-423.
105. Nemeth N, Szokoly M, Acs G, Brath E, Lesznyak T, Furka I, Miko I. Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2004;30(2):133-145.
106. Nemeth N, Soukup J, Menzel M, Henze D, Clausen T, Rieger A, Holz C, Scharf A, Hanisch F, Furka I, Miko I. Cerebral hyper- and hypoperfusion and its local and systemic hemorheological effects in a porcine model. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2006;35(1-2):59-65.
107. Németh N. A haemorheologia jelentősége az állatkísérletekben és lehetséges kapcsolata az állatorvos-tudományhoz. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 2011;133:612-619.
108. Nemeth N, Miko I, Furka A, Kiss F, Furka I, Koller A, Szilasi M. Concerning the importance of changes in hemorheological parameters caused by acid-base and blood gas alterations in experimental surgical models. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2012;51(1):43-50.
109. Nemeth N, Furka I, Miko I. Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: An overview on our experimental surgical data. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2014;57(3):215-225.
110. Nemeth N, Deak A, Szentkereszty Z, Peto K. Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;69:133-140.
111. Ney J, Hoffmann K, Meybohm P, Goetzenich A, Kraemer S, Benstöm C, Weber NC, Bickenbach J, Rossaint R, Marx G, Zacharowski K, Bernhagen J, Stoppe C. Remote Ischemic Preconditioning Does Not Affect the Release of Humoral Factors in Propofol Anesthetized Cardiac Surgery Patients: A secondary Analysis of the RIPHeart Study. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4). pii: E1094.

112. Nomi T, Fuks D, Agrawal A, Govindasamy M, Araki K, Gayet B. Modified Pringle maneuver for laparoscopic liver resection. *Ann Surg Oncol*. 2015;22 (3):852.
113. Obeid AN, Barnett NJ, Dougherty G, Ward G. A critical review of laser Doppler flowmetry. *J Med Eng Technol*. 1990;14(5):178-181.
114. Olthof PB, van Golen RF, Meijer B, van Beek AA, Bennink RJ, Verheij J, van Gulik TM, Heger M. Warm ischemia time-dependent variation in liver damage, inflammation, and function in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1863(2):375-385.
115. Otani, H. Ischemic preconditioning: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(2):207-247.
116. Pannen BH: New insights into the regulation of hepatic blood flow after ischemia and reperfusion. *Anesth Analg*. 2002;94(6):1448-1457.
117. Pearson MJ, Lipowsky HH: Influence of the erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279: H1460-1471.
118. Pickard JM, Botker HE, Crimi G, Davidson B, Davidson SM, Dutka D, et al. Remote ischemic conditioning: from experimental observation to clinical application: report from the 8th Biennial Hatter Cardiovascular Institute Workshop. *Basic Res Cardiol*. 2015;110(1):453.
119. Pickard JM, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Co-dependence of the neural and humoral factors pathways in the mechanism of remote ischemic preconditioning. *Basic Res Cardiol*. 2016;111(4):50.
120. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and hemorheology. *Ann Rev Fluid Mech*. 2005;37:43-69.
121. Pringle JH. Notes of the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg*. 1908;48:541.
122. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*. 1993;87(3):893-899.
123. Rakic M, Patrlj L, Amić F, Aralica G, Grgurević. Comparison of hepatoprotective effect from ischemia-reperfusion injury of remote ischemic preconditioning of the liver vs local ischemic preconditioning of the liver during human liver resections. *Int J Surg*. 2018;54(Pt A):248-253.

124. Rampling MW, Baskurt OK, Hardeman MR, Meiselman HJ. History of Hemorheology. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. Amsterdam: IOS Press; 2007, pp.3-17.
125. Rappaport AM. The structural and functional unit in the human liver. *Anat Rec.* 1958;130(4):673-689.
126. Raptis DA, Limani P, Jang JH, Ungethüm U, Tschuor C, Graf R, Humar B, Clavien PA. GPR120 on Kupffer cells mediates hepatoprotective effects of ω 3-fatty-acids. *J Hepatol.* 2014;60(3):625-632.
127. Reffelmann T, Kloner RA. The „no-reflow” phenomenon: Basic science and clinical correlates. *Heart.* 2002;87(2):162-168.
128. Rezkalla SH, Kloner RA. No-reflow phenomenon. *Circulation.* 2002;105(5):656-662.
129. Rodriguez-Lara SQ, Cardona-Muñoz EG, Ramírez-Lizardo EJ, Totsuka-Sutto SE, Castillo-Romero A, García-Cobián TA, García-Benavides L. Alternative Interventions to Prevent Oxidative Damage following Ischemia/Reperfusion. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:7190943.
130. Rushing GD, Britt LD. Reperfusion injury after hemorrhage: a collective review. *Ann Surg.* 2008;247(6):929-937.
131. Schlapfer M, Piegeler T, Dull RO, Schwartz DE, Mao M, Bonini MG, et al. Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis. *Crit Care.* 2015;19:45.
132. Schmid-Schönbein H. Microrheology of erythrocytes, blood viscosity, and the distribution of blood flow in the microcirculation. *Int Rev Physiol.* 1976;9:1-62.
133. Sébe AA, Nigro AJT, Gomes PO, Simoes MJ. Effects of clamping of the hepatic pedicle in the intestines. *Acta Cir Bras.* 2000;15:4-8.
134. Selzner N, Rudiger H, Graf R, Clavien PA. Protective strategies against ischemic injury of the liver. *Gastroenterology.* 2003;125(3):917-936.
135. Shi H, Yang G, Zheng T, Wang J, Li L, Liang Y, Zia C, Yin D, Sun B, Wang H, Pan S, Jiang H, Lau W, Liu L. A preliminary study of ALPPS procedure in a rat model. *Sci Rep.* 2015;5:17567. doi:10.1038/srep17567
136. Silva FN, Refinetti RA, Eulalio JMR. Biochemical assessment of ischemic preconditioning after hepatic ischemia and reperfusion in rats. *Rev Col Bras Cir.* 2006;33:393-397.
137. Silva OC Jr, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Dal Sasso K. Basics aspects of the ischemia reperfusion injury and of the ischemic preconditioning. *Acta Cir Bras.* 2002;17:96-100.

138. Spiegel HU, Bahde R: Experimental models of temporary normothermic liver ischemia. *J Invest Surg.* 2006;19(2):113-123.
139. Stern MD. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature.* 1975;254:56-58.
140. Stokfisz K, Ledakowicz-Polak A, Zagorski M, Zielinska M. Ischaemic preconditioning- Current knowledge and potential future applications after 30 years of experience. *Adv Med Sci.* 2017;62:307-316.
141. Suzuki H, Robinson MK. Glutathione deficiency accentuates hepatocellular fluid accumulation after ischemia-reperfusion. *J Surg Res.* 1994;57(5):632-639.
142. Szijarto A, Hahn O, Lotz G, Schaff Z, Madarasz E, Kupcsulik PK. Effect of ischemic preconditioning on rat liver microcirculation monitored with laser Doppler flowmetry. *J Surg Res.* 2006;131(1):150-157.
143. Szijarto A, Czigany Z, Turoczi Z, Harsanyi L. Remote ischemic preconditioning- a simple, low-risk method to decrease ischemic reperfusion injury: models, protocols and mechanistic background. A review. *J Surg Res.* 2012;178(2):797-806.
144. Szokoly M, Nemeth N, Hamar J, Furka I, Miko I. Early systemic effects of hind limb ischemia-reperfusion on hemodynamics and acid-base balance in the rat. *Microsurgery.* 2006;26(8):585-589.
145. Tapuria N, Kumar Y, Habib MM, Abu-Amara M, Seifalian AM, Davidson BR. Remote ischemic preconditioning: a novel protective method from ischemia-reperfusion injury—a review. *J Surg Res.* 2008;150(2):304-330.
146. Tapuria N, Junnarkar SP, Dutt N, Abu-Amara M, Fuller B, Seifalian AM, Davidson BR. Effect of remote ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of hepatic ischemia reperfusion injury. *HPB (Oxford)* 2009;11(2):108-117.
147. Teoh NC. Hepatic ischemia reperfusion injury: Contemporary perspectives on pathogenic mechanisms and basis for hepatoprotection-the good, bad and deadly. *J Gastroenterol Hepatol.* 2011;26:180-187.
148. Tóth K, Juricskai I. Rheológiai alapfogalmak. In: Bernát SI, Pongrácz E, eds. *A kilinikai haemorheologia alapjai.* Budapest: Kornétás Kiadó; 1999, pp.12-24.
149. Vdoviakova K, Petrová E, Krešakova L, Maloveská M, Teleky J, Jenčová J, Živčák J, Jenča A Jr. Importance rat liver morphology and vasculature in Surgical Research. *Med Sci Monit.* 2016;22:4716-4728.

150. Vongsavan N, Matthews B. Some aspects of the use of laser Doppler flow meters for recording tissue blood flow. *Exp Physiol.* 1993;78(1):1-14.
151. Waldow T, Alexiou K, Witt W, Albrecht S, Wagner F, Knaut M, Matschke K. Protection against acute porcine lung ischemia/reperfusion injury by systemic preconditioning via hind limb ischemia. *Transpl Int.* 2005;18(2):198-205.
152. Wang M, Shen J, Feng B, Gui L, Chen Q, Zhang B, Tang J, Li X. Remote ischemic preconditioning promotes early liver cell proliferation in a rat model of small-for-size liver transplantation. *J Surg Res.* 2013;179(1):e 245-253.
153. Xia M, Ding Q, Zhang Z, Feng Q. Remote Limb Ischemic Preconditioning Protects Rats Against Cerebral Ischemia via HIF-1 α /AMPK/HSP70 Pathway. *Cell Mol Neurobiol.* 2017;37(6):1105-1114.
154. Xu Y, Yu Q, Yang Y, Yuan F, Zhang Y, Zhou Z, Wang N. Acute Hemodynamic Effects of Remote Ischemic Preconditioning on Coronary Perfusion Pressure and Coronary Collateral Blood Flow in Coronary Heart Disease. *Acta Cardiol Sin.* 2018;34(4):299-306.
155. Yalcin O, Uyuklu M, Armstrong JK, Meiselman HJ, Baskurt OK. Graded alterations of the RBC aggregation influence in vivo blood flow resistance. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol.* 2004;287(6):H2644-2650.
156. Yedgar S, Koshkaryev A, Barshtein G. The red blood cell in vascular occlusion. *Pathophysiol Hemost Thromb.* 2002;32(5-6):263-268.
157. Yellon DM, Alkullafni AM, Pugsley WB. Preconditioning the human myocardium. *Lancet.* 1993;342(8866): 276-277.
158. Yue S, Zhou H, Wang X, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW, Zhai Y. Prolonged ischemia triggers necrotic depletion of tissue-resident macrophages to facilitate inflammatory immune activation in liver ischemia reperfusion injury. *J Immunol.* 2017;198(9):3588-3595.
159. Zhai Y, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation. *American Journal of Transplantation.* 2011;11(8):1563-1569.
160. Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation--from bench to bedside. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology.* 2013;10(2):79-89.

161. Zhang Y, Liu XR, Yan F, Min LQ, Ji XM, Luo YM. Protective effects of remote ischemic preconditioning in rat hindlimb on ischemia-reperfusion injury. *Neural Regen Res.* 2012;7:583-587.

9.2. Az értekezés alapjául szolgáló és egyéb *in extenso* közlemények hitelesített listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/28/2019.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

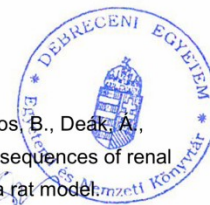
Jelölt: Magyar Zsuzsanna
Neptun kód: MHRDSL
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10054040

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Magyar, Z.**, Mester, A., Nadubinszky, G., Varga, G., Ghanem, S., Somogyi, V., Táncczos, B., Deák, Á., Bidiga, L., Mihai, O., Pető, K., Németh, N.: Beneficial effects of remote organ ischemic preconditioning on micro-rheological parameters during liver ischemia-reperfusion in the rat. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 70 (2), 181-190, 2018.
IF: 1.914 (2017)
2. **Magyar, Z.**, Varga, G., Mester, A., Ghanem, S., Somogyi, V., Táncczos, B., Deák, Á., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Is the early or delayed remote ischemic preconditioning the more effective from a microcirculatory and histological point of view in a rat model of partial liver ischemia-reperfusion?
Acta Cir. Bras. 33 (7), 597-608, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020180070000005>
IF: 0.933 (2017)

További közlemények

3. Mester, A., **Magyar, Z.**, Molnár, Á., Somogyi, V., Táncczos, B., Pető, K., Németh, N.: Age- and gender-related hemorheological alterations in intestinal ischemia-reperfusion in the rat. *J. Surg. Res.* 225, 68-75, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2017.12.043>
IF: 2.051 (2017)
4. Pető, K., Németh, N., Mester, A., **Magyar, Z.**, Ghanem, S., Somogyi, V., Táncczos, B., Deák, Á., Bidiga, L., Frecska, E., Nemes, B. Á.: Hemorheological and metabolic consequences of renal ischemia-reperfusion and their modulation by N,N-dimethyltryptamine on a rat model.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 70 (1), 107-117, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170361>
IF: 1.914 (2017)





5. Mester, A., **Magyar, Z.**, Somogyi, V., Tánczos, B., Stark, Y., Cherniavsky, K., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Intestinal ischemia-reperfusion leads to early systemic micro-rheological and multiorgan microcirculatory alterations in the rat.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 68 (1), 35-44, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170278>
IF: 1.914 (2017)
6. **Magyar, Z.**, Molnár, Á., Nachmias, B. D., Mann, D., Somogyi, V., Mester, A., Pető, K., Németh, N.: Impact of groin flap ischemia-reperfusion on red blood cell micro-rheological parameters in a follow-up study on rats.
Clin. Hemorheol. Microcirc. [Epub ahead of print], 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170277>
IF: 1.914
7. Németh, N., Kiss, F., **Magyar, Z.**, Miszti-Blasius, K., Furka, I.: Following-up hemorheological consequences of gonadectomy in male and female rats.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 50 (4), 231-243, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2011-1430>
8. Kiss, F., Sajtos, E., Mátyás, L., **Magyar, Z.**, Furka, I., Mikó, I., Németh, N.: Testing red blood cell deformability of laboratory animals by slit-flow ektacytometry in various viscosity media: inter-species and gender differences.
Korea-Aust. Rheol. J. 22 (2), 113-118, 2010.
IF: 0.948

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 11,588

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
2,847**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományos ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.



Debrecen, 2019.02.14.

10. TÁRGYSZAVAK

ischaemia-reperfusio	ischemia-reperfusion
távoli szervi ischaemiás preconditionálás	remote ischemic preconditioning
haemorheologia	hemorheology
vörösvérsejt deformabilitás	red blood cell deformability
vörösvérsejt aggregatio	red blood cell aggregation
mikrokeringés	microcirculation
hemodinamika	hemodynamic
hisztomorfológia	histomorphology

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek Prof. Dr. Németh Norbert tanszékvezető Úrnak, aki még orvostanhallgatóként megismertette velem a kutatómunka szépségeit, megteremtette a kutatás lehetőségeit és feltételeit, szakmai útmutatásával, tanácsaival segítette munkámat.

Hálásan köszönöm Prof. Dr. Mikó Irénnek és Prof. Dr. Furka Istvánnak, hogy tanulhattam tőlük és sok éves szakmai tapasztalatukat megosztották velem.

Szeretnék köszönetet mondani munkatársamnak és barátnőmnek Dr. Mester Anita korábbi PhD hallgatónak, az együtt töltött felejthetetlen napokért, segítségéért, hasznos ötleteiért, támogató biztatásáért.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Somogyi Viktória tanársegéd Úrnőnek és Tánczos Bence PhD hallgatónak, akik időt és energiát nem kímélve nyújtottak fontos segítséget a laboratóriumi mérések során.

Köszönet illeti Dr. Pető Katalin egyetemi docens Úrnőt és Dr. Deák Ádám adjunktus Urat értékes tanácsaikért, észrevételeikért.

Köszönöm Dr. Mihai Oltean Tanár Úrnak (Göteborg, Svédország) a műtéti protokoll elsajátításában nyújtott segítségéért.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Bidiga Lászlónak (DE ÁOK Patológiai Intézet) a szövettani vizsgálatok kivitelezéséért és a hisztológiai elemzéséért.

Köszönettel tartozom Gödényné Szász Rozáliának a mikrosebészeti műtétek során nyújtott segítségéért.

Nagyon köszönöm a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi munkatársának a támogatást, a biztató kedves szavakat.

Hálás szívvel mondok köszönetet Édesanyámnak szeretetteljes támogatásáért, az eddigi tanulmányaimhoz nyújtott nyugodt háttér megteremtéséért, kitartó türelméért és biztatásáért.

12. FÜGGELÉK

Az értekezés alapját képező *in extenso* közlemények másolatai