

Egyetemi doktori (Ph. D.) értekezés

**Az érfal és a veseparenchyma
funkcionális és morfológiai változásainak elemzése
a veseartéria átmeneti leszorítását követően**

Dr. Pető Katalin

Témavezető:

**Prof. Dr. Mikó Irén
az orvostudomány kandidátusa**

**Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Intézet
Sebészeti Műtéttani Tanszék**

**Debrecen
2007.**

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	3
CÉLKITŰZÉSEK	5
2.1. Ischaemia-reperfüsiós károsodások.....	6
2.1.1. Szabadgyök reakciók.....	7
2.1.2. A szabadgyökök és az ischaemia-reperfüsiós károsodás	9
2.1.3. Az ischaemia-reperfüsiós károsodás elleni védelem lehetőségei.....	11
2.1.4. Az allopurinol hatásmechanizmusa.....	14
2.2. Az endothel szerepe az értónus szabályozásában	17
2.2.1. Az endothel által termelt vasoactív faktorok.....	17
2.2.2. Az erek endothel-függő kontrakciójának és relaxációjának változása ischaemia-reperfüsiót követően.....	19
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	22
3.1. Kísérleti állatok, műtéti technika, kísérleti csoportok.....	22
3.2. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüsiós károsodások funkcionális és morfológiai vizsgálata az érfalban	26
3.2.1. Érreaktivitási vizsgálatok	26
3.2.2. A leszorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálata.....	28
3.2.3. A leszorított veseartéria apoptózis vizsgálata.....	29
3.3. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüsiós károsodások funkcionális és morfológiai változásainak vizsgálata a vesére vonatkozóan.....	29
3.3.1. Rutin vesefunkciós vizsgálatok	30
3.3.2. Vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz meghatározása	30
3.3.3. A veseparenchyma fénymikroszkópos szövettani vizsgálata.....	30
3.4. A veseartéria leszorítását követő szisztémás ischaemia-reperfüsiós károsodások vizsgálata ..	31
3.4.1. Haematológiai paraméterek meghatározása.....	31
3.4.2. Haemorheológiai paraméterek meghatározása.....	31
3.4.2.1. Vörösvérsejtek deformabilitásának meghatározása	31
3.4.2.2. Teljes vér- és plasma viszkozitás meghatározása	32
3.4.2.3. Fibrinogén koncentráció meghatározása	32
3.4.3. Szérum antioxidáns aktivitás meghatározása.....	33
3.4.4. Plasma endothelin szint meghatározása	33
3.5. Statisztikai analízis	34
4. EREDMÉNYEK	35
4.1. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüsiós károsodások funkcionális és morfológiai vizsgálatának eredményei az érfalban.....	35
4.1.1. Az érreaktivitási vizsgálatok eredményei	35
4.1.2. A leszorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálatának eredményei....	38
4.1.3. A leszorított veseartéria apoptózis vizsgálatának eredményei	40
4.2. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüsiós károsodások funkcionális és morfológiai változásainak változásai a vesére vonatkozóan.....	42
4.2.1. Rutin vesefunkciós vizsgálatok eredményei	42
4.2.2. Vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz aktivitás változások	44
4.2.3. Szövettani változások a veseparenchymában.....	45
4.3. A veseartéria leszorítását követő szisztémás ischaemia-reperfüsiós károsodások.....	46
4.3.1. Haematológiai paraméterek változásai.....	46

4.3.2. Haemorheologiai paraméterek változásai	48
4.3.2.1. Vörösvérsejtek deformabilitásának változásai	48
4.3.2.2. Teljes vér- és plasma viszkozitás változások	50
4.3.2.3. Fibrinogén koncentráció változások.....	52
4.3.3. Szérum antioxidáns aktivitás változások.....	52
4.3.4. Plasma endothelin szint változások.....	54
5. MEGBESZÉLÉS.....	55
6. ÖSSZEFOGLALÁS / SUMMARY	73
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	75
7.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke	75
7.2. Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények.....	82
7.3. Az értekezés témájával összefüggő egyéb in extenso közlemények.....	82
7.4. Egyéb közlemények	82
8. TÁRGYSZAVAK.....	84
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	85
10. FÜGGELÉK.....	86

1. BEVEZETÉS

A klinikai gyakorlatban a *vese ischaemia-reperfusió*s károsodása elkerülhetetlen következménye lehet számos kórállapotnak és műtéti beavatkozásnak is.

Lehet általános hypoperfusio és a keringés ezt követő helyreállításának következménye szívmegeállást követő újraélesztés, shockos állapot kapcsán, de okozhatja lokális hypoperfusio is hasi traumák esetében. Előfordulhat minden olyan érsebészeti beavatkozás során, mely az aorta teljes keresztmetszetű leszorítását igényli az arteria renalis eredése felett.

Meleg- és hideg ischaemiás, illetve reperfusió s károsodásokkal lehet számolni vese-transplantatio során is. A különböző típusú veseresectiók esetén (egysíkú vagy ékalakú resectiók, longitudinalis nephrotomia), vesedaganat eltávolítása kapcsán -főleg soliter vese esetén- és egyéb, az arteria renalis rövidebb vagy hosszabb idejű időleges leszorítását igénylő urológiai beavatkozások (pl. traumás sérülések és vese üregrendszeri műtétek) során egyaránt figyelembe kell venni a korai és késői ischaemia-reperfusió s károsodások lehetőségét.^{5, 158}

Ismert tény, hogy az arteria renalis maximálisan 30 percre szorítható le a vese irreverzibilis károsodása nélkül. Bizonyos műtéteknél ez a leszorítás hosszabb időt is igénybe vehet, mely megfelelő védelem hiányában nem kivitelezhető.

Ezen beavatkozásoknál nemcsak a *veseparenchyma* szenvedhet reverzibilis vagy akár irreverzibilis károsodásokat a leszorítás idejétől függően, hanem magában a *leszorított artéria* falában, a leszorítás helyén is bekövetkezhetnek hasonló elváltozások, amelyek az arteria renalis kontrakciós-relaxációs képességét kedvezőtlenül befolyásolhatják.

A szövetek morfológiai és funkcionális állapota mellett a keringő vér rheológiai tulajdonságai is fontos szerepet játszanak a különböző folyamatokban. A megváltozott rheológiájú vér az egész szervezetre hatással lehet, akár a károsodott régiótól távol is. Az ischaemia és az azt követő reperfusio a szervekben, szövetekben számos folyamatot indíthat el, amelyek befolyásolhatják a vér rheológiai faktorait.

A szabadgyök reakciók, a felszabaduló mediátorok, a helyi vagy szisztémás haemodinamikai változások, a pH változása, a folyadékterek átrendeződése, kóros elváltozásai mind befolyásolhatják a haemorheológiai állapotot. A haemorheológiai paraméterek vizsgálata ezért fontos és értékes információt adhat az ischaemia-reperfusio során létrejött változásokról.

A vese ischaemia-reperfusió károsodás pathomechanismusának tisztázására az elmúlt évtizedekben számtalan kísérletes modell született, melyek igazolták a szabadgyökök oki szerepét. Ezzel párhuzamosan egyre bővült azon lehetőségek, biológiai és kémiai anyagok köre (természetes és szintetikus antioxidánsok, gyökfogók, különböző támadáspontú gátlószerek), melyekkel a károsodás megelőzhető, vagy csökkenthető.¹⁴⁰

Ezek egyike a szabadgyök termelődésben kulcsszerepet játszó xantin-oxidáz gátlószere, az *allopurinol*, melynek ischaemia-reperfusió károsodásokra gyakorolt kedvező hatását már számos kísérlet bebizonyította.^{1-3, 13, 16, 20, 23-25, 34-35, 40, 43, 47, 49, 52, 54, 59, 87, 89, 95, 103, 117, 121-122}

Nem találtunk azonban olyan irodalmi hivatkozást, mely speciálisan a leszorított erekre, így az arteria renalisra vonatkozóan közölt volna adatokat magában az érfalban, az időleges leszorításra bekövetkező ischaemia-reperfusió elváltozásokkal, s azok esetleges kivédési lehetőségével kapcsolatban allopurinol elő- vagy utókezelést követően.

Ezért olyan sebészi modell kidolgozását terveztük, melyben a már korábban jelzett, főleg urológiai jellegű beavatkozások során az időleges arteria leszorítást követhető ischaemia-reperfusió károsodások különböző laboratóriumi módszerekkel kimutathatók és megfelelő kezeléssel csökkenthetőek, nemcsak a leszorítás helyén az érfalban, hanem a veseszövetben is, és az egész szervezetet érintő szisztémás változásokra is kedvezően tudnak hatni. Végül célunk az volt, hogy a kísérletek során nyert mérési adatok értékelése során hasznosítható eljárásokat javasolhassunk a klinikai gyakorlat számára az ilyen jellegű műtéti technikák alkalmazása során, ezzel is a sebészi biztonságot növelve.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Megfelelő artériás érmodell kidolgozása kutyák arteria renalisán, az ér teljes keresztmetszetének időleges leszorítását követő ischaemiás-reperfúziós károsodások vizsgálatára.
2. A érmodellben -1 hetes postoperatív utánkövetéssel- különböző funkcionális és morfológiai mérőmódszerekkel annak bizonyítása, hogy az arteria renalis leszorítását és felengedését követő -az irodalomból jól ismert- változások nemcsak a veseparenchymát, hanem a veseartériát is érinthetik.
3. Érreaktivitási vizsgálatokkal bizonyítani az arteria renalis leszorítását követő, az érfalban kialakulható ischaemiás károsodásokat, a xantin-oxidáz gátló allopurinol feltételezett védőhatásának kimutatásával.
4. Az allopurinol feltételezett védőhatásának bizonyítása nemcsak a vese, hanem a veseartéria morfológiai változásainak vonatkozásában is a 45 perces ischaemia és az azt követő reperfüzió során.
5. A 45 perces ischaemia és az azt követő reperfüzió szisztémásan bekövetkező változásainak kimutatása haematológiai és haemorheológiai vizsgálatokkal, antioxidáns aktivitás és endothelin szint meghatározással.
6. Fenti modellen a leggyakrabban alkalmazott rutin vesefunkciós vizsgálatok (szérum urea és kreatinin meghatározás) mellett -az ischaemia-reperfúziós károsodások kimutatására eddig erre a célra nem alkalmazott módszer- a vizelet N-acetyl- β -D-glukozaminidáz aktivitás meghatározása.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Ischaemia-reperfusiós károsodások

A szervek, szövetek vérellátásának bármilyen okból történő megszűnése ischaemiát eredményez, mely igen rövid időn belül a szövetek anyagcseréjének károsodásához vezet, s irreverzibilis változások alakulhatnak ki. Paradox módon a véráramlás helyreállása olyan történés sorozatát indítja el, melyek tovább súlyosbítják az adott szerv, szövet állapotát. Ez a jelenség ischaemia-reperfusio néven ismert.

Az évtizedek során számos állatfaj különböző szerv- és szövetmodelljén végzett kutatómunka során bővültek az ismeretek az ischaemia-reperfusio pathophysiológiájával kapcsolatban,^{88, 136, 163} ugyanakkor a károsodást okozó ischaemiás idő hosszát illetően továbbra is vannak tisztázatlan kérdések.

Az elváltozások nagy része a reaktív oxigén intermedierek, a szabadgyök reakciók direkt vagy indirekt károsító hatásaira vezethető vissza.⁸⁸ A károsodás alapvető oka, hogy a korai reperfusio alatt keletkező oxigén eredetű szabadgyökök, reaktív oxigén intermedierek mennyisége meghaladja az endogén antioxidáns rendszer kapacitását és kialakul az *oxidatív stressz* állapota. Ennek ismert celluláris következményei a membrán lipidperoxidáció, membrán fehérje szerkezeti elváltozások, ioncsatornák és receptorok károsodása, valamint DNS denaturáció. Az intracelluláris ion homeostasis megváltozik, a sejtmembrán permeabilitás fokozódik, ami a kalcium ion intracelluláris beáramlásához és végül sejthalálhoz vezet.^{4, 33, 41}

A károsodás másik komponense a *szöveti gyulladás*. Ischaemia-reperfusio hatására a neutrophil granulocyták aktiválódnak, az endothel sejtekhez kitapadnak és egy többlépcsős folyamatban az extracelluláris térbe kerülve oxigén szabadgyököket, proteolyticus enzimeket,

histamint termelve gyulladásozó folyamatokat generálnak és tartanak fenn, szövet- és microcirculációs károsodást, súlyos esetben a sejtek és szövetek necrosisát okozva.^{4, 41, 101}

Az oxidatív stressz kiváltotta biokémiai folyamatok hatással vannak nemcsak a granulocyták, de a vörösvérsejtek és thrombocyták funkciójára is. Aggregálódásuk következtében a capillarisokat eltömíthetik, amihez hozzáadódhat az interstitialis oedema capillarisokat komprimáló hatása is. A jelenség „no reflow” jelenségként ismert az irodalomban. Először agyi ischaemiában írták le,⁸¹ majd más szervekben, többek közt a vesében is kimutatták.¹³⁹ Minél hosszabb az ischaemia időtartama, annál valószínűbb a jelenség megnyilvánulása. Szövettanilag duzzadt endothelium, intralumináris kitüremkedések jellemzik, ritkábban thrombocyták és fibrin thrombusok is megfigyelhetők a lumenben, míg az interstitiumban oedema jellemzi.¹²⁰

2.1.1. Szabadgyök reakciók

A szabadgyökök olyan molekulák vagy molekula fragmentek, melyek egyik külső elektronhéjukon egy vagy több párosítatlan elektront tartalmaznak. A párosítatlan elektron hajlamos a párképződésre, ezért a szabadgyökök rövid élettartamúak és kémiaiilag igen reaktívak. Vannak oxigénközpontú (pl. szuperoxid, hidroxil), kénközpontú (glutation gyök) és szénközpontú (triklórmetil) gyökök, de reaktív oxigénterméknek tekinthető a nitrogén-monoxid és egyéb, a sejtekben zajló terminális oxidáció nem gyöktermészetű végterméke is (hidrogén-peroxid). Biológiai szempontból legnagyobb jelentősége az oxigénből eredő szabadgyököknek van (reaktív oxigén intermedierek). Ezek közül legfontosabbak a szuperoxid anion ($O_2^{\cdot-}$), a hidrogén-peroxid (H_2O_2) és a hidroxil gyök (OH^{\cdot}).^{33, 41, 158}

A szabadgyökök kémiai folyamatokban különböző szubsztrátokkal reagálnak egy többlépcsős folyamatban. Az első lépés, vagy *iniciáció* során szabadgyökök generálódnak.

A második, *propagációs* fázisban egész sor olyan reakciót képesek beindítani, melyek további szabadgyök-aktiválódáshoz vezetnek, végül a *terminációs* folyamatban megsemmisülnek. A gyökök képződését különböző fémionok, elsősorban a vas és a réz, katalizálni képesek.³³

A szervezetben egy összetett védekező rendszer létezik, mely a szabadgyök reakciókat egyensúlyban tartja, részben antioxidáns enzimek, részben nem-enzimatis antioxidánsok közreműködése révén.^{41, 158}

Az intracellularis, ún. *enzimatis védelmi rendszer* enzimeit a szuperoxid dizmutázok, a kataláz és a glutation-peroxidáz. A szuperoxid dizmutáz és a kataláz dizmutáció révén, míg a glutation-peroxidáz oxido-redukációs reakció katalízise révén fejti ki antioxidáns hatását. Mindkét izoenzim a szuperoxid gyök semlegesítését végzi azáltal, hogy H₂O₂-vé redukálja. A kataláz a hidrogén-peroxid vízzé és oxigénné való redukcióját katalizálja. A glutation-peroxidáz elektront visz át a redukált glutationról, és a peroxidokat ily módon destruálja. Az oxidált glutation a glutation-reduktáz révén alakul vissza redukált formává, ehhez az enzim NADPH-t használ.

A sejteken belül fontos szerepe van a mitochondriumok citokróm-oxidáz rendszerének is, mely tetraavalens lévén, négy elektronnal történő redukció során az oxigént vízzé alakítja.

Az extracellularis tér kevésbé védett a szabadgyök hatásokkal szemben. A védelem legfontosabb eleme a coeruloplasmin, mely a lipidperoxidációt katalizáló ferrovasat ferrivassá alakítja át, de a transferrin, a glukóz, a bilirubin, a piruvát, és a húgysav is rendelkeznek antioxidáns hatással.

Az első, ún. *enzimatis védelmi rendszer* tárgyalása után megemlítendő a *nem enzimatis antioxidánsok* csoportja. Ezek a lipidperoxidáció különböző fázisaiban hatnak, egy adott antioxidáns egyszerre több hatásmechanizmussal is kifejtheti hatását. A védekezés több támadáspontú lehet, így az iniciáció gátlásával (pl. E-vitamin), a hidroperoxidok képződésének megakadályozásával (pl. E-, C-vitamin), a hidroperoxidok elbontásával

(pl. thiol vegyületek: cisztein, ciszteamin, glutation, metionin), a lipidperoxidációt katalizáló fémionok kelátora révén (pl. D-penicillamin, desferal), és a képződött szabadgyökök megkötésével (pl. A-, E-vitamin) is történhet.^{4, 33, 41, 46, 104, 150, 158}

Ha a keletkezett szabadgyökök mennyisége meghaladja a sejtek endogén antioxidáns kapacitását, kialakul az *oxidatív stressz*. Ennek során a szabadgyökök olyan láncreakciókat indítanak be, melyek további sejtkárosodást okoznak. Autooxidációs és peroxidációs folyamatok indulnak be, a gyökök károsíthatják a strukturális fehérjéket, inaktiválhatják az enzimeket, oxidálhatják a hormonokat, lipidek peroxidációját okozzák, roncsolják a nukleinsavakat. Sejtszinten az oxidatív stressz mutációkhoz, kromoszóma eltérésekhez, apoptosishoz, necrosishoz vezethet.^{4, 125, 158}

Az oxidatív károsodás az életciklus folyamán akkumulálódik és a szabadgyök-függő károsodások a DNS, fehérjék és lipidek károsítása révén kulcsszerepet játszanak számos betegség, mint pl. egyes rosszindulatú daganatok, arteriosclerosis, arthritis, neurodegeneratív kórképek kialakulásában.^{33, 125}

2.1.2. A szabadgyökök és az ischaemia-reperfúziós károsodás

Granger és munkatársai bizonyították elsőként a szabadgyök reakciók szerepét macska intestinális ischaemia modellükön,⁴² melyet azóta számos szerző igazolt.^{88, 119}

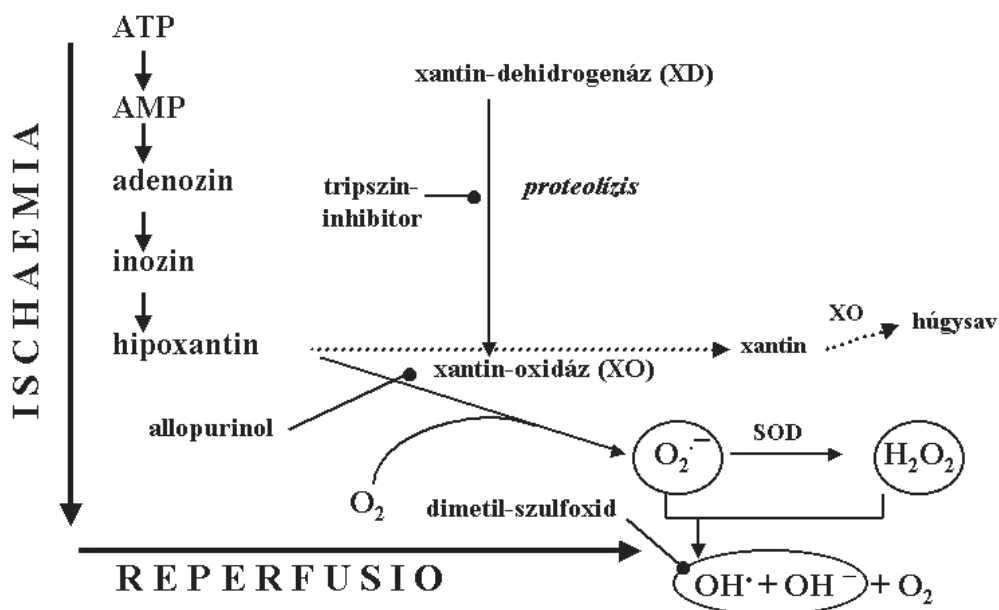
A szabadgyökök két legfontosabb forrása ischaemia-reperfúziós károsodás során a xantin-oxidáz rendszer és a neutrophil leukocyták.

A *xantin-oxidáz rendszer* egyike a legjelentősebb szuperoxid és hidrogén-peroxid forrásoknak. A xantin-oxidáz (XO) és a xantin-dehidrogenáz (XD) ugyanazon enzim -a xantin-oxidoreduktáz (XOR)- két formája, melyek képesek átalakulni egyik formából a másikba. In vivo az enzim 90%-ban xantin-dehidrogenáz formában van jelen.¹⁴

A purin nukleotidok katabolizmusa során az utolsó két lépés a hipoxantin-xantin és xantin-húgysav átalakulás, melyet a xantin-oxidoreduktáz katalizál.¹¹⁷ Normál körülmények között a hipoxantint a xantin-dehidrogenáz enzim oxidálja húgysavvá, de oxidálhatja a xantin-oxidáz is. Ischaemia során xantin-dehidrogenáz/xantin-oxidáz konverzió következik be. A xantin-dehidrogenáz/xantin-oxidáz átalakulás irreverzibilis, ha proteolyticus úton és reverzibilis ha a szulfhidril csoportok oxidációja során megy végbe.^{9, 14}

A konverzióhoz szükséges ischaemiás időtartam szervenként változik, a vese esetében hozzávetőlegesen 30 perc.⁸⁸ A xantin-dehidrogenáz fiziológiás elektronakceptora a nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD⁺), a xantin-oxidázé a molekuláris oxigén.

A hypoxiás sejtből a xantin-dehidrogenáz átalakul oxidált formává, ugyanakkor ischaemia során az ATP defoszforilálódik, az AMP koncentrációja fokozódik a sejtekben, majd adenzinná, inozinná és végül hipoxantinná katabolizálódik. Így a sejtből mind a xantin-oxidáz, mind az enzim egyik szubsztrátja jelen van. Reperfusio során a másik szubsztrát, a molekuláris oxigén is megjelenik és a xantin-oxidáz a molekuláris oxigént szuperoxid gyökké és hidrogén-peroxiddá redukálja.^{45, 153, 163}



1. ábra

Az ischaemia-reperfusió károsodás szabadgyökös mechanizmusa^{42, 88}

További szabadgyök képződéshez vezet, hogy a szuperoxid gyök katalizálja a Fe^{+++} redukcióját Fe^{++} ionná, így fokozza a hidroxil gyökök képződését a Fenton-reakció során.

A szabadgyökképződés másik fő forrását a *neutrophil leukocyták* jelentik.¹⁵⁷ Ischaemia során a neutrophil leukocyták citokinek által aktiválódnak, infiltrálódnak a szövetekbe és a myeloperoxidáz és NADPH oxidáz révén szabadgyököket generálnak.^{39, 157-158}

Fentiekén kívül képződnek még szabadgyökök az arachidonsav metabolizmus során, a megzavart működésű nitrogén-monoxid-szintáz, az endotheliális NADPH oxidáz, továbbá a mitochondriális elektrontranszport lánc működése révén is.^{33, 101, 157}

Bár az elváltozások nagy része a reaktív oxigén intermedierek, a szabadgyök reakciók direkt vagy indirekt károsító hatásaira vezethető vissza, más mechanizmusok is szerepet játszanak a károsodás kialakulásában.

A neutrophil leukocyták szerepe az ischaemia-reperfúziós vesekárosodás kialakulásában vitatott.²⁷ Míg egyes kutatók feltételezik szerepüket a folyamatban,^{63, 76, 161} addig mások szerint nincs meghatározó szerepük.^{111, 146}

Az aktivált és extracelluláris térbe került leukocyták oxigén szabadgyököket, proteolyticus enzimeket, histamint termelve gyulladásszerű folyamatokat generálnak és tartanak fenn, szövet- és microcirculációs károsodást, a sejtek és szövetek necrosisát okozva.²⁷

2.1.3. Az ischaemia-reperfúziós károsodás elleni védelem lehetőségei

Az ischaemia-reperfúziós károsodás elleni védelem több támadáspontú lehet. A szervezet saját védelmi rendszerét jelentő *fiziológias védelem* intracelluláris (szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz) és extracelluláris (glukóz, bilirubin, transferrin) elemeit a korábbi fejezetben már említettem.

A *farmakológiai védelem* csoportjába tartozó vegyületek többfélék lehetnek. Antioxidánsnak nevezünk általánosságban minden olyan természetes vagy szintetikus előállított vegyületet, mely a szabadgyökök képződését megakadályozza, vagy a reaktív oxigén-intermediereket „befogva” (gyökfogók) védelmet nyújt azok káros hatásaival szemben.³³

A szuperoxid gyökök képződését akadályozza meg a xantin-oxidáz gátló allopurinol illetve oxidációs metabolitja, az oxipurinol. A lipidperoxidáció gátlásával hatnak az E és C vitamin, a propranolol, a Ca-csatorna blokkolók, a Captopril. A vas katalizálta Haber-Weiss reakcióban képződött hidroxil gyök képződést gátolják a vaskelát képzők, mint a desferrioxamin és a deferoxamin.^{4, 41, 46, 153}

A gyökfogók közé tartoznak a mannitol, dimethyl-thiourea, dimethyl-sulphoxid és a mercaptopropionyl-glycin, melyek a hidroxil gyököket „fogják be”. A histidin a szinglet oxigén gyökfogója. Főleg a hidroxil gyökök semlegesítését végzik a thioltartalmú vegyületek közül az angiotenzin-konvertáló enzim Captopril és az N-acetylcystein.^{41, 104}

A védelem másik lehetséges megközelítési módja az ischaemia-reperfúziós károsodásban szerepet játszó neutrophil sejtekre kifejtett hatás. Az egyik lehetőség a gyulladáshoz vezető mediátorok felszabadulásának gátlása (anti-TNF- α antitestek, IL-1 receptor antagonisták, PAF antagonisták), továbbá a leukocita adhaesiós molekulák szintézisének csökkentése transzkripciós faktorok expressziójának gátlásával (D-penicillamin, glucocorticoidok, salicylátok), vagy a leukocita-endothel interakciók gátlása (anti-ICAM-1 antitestek).¹¹⁵

A további lehetőségek között említhető a *membránstabilizálók* alkalmazása. Ide sorolhatók a 21-aminosteroidok vagy más néven lazaroidok, melyek gátolják a vas által katalizált lipidperoxidációt és az arachidonsav metabolizmust. Szintén az arachidonsav

metabolizmusra kifejtett hatás révén alkalmazható a ciklo-oxigenáz gátló Ibuprofen,⁶³ a prosztaciklin és a tromboxán A₂.⁷¹

NO donorok alkalmazása, a NO-szintézis gátlása szintén lehetséges alternatíva az ischaemia-reperfúziós károsodás csökkentésére.⁴

Az *egyéb* lehetőségek közt említhető a meleg ischaemiás vesekárosodások elkerülése céljából alkalmazott *hypothermia*, amely lehet felületi vagy perfúziós jellegű. Ez akár 90-120 percre is megnövelheti az irreverzibilis károsodás nélküli leszoríthatóság idejét.⁸² A vena renalis collateralis ágain (v. spermatica/ovarica interna, v. suprarenalis) keresztül történő perfúzió kidolgozása tanszékünkhöz kötődik.^{91, 141}

Az *ischaemiás prekondicionálás* (IPC) a sejtek stresszre adott adaptációs válasza, mely során az egy vagy több rövid ischaemiás epizód növeli a sejtek toleranciáját egy későbbi súlyosabb ischaemia-reperfúziós károsodással szemben. Először Murry és munkatársai írták le kutyaszív modellen.⁹⁶ A kialakult protekció kétfázisú: a klasszikus, vagy *korai prekondicionálás* a stimulust követően azonnal megjelenik és 2-3 óráig mutatható ki,⁹⁶ míg a *késői* 12-24 óra múlva jelenik meg és 3-4 napig tart.¹⁰

A vesével kapcsolatban ellentmondásosak a kutatási eredmények, mind a prekondicionálás hatásossága, mind protokollja, mind hatásmechanizmusa tekintetében. Korai tanulmányok szerint vese esetében hatástalan az IPC,⁵⁶ később azt találták, hogy kisméretű emlősállatok (egér, patkány) esetében hatásos,^{22, 56-57, 70, 116, 124} de nagyobb testűeknél (kutya, sertés) nem.^{8, 68} A protokollokban 3 vagy 4 ciklusban alkalmaztak különböző időtartamú, rövid ischaemiás-reperfúziós periódusokat (2, 4, 8, 10 perc ischaemia, 5, 10, 11 perc reperfüzió). Az IPC egyik valószínű mediátora az adenozin,¹² míg mások szerint a NO felszabadulás fokozódása.⁵⁷

Mérsélhetőek az ischaemia káros hatásai az ún. *hypoxiás reperfüzióval* is, mely alacsonyabban oxigenizált vért átáramoltatásával történik.^{41, 164}

A védekezés főbb lehetséges módozatait az I. táblázat összegzi.

I. táblázat: Az ischaemia-reperfusió károsodásokkal szembeni védelem lehetséges módjai

FIZIOLÓGIÁS	FARMAKOLÓGIAI		EGYÉB
<i>Szabadgyök fogók</i>	<i>Antioxidánsok</i>		<i>Hypothermia</i>
szuperoxid dizmutáz kataláz glutathion peroxidáz	Szabadgyök-képződést gátlók	Gyökfogók	<i>Ischaemiás prekondicionálás</i>
<i>Antioxidánsok</i>	allopurinol E és C-vitamin desferrioxamin Propranolol Ca-csatorna blokkolók Captopril	Mannitol dimethyl-thiourea dimethyl-sulphoxid mercaptopropionyl-glycin histidin N-acetylcystein	<i>Hypoxiás reperfusio</i>
glukóz bilirubin transzferrin C és E vitamin albumin urea	<i>Neutrophil aktivitás gátlók</i>		
	PAF antagonisták 5-lipo-oxigenáz inhibitorok TGF-β adenozin perfluoro vegyületek anti TNFα antitestek IL-1 receptor antagonisták adhesiós molekula blokkoló antitestek		
	<i>Membrán stabilizálók</i>		
	21 aminosteroidok Ibuprofen prosztaciklin tromboxán		
	<i>NO donorok alkalmazása</i>		
	<i>NO szintézis gátlása</i>		

2.1.4. Az allopurinol hatásmechanizmusa

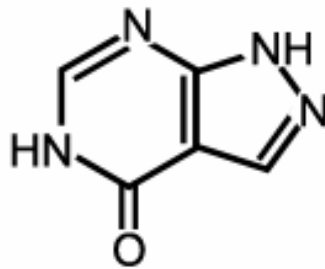
Az allopurinol tautomerikus keveréke az 1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-olnak és az 1,5-dihidro-4*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-onnak. Falco és munkacsoportja szintetizálta az 1950-es évek közepén eredetileg egy új tumorellenes szerként, azonban hamarosan kiderült, hogy xantin-oxidázt gátló hatással bír, csökkentve ezáltal a szérum és vizelet húgysav szintjét,¹²⁷⁻¹²⁸ ezért sikerrel alkalmazták és alkalmazzák ma is köszvényellenes szerként.

Az allopurinol por alakú, vízben gyengén, kálium vagy nátrium-hidroxidot tartalmazó oldatokban azonban jól oldódó szer.

In vivo igen rövid idő alatt oxidálja a xantin-oxidáz, aktív metabolitjává, oxipurinollá, mely szintén gátolja a xantin-oxidázt. Alacsony koncentrációban az allopurinol szubsztrátja és kompetitív gátlószere az enzimnek, magas koncentrációnál pedig nem-kompetitív gátlószere, míg az oxipurinol kizárólag nem-kompetitív gátló.

Az allopurinol plasma felezési ideje 2-3 óra, míg fő metabolitja, az oxipurinol (alloxantin) plasma felezési ideje 14-30 órára tehető.¹⁴ Következésképpen a xantin-oxidáz gátlás hatékony lehet a reperfúziós időszakban is, hozzávetőlegesen 1 napig.

A xantin-oxidáz gátlás hatásmechanizmusát Massey és munkatársai írták le 1970-ben.⁸⁵ A reperfúzió során a XO molekuláris oxigént használ a hipoxantin-xantin és xantin-húgsav átalakuláshoz, mely folyamat során hidrogén-peroxid és szuperoxid gyökök keletkeznek nagy mennyiségben.⁴⁴ Ezt a szabadgyökképződést akadályozza az allopurinol, mely a hipoxantin struktúranalógja (2. ábra).



2. ábra

Az allopurinol kémiai szerkezete

Az allopurinol akkor fejt ki hatását a legjobban, ha már az ischaemia bekövetkezése előtt jelen van a veseszövetben illetve ha megfelelően magas koncentrációban megtalálható a reperfúzió megindulásakor,⁵² melyet máj ischaemia-reperfúziós kísérletben is igazoltak.⁵⁹

Bár az allopurinol kedvező hatását elsősorban a xantin-oxidáz gátló hatásnak tulajdonítják, egyes kutatók úgy vélik, hogy mint a reaktív oxigén gyökök nem specifikus

scavengere is szerepet játszik az ischaemia-reperfúziós károsodások csökkentésében,^{25, 35, 60, 95} mások szerint serkenti az ATP reszintézisét is.⁵⁹

Az allopurinolt az elmúlt évtizedben különböző ischaemia-reperfúziós szervmodellekben alkalmazták a károsodás csökkentésére, kivédésére.

Vese ischaemia-reperfúziós modell esetében azt tapasztalták, hogy allopurinol alkalmazása szignifikánsan javította a túlélési arányt és a vesefunkciót a 40-120 perc ischaemiának kitett állatokban.^{3, 13, 20, 47, 49, 52, 122}

Máj ischaemia-reperfúziós modellnél alkalmazva azt találták, hogy mérsékelte a májkárosodást, amit a hepaticus enzimek csökkent felszabadulása jelzett, továbbá csökkentette a lipidperoxidációt és az NFκB aktivitást.^{23, 59-60, 87, 121}

Időleges arteria coronaria leszorítás előtt alkalmazva mérsékelte az infarctus kiterjedését⁴⁰ és csökkentette az arhythmia előfordulási gyakoriságát,¹⁵² javította a szívizom kontraktilitását.⁶⁵

Tüdő ischaemia-reperfúziós modellben is szignifikánsan csökkentette a postischaemiás károsodás mértékét.¹

Vékonybél ischaemia-reperfúziós modellben mérsékelte a crypták epitheliumának és a bélbolyhoknak a necrosisát, kedvezően befolyásolta az érpermeabilitást,^{43, 117} csökkentette a mucosa károsodást és a mortalitást,⁸⁹ a histamin felszabadulást,¹⁶ a leukocytá infiltrációt, a lipidperoxidációt és gyulladáscsökkentő chemokinek szintjét.^{54, 123}

Agyi erekben történő alkalmazás során csökkentette az infarctus kiterjedését⁷⁷ és az idegsejtek károsodását a korai és késői reperfúziós időszakban.²

Végtag ischaemia-reperfúzió esetében az allopurinol javítja a végtag életképességét^{24,}³⁴ és a vörösvérsejtek deformálódó képességének megőrzésével a vérellátását, keringését.¹⁰²

Az allopurinol oxidációs metabolitját, az oxipurinolt (más néven alloxantin) is alkalmazták az ischaemia-reperfúziós károsodás kivédésére, szintén sikerrel.^{28, 75, 100}

Az allopurinol alkotóeleme a transplantációra szánt szervek preservációjához használt University of Wisconsin (UW) oldatnak is. Owens és munkatársai kutyákon végzett kísérlete vetette fel alkalmazásának lehetőségét, amikor 1974-ben leírták szignifikáns védőhatását vese transzplantáció esetén.¹⁰⁸

2.2. Az endothel szerepe az értónus szabályozásában

2.2.1. Az endothel által termelt vasoactiv faktorok

Az endothel fontos szerepet játszik az ér kontrakció-relaxáció szabályozásában különböző vasodilatator és vasoconstrictor anyagok termelése révén (II. táblázat).⁸⁰

II. táblázat: Az endothel által termelt anyagok hatás szerinti csoportosítása

VASODILATATOR	VASOCONSTRICTOR
nitrogén-monoxid (NO)	endothelin-1 (ET-1)
prosztaciklin (PGI ₂)	angiotenzin II
EDHF	tromboxán A ₂ (TXA ₂)
	prosztaglandin H ₂ (PGH ₂)
	endoperoxidok

A vasodilatator hatású anyagok közül Furchgott és Zawadski 1980-ban mutatták ki egy endothel-függő, lokálisan ható faktor jelenlétét,³⁷ melyet később *nitrogén-monoxid*ként (NO) azonosították.^{93, 113} A NO fiziológias körülmények között részt vesz az értónus közvetlen szabályozásában cGMP-dependens mechanizmus révén.⁹⁴ Védő hatásai között a trombocita és leukocita adhesio/aggregatio gátlását és a szabadgyökök semlegesítését tartjuk számon. Ezek mellett szerepe beigazolódott a normál érpermeabilitás fenntartásában, a

simaizom proliferáció gátlásában és az endothel sejtek regenerációjának serkentésében.⁴ Nagyfokú reaktivitása miatt a NO igen alacsony fél-életidejű. A molekula részben konstitutív módon (endothelialis és neuronális NO-szintáz révén) vagy kóros körülmények között, gyulladásos körülmények között (az induktív NO-szintáz révén) fokozott mennyiségben keletkezik.¹¹³⁻¹¹⁴ A NO kapcsolata a szabadgyök reakciókkal meglehetősen ellentmondásos. A reperfusio során nagy mennyiségben keletkező szuperoxid gyökök a NO-t semlegesítik, ugyanakkor a NO a szuperoxid gyökkel reakcióba lépve peroxynitritet képez, mely a szövetkárosodás egyik mediátora.⁷ Indirekt módon, az NFκB upregulációján keresztül is kifejthet szövetkárosító hatást.²⁶

Egy másik hatékony vasodilatatót kiváltó faktor az arachidonsav metabolizmus egyik lebomlási terméke, a *prosztaciklin* (PGI_2) vasodilatator hatását az intracelluláris cAMP szint emelésével éri el,¹³²⁻¹³³ emellett a NO-hoz hasonlóan gátolja a thrombocytá aggregációt.

Az *Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor* (EDHF) hatására hyperpolarizáció, és következményes relaxáció következik be, mely a simaizomsejtekben található K_{Ca} csatornák megnyílásával van összefüggésben.¹⁹ Egyes nézetek szerint az endothelből az alatta fekvő simaizomsejtekhez futó elektromos impulzus terjedése vált ki ún. „gap junction”-okon keresztül relaxációt.⁷⁹ Míg a NO elsősorban a nagy nyomású artériák mint pl. az aorta esetében bír nagyobb jelentőséggel, addig az EDHF-nek inkább az ún. rezisztencia erek esetén van szerepe az értónus fenntartásában.¹³¹

Fentiekén kívül a purinerg receptor aktivátor *adenozin* szintén vasodilatatót okozó fázisos kontrakciót követően, amelynek háttérében szervenként más, egymástól eltérő receptorális mechanizmusok állhatnak,¹⁴³ hasonlóan a muscarin receptor agonista acetylcholinhoz, amely szintén relaxációt okoz.

Az endothel-függő *kontrakcióban* szerepet játszó legfontosabb és legpotensebb vasoconstrictor az *endothelin-1* (ET-1; Yanagisawa).¹⁵¹ A NO részben ellensúlyozza az

ET-1 vasoconstrictor hatását,⁶⁹ ugyanakkor gátolja is az ET-1 termelődését és felszabadulását az endothel sejtekből.¹⁷ Az endothelinek egy 21 aminosavból álló peptidcsalád, melynek három aktív isoformja (ET-1, ET-2, ET-3) van, közülük a legpotensebb hatást az ET-1 fejt ki. Hatása százszorosa a noradrenalin vasoconstrictor hatásának, de az angiotensin II hatásánál is tízszer erősebb. Részt vesz a simaizomtónus szabályozásában mind fiziológiás, mind pathophysiológiás körülmények között.^{107, 142, 144} Két specifikus receptora (ET_A, ET_B) van. Az ET_A receptorok vasodilatációt közvetítenek és az ET-1 iránt van nagy affinitásuk, míg az ET_B receptorok vasoconstrictiót (ET_{B2}) és vasodilatációt is közvetíthetnek (ET_{B1}) és egyforma affinitásuk van ET-1 és ET-3 iránt¹²⁶

Szintén vasoconstrictor hatású az *angiotenzin II*, amely közvetlenül a simaizomsejten lévő receptorok stimulálása által fejt ki hatását, emellett az endothel sejten lévő receptorok izgalma révén fokozza az endothelin és a reaktív oxigén intermedierek szintézisét. Ezen indirekt hatások szintén a vasoconstrictio irányába hatnak. Az arachidonsav anyagcsere termékei, a tromboxán A₂, a prosztaglandin H₂ és az endoperoxidok szintén vasoconstrictor hatásúak. A thrombocytákban és az endothelsejtben egyaránt termelődnek.⁹²

2.2.2. Az erek endothel-függő kontrakciójának és relaxációjának változása ischaemia-reperfusiót követően

Az endothel egyik fő funkciója az értónus autoregulációs szabályozása vasoconstrictor és vasodilator anyagok elválasztásával, melyek az érfali simaizomzatra fejtik ki hatásukat. Az endothel által termelt, az előbbieken tárgyalt faktorok érzékeny egyensúlyt tartanak fenn, azonban egy faktor szintjének megváltozása átmenetileg kibillenteli az egyensúlyt, ami a rendszerben ellenreakciókat vált ki. Ez szerencsés esetben egy új egyensúlyi állapotot eredményez. Normális endothel funkció esetén az egyensúly zavar gyorsan korrigálódik,

ellenben ha az endothel funkció károsodott, akkor visszafordíthatatlan láncreakciók indulhatnak be, az erek endothel-függő kontrakciós-relaxációs képessége károsodik. Ez az állandó dinamizmus az endothel többi funkciójára is jellemző.⁹⁸

Az endothel dysfunctiót okozhatja általánosságban egyrészt a vasodilatator mediátorok (NO, prosztaciklin, EDHF) csökkent felszabadulása és/vagy az erek simaizomzatának csökkent érzékenysége/rezisztenciája ezen mediátorokkal szemben, másrészt a vasoconstrictorok (ET-1) fokozott termelődése és/vagy az erek simaizomzatának fokozott érzékenysége.

Ischaemia-reperfusio során a NO aktivitás csökken, melynek több oka is lehet: 1./ NO csökkent termelődése az endothel sejtek károsodása miatt; 2./ NO gyorsabb destrukciója a felszabadulást követően; 3./ csökkent NOS aktivitás; 4./ plasma membrán fluiditás változása, ami befolyásolhatja a membrán receptorok és a messenger rendszer közti interakciókat; 5./ a reperfusio során keletkezett oxigén eredetű szabadgyökök semlegesítő hatása; 6./ indirekt módon, az I/R során termelődő vasoconstrictor faktorok hatására; 7./ ér simaizom károsodás.¹⁴⁹

Az endothel sejtek felszínén specifikus receptorok találhatóak, melyek az acetylcholin, bradykinin, serotonin, ADP, UTP, vasopressin és catecholaminok vasodilatatiót kiváltó mediátorok felszabadulását kiváltó hatását közvetítik.

A human veseartériában az acetylcholin, thrombin, serotonin, ADP is endothel mediálta vasodilatatiót okoz, míg az endothel dysfunctió vizsgálatok egy része által tesztelt végtag artériák esetén a fentiek közül egyedül az acetylcholint említik.¹⁵⁴

Kísérleteink során egyik fő célkitűzésünk volt különböző funkcionális és morfológiai módszerekkel annak bizonyítása, hogy az arteria renalis leszorítását és felengedését követő -az irodalomból jól ismert- ischaemia-reperfusió változások nemcsak a veseparenchymát, hanem a veseartériát is érinthetik.

A veseartéria leszorítása egyrészt az endothel sejtek és az ér simaizomzatának károsodásával, s következményes endothel dysfunctióval járhat, másrészt az ischaemia-reperfüsió általános hatásai -szabadgyök felszabadulás, membrán fluiditás változás, vasoconstrictor faktorok termelődése- szintén befolyásolhatják az arteria renalis kontraktilitását és morfológiáját.

Mivel a fenti károsodás háttérében szabadgyök reakciók állhatnak, ezek relatív etiológiai szerepére -indirekt módon- a xantin-oxidáz gátlószere, az allopurinol alkalmazásával kívántunk következtetni és annak feltételezett védőhatását kívántuk igazolni az általunk kialakított érmodellben kapott vizsgálati eredmények összehasonlító vizsgálatával.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Kísérleti állatok, műtéti technika, kísérleti csoportok

Kísérleti állatok

Kísérleteinket 82 keverék kutyán végeztük -nemre és korra való tekintet nélkül- melyek testsúlya $21 \pm 3,2$ ttkg volt. A kísérleteket az 1998. évi XXVIII. számú, az „Állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény előírásait betartva, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyeivel (25/1996 ÁTEB, 15/2000 DEMÁB, 6/2001 DEMÁB) végeztük.

Az állatokat 2-4 hét megfigyelés után vontuk be a kísérletekbe. Az állatokat egyedi ketrecekben tartottuk, normál vegyes étrenden, vízhez való szabad hozzáféréssel, a szükséges szabad mozgás lehetőségét biztosítva, állatorvosi felügyelet mellett.

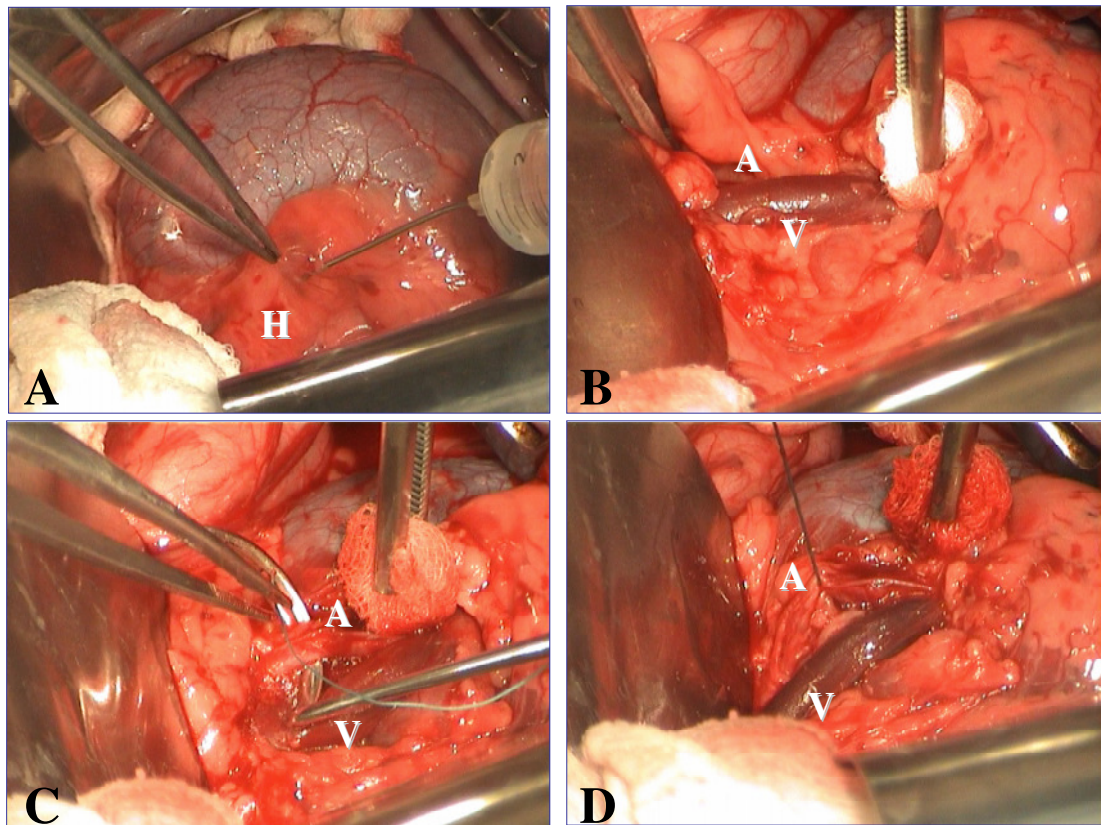
Anaesthesia

Az anaesthesia SBH-Ketamin (10%-os ketaminum hydrochloricum, 10 mg/ttkg), és Primazin (2 %-os xilazinum hydrochloricum, 1 mg/ttkg) kombináció intramuscularis adásával történt, a műtéti periódusban óránként adott, felezett dózisban.

Az állatoknál, tekintettel az érreaktivitási vizsgálatokra, a szokásos altatási protokolltól eltérően nem alkalmaztunk Atropint a praemedicációban, nem végeztünk Lidocain infiltrálást a vesehilus hidraulikus preparálása során és nem alkalmaztunk anticoagulans kezelést sem, mivel ez a vizsgálatok eredményeit befolyásolhatta volna.

Műtéti technika

A műtét kezdetén valamennyi állatnál kipreparáltuk és kanüláltuk a bal oldali vena jugularis externát, ezen keresztül történt -az egyes csoportok protokollja szerint- vagy fizioológias sóoldat, vagy fizioológias sóoldatban oldott allopurinol beadása. A laboratóriumi vizsgálatokhoz a műtét ideje alatti vérvételek is ezen a kanülön keresztül történtek. Ezt követően felső-középső median laparotomia elvégzését követően feltártuk a bal oldali vesét. A vesehilus képleteinek preparálása előtt fizioológias sóoldatos infiltrálást végeztünk. Az arteria renalist finoman kipreparáltuk, majd az ér alá fonalat vezetünk (3.A-D ábra). Ezt követően az eret Blalock érleszorítóval puhán leszorítottuk.



3. ábra

A: vesehilus hidraulikus preparálása; B: arteria renalis és vena renalis kipreparálása;

C: az arteria renalis alá fonal vezetése; D: az izolált veseartéria

A= arteria renalis, V= vena renalis, H= vesehilus

Kísérleteinket 2 fő sorozatban végeztük:

Az *első kísérletsorozatban* a 45 perces ischaemiát követő 60 perces reperfusio során a vesearteriában bekövetkező érreaktivitási változásokat vizsgáltuk az alábbiak csoportokban:

I. Ischaemia-reperfusió csoport+ hordozóanyag (I/R, n=8):

A bal oldali arteria renalis (kettős arteria esetén mindkét ágat) leszorítottuk (4. ábra). Ezen idő alatt a hasüreg szerveit nedves, testhőmérsékletű géztörlőkkel fedtük. A veseartéria leszorítását megelőző 20 percben az állatok infúzióban 200 ml fiziológiás sóoldatot kaptak a kanülált vena jugularis externán keresztül. A leszorítás megszüntetése után, 60 perc reperfusió időszakot követően a bal arteria renalis érreaktivitás vizsgálatok céljából kimetszettük, majd az állatokat túlaltatással extermináltuk.

II. Allopurinollal előkezelt ischaemia-reperfusió csoport (AP+I/R, n=8):

A bal oldali arteria renalis leszorítását megelőző 20 percben az állatok a kanülált vena jugularis externán keresztül allopurinolt kaptak (100 mg/ttkg). Az allopurinolt 200 ml fiziológiás sóoldatban oldottuk fel, a minél tökéletesebb oldódás elérése érdekében NaOH-dal lúgosítva (végleges pH: 8,6). Az arteria renalisból a mintavételek szintén az érleszorítás felengedését követő 60 perces reperfusio után történtek, melyet a kísérleti állatok exterminálása követett.

III. Áloperált csoport+ hordozóanyag (ÁL, n=6):

A hasüreg megnyitását követően az állatok csak fiziológiás sóoldatot kaptak 20 perc alatt bejuttatva azt a vena jugularis externába vezetett kanülön keresztül. Majd a 45 perces érleszorításnak és a 60 perces reperfusionak megfelelő időtartamot kivártuk, ezt követően a bal arteria renalis kimetszettük, majd az állatokat extermináltuk.

IV. Az allopurinollal előkezelt ischaemia-reperfusió csoport jobb oldali arteria renalisai allopurinollal kezelt kontrollként szolgáltak (K+AP).

A második kísérletsorozatban, a műtét után 7 napos utánkövetési idővel az ischaemia-reperfusio következményeit a vese funkcionális és morfológiai károsodása és a szisztémás paraméterek vonatkozásában vizsgáltuk az első kísérletsorozat protokollja szerint:

I. Ischaemia-reperfusió csoport + hordozóanyag (I/R, n=20):

Ebben a csoportban az állatok 200 ml fiziológiás sóoldattal való kezelése és bal oldali arteria renalisának leszorítása az első kísérletben leírtak szerint történt, majd az occlusio megszüntetését követően a hasfalat zártuk.

II. Allopurinollal előkezelt ischaemia-reperfusió csoport (AP+I/R, n=22):

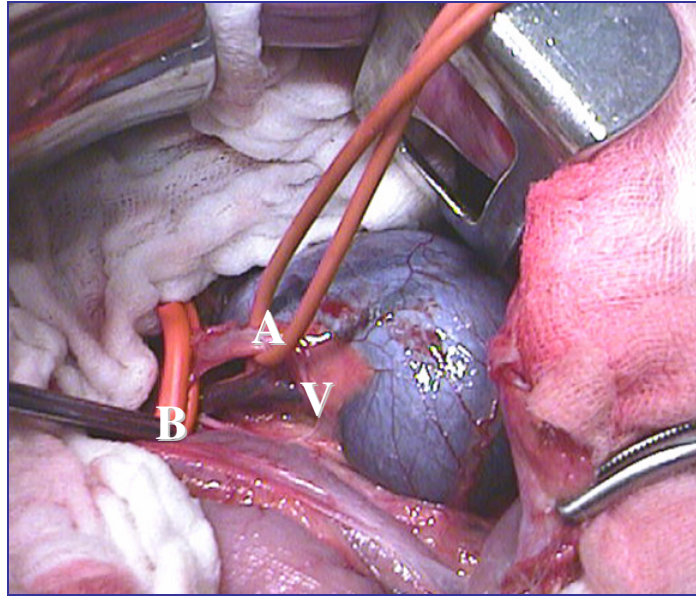
Ebben a csoportban az állatok 200 ml infúzióban adott allopurinol előkezelést kaptak (100 mg/ttkg), majd a bal oldali vesearteria leszorítása az első kísérletben leírtak szerint történt. A leszorítás megszüntetését követően a hasfalat zártuk.

III. Áloperált csoport + hordozóanyag (ÁL, n=18):

A hasüreg megnyitását követően az állatok 200 ml fiziológiás sóoldatot kaptak az első kísérletben leírtak szerint, majd 45 perces várakozási időszakot követően a hasfalat zártuk.

A műtétet követően az állatok fájdalomcsillapítót kaptak (Demalgonil[®]), anticoagulans kezelés nem történt.

Mindhárom csoportban a műtéteket 7 napos intenzív postoperatív megfigyelés és meghatározott időpontokban laboratóriumi és szövettani mintavételek követték.



4. ábra

A kiperparált és leszorított bal oldali arteria renalis.

A= arteria renalis, V= vena renalis, B= Blalock az arteria renalis atraumatikus leszorítására

3.2. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüsiós károsodások funkcionális és morfológiai vizsgálata az érfalban

3.2.1. Érreaktivitási vizsgálatok

Az *első kísérletsorozatban* vizsgálataink alapja a acetylcholin, adenzin és nitroglicerín koncentrációfüggő relaxáló hatásának kimutatása az eltávolított érgyűrűn *in vitro* körülmények között.

A vizsgálatokhoz a preparátumokat a vizsgálatok megkezdéséig (a mintavételt követő 1 órán belül) oxigenizált Krebs oldatban tartottuk. A kimetszett arteria renalis felszínéről az adventitiát óvatosan eltávolítottuk. A preparálást a lehető legnagyobb gondossággal végeztük, hogy az endothel réteg sérüléseit elkerüljük.

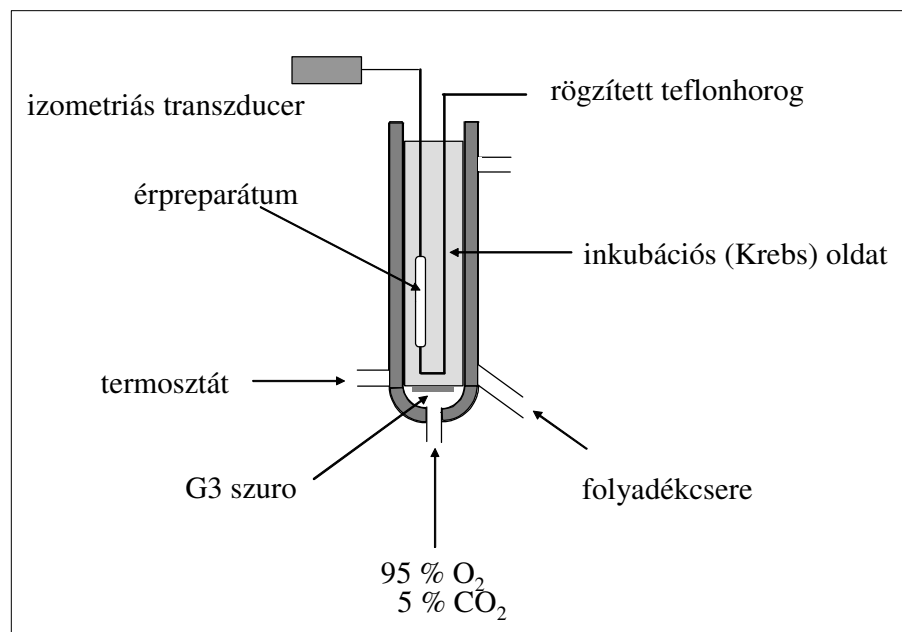
Az artériából kb. 2 mm széles csíkpreparátumot készítettünk, amelyet két kapillaritásmentes fonállal rögzítettünk és kettősfalú, vertikális elrendezésű, 37°C-on

termosztált szervkádban függesztettünk fel. A szervfürdő Krebs oldatot tartalmazott, melynek összetétele a következő volt:

NaCl	118 mM
KCl	4.7 mM
MgCl ₂	1.2 mM
CaCl ₂	2.5 mM
NaH ₂ PO ₄	1.0 mM
NaHCO ₃	24.9 mM
glükóz	11.5 mM
Na ₂ -EDTA	0.004 mM
aszcorbinsav	0.11 mM

A tápoldatot 95% O₂ és 5% CO₂ keverékkel oxigenizáltattuk, ezáltal az oldat átlagosan 7,4 pH értéket vett fel. Az egyik fonalat rozsdamentes acélhoroghoz, a másikat izometriás mechanoelektromos transzducer érzékelőjéhez rögzítettük (5. ábra).

A vascularis simaizom mechanikai változásait poligráfon regisztráltuk.



5. ábra

TF02 típusú szervfürdő vázlatos rajza (Experimetria Kft.)

Megfelelő ekvilibrációs idő elteltével noradrenalin kumulatív koncentráció hatásgörbéket vettünk fel. Az artériák 1 μM noradrenalin által előidézett prekontrakciója után növekvő (10 nmol/l-100 $\mu\text{mol/l}$) koncentrációban acetylcholin (muscarin receptor agonista) adagoltunk a Krebs oldatba, majd az egyensúlyi állapot eléréséig folyamatos átmosást végeztünk. Ezt követően a P_1 purinerg receptor aktivátor adenzint adtuk az oldathoz, melynek koncentrációja 1 $\mu\text{mol/l}$ -1mmol/l volt. Az újabb egyensúlyi állapot beállása után az 1 pmol/l-10 $\mu\text{mol/l}$ koncentrációjú nitroglicerinnel (exogén NO donor) koncentrációfüggő relaxáló hatását vizsgáltuk. Minden egyes farmakológiai kísérletünk végén kálium-kloridot juttatunk az oldatba, a dózis-hatás görbék felvétele 10 mmol/l - 120 mmol/l koncentrációtartományban történt.

A koncentráció-hatás görbéket egy iteratív, minimális négyzetes eltérés elven alapuló algoritmus segítségével illesztettük a következő egyenlettel:

$$E = \frac{E_{\max} [A]^S}{[IC_{50}]^S + [A]^S}$$

ahol E a hatás, E_{\max} a hatásmaximum, [A] az agonista koncentráció, IC_{50} a fél-maximális hatás kiváltásához szükséges koncentráció, S a görbe meredekség-paramétere (Hill koefficiens). Az IC_{50} értékeknek kiszámoltuk a negatív 10-es alapú logaritmusát (pD_2).

3.2.2. A leszorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálata

A második kísérletsorozat állatainál a 3. és 7. postoperatív napon történt mintavétel szövettani vizsgálatok céljából, 4-4 állatot bevonva egy-egy időperiódushoz tartozó vizsgálatba. Az eltávolított arteria renalis formalinban fixáltuk, paraffinba ágyaztuk, majd metszeteket készítettünk, melyeket haematoxylin-eosinnal (HE) festettünk.

3.2.3. A leszorított veseartéria apoptosiss vizsgálata

A második kísérletsorozatnál a 3. és 7. postoperatív napon az arteria renalis szövetmintákból 10%-os formaldehides fixálás és paraffinba ágyazás után 5 µm vastagságú metszeteket készítettünk.

A veseartéria falban az apoptosissal elhaló sejteket az Apoptag Plus Peroxidase, in situ apoptosis detection kit (Biomarker Ltd.) segítségével, TUNEL technikával tettük láthatóvá. A vizsgálatot a gyártó leírása szerint végeztük.

Apoptosis során a sejtmagban aktiválódó endonukleázok a DNS állomány feltördelésével okozhatják az egyik szál törését (nick). A DNS molekula 3'OH végének digoxigeninnel jelölt nukleotidokkal történő megjelölését jelenti a TdT-mediated X-dUTP nick end labeling (TUNEL) technika.

Az apoptag festéssel a barnás festődésű, apoptotikus sejtmagokat számoltuk meg látóterenként, illetve az endothelsejtsor mm-ben.

3.3. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfüziós károsodások funkcionális és morfológiai változásainak vizsgálata a vesére vonatkozóan

A második kísérletsorozat valamennyi laboratóriumi vizsgálata során a kísérleti állatok alkalmasságát felmérő vérvételek a műtétet megelőző napokban történtek. Ezt követően a műtét reggelén (alap), a reperfüzio kezdetén (R0), a reperfüzio 30., 60. és 120. percében (R30, R60, R120) illetve a műtét utáni 1., 2., 3., 5. és 7. postoperatív napokon történtek a vérvételek. A laboratóriumi vizsgálatokhoz a vérmintákat a műtétet megelőzően a vena cephalicából vettük, a műtét ideje alatt a kipreparált vena jugularis externából, majd a műtétet követő napokon ismét a vena cephalicából. A vizeletmintákat fenti időpontokban hólyagkatéterezéssel nyertük. Szövetteni mintavételek a 3. és 7. postoperatív napon történtek.

3.3.1. Rutin vesefunkciós vizsgálatok

Szérum kreatinin és szérum urea-nitrogén koncentráció meghatározása történt nátrium-citráttal alvadásgátolt vérből. A mérések kolorimetriás módszerrel történtek, Praxislab fotométer alkalmazásával (reagens: Fabio Kft, 470 nm). A szérum urea és kreatinin tartalmának változásait a műtét előtti értékekhez viszonyítottuk és relatív értékben adtuk meg.

3.3.2. Vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz meghatározása

Meghatározását a Pócsi és munkatársai¹¹⁸ által módosított Horak-féle kolorimetriás módszerrel⁵³ végeztük, VRA-GlcNAc szubsztrátot (PPR Diagnostics, London, UK) alkalmazva. Az enzimatis folyamat leállítása után a kialakult színes termék abszorbanciáját 505 nm-en mértük SPECOL-1000 spectrophotométeren (Jena-Zeiss). A NAG-áz aktivitást a reagens vakkal szemben mért abszorbancia alapján számoltuk. Az enzimürítés napszaki ingadozásának kiküszöbölése céljából a NAG aktivitás és a vizelet kreatinin hányadosát, azaz a NAG indexet (NAG_i) alkalmaztuk.

3.3.3. A veseparenchyma fénymikroszkópos szövettani vizsgálata

A második kísérletsorozatnál a szövettani vizsgálatok az egyes csoportoknál a 3. és 7. postoperatív napon történtek, 4-4 állatot bevonva egy-egy időperiódushoz tartozó vizsgálatba.

A mintavétel altatásban végzett relaparotomia során történt, melyet túlaltatással történő exterminálás követett. Az eltávolított veseszövetet 10%-os formalinban fixáltuk, paraffinba ágyztuk. A metszeteket haematoxylin-eosinnal (HE) festettük.

3.4. A veseartéria leszorítását követő szisztémás ischaemia-reperfúziós károsodások vizsgálata

3.4.1. Haematologiai paraméterek meghatározása

A vizsgálatokat Sysmex F-800 haematologiai automatával (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Japán), K₃-EDTA-val alvadásgátolt vérből végeztük. A készülék meghatározza a vörösvérsejt-, fehérvérsejt- és thrombocyta számot, a haemoglobin és haematocrit értékeket, továbbá a MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin), MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration), MPV (mean platelet volume) paramétereket és a monocyták, granulocyták, valamint a lymphocyták százalékos arányát.

3.4.2. Haemorheologiai paraméterek meghatározása

3.4.2.1. Vörösvérsejtek deformabilitásának meghatározása

A Dormándy és munkatársai által kifejlesztett St. George's Blood Filtrometer elvén működő Carat FT-1 típusú filtrometerrel (Carat Diagnostic Kft., Budapest) határoztuk meg a vörösvérsejtek deformálódási képességét.³⁰ A Na-heparinnal anticoagulált vért 10 percig centrifugáltuk (2500 g), majd a plasmát és a 'buffy coat'-ot eltávolítottuk. A sejtuszpenziót kétszer mostuk foszfát pufferben. Az utolsó centrifugálást követően a felülúszó eltávolítása után a vörösvérsejt-szuspenziót PBS-sel 5%-ra hígítottuk, majd 5 µm átlagos pórusátmérőjű polycarbonat filteren áramoltattuk át (Nuclepore[®], Whatman Inc.) állandó (negatív) áramlási nyomás mellett (4 vízcm). A folyadékoszlop haladási (filtrációs) sebessége és a vörösvérsejt-szuspenzió haematocritjának ismeretében a software meghatározza a kezdeti relatív filtrációs

sebesség (Initial Relative Filtration Rate, IRFR) és a relatív sejt-tranzitidó (Relative Cell Transit Time, RCTT) paramétereiket.

3.4.2.2. Teljes vér- és plasma viszkozitás meghatározása

A vizsgálatok a magyar fejlesztésű, klinikai laboratóriumokban is elterjedt Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel történtek (Hemorex Kft, Budapest). A vizsgálatokat nátrium-heparinnal alvadásgátolt vérből végeztük. A hazai és nemzetközi konvencióknak megfelelően a 90 s^{-1} sebesség-grádiensnél mért teljes vér viszkozitás értékeket hasonlítottuk össze. Mivel a teljes vér viszkozitás nagymértékben haematocrit-függő, ezért a vérviszkozitási adatokat 40%-os haematocritra korrigált formában is megadtuk a Mátrai és munkatársai⁸⁶ által ajánlott matematikai formula segítségével:

$$\frac{\text{TVV}_{40\%}}{\text{PV}} = \left(\frac{\text{TVV}_{\text{Htc}}}{\text{PV}} \right)^{\frac{40\%}{\text{Htc}}}$$

ahol $\text{TVV}_{40\%}$ = a 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitása; TVV_{Htc} = az adott haematocritú minta teljes vér viszkozitása; PV = a minta plasma viszkozitása; Htc = a vérminta eredeti haematocritja.

3.4.2.3. Fibrinogén koncentráció meghatározása

A plasma fibrinogén koncentrációt (Fbg, g/L) nátrium-citráttal alvadásgátolt vérből Clauss módszerén alapuló elv szerint Sysmex CA-500 automata coagulometer (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Japán) segítségével.

3.4.3. Szérum antioxidáns aktivitás meghatározása

Meghatározása Stocks és munkatársai módosított módszerével történt.¹³⁷

A bovin agyhomogenizátumhoz adott szérum gátolja az adott idő alatt végbemenő lipidperoxidációt, melyet tiobarbitursavas színreakcióval fotometriásan követünk. A képződött TBA- reaktív aldehidek (pl. malondialdehyd, MDA) mennyisége fordítva arányos a szérum antioxidáns kapacitásával. A kontroll mintához szérum helyett desztillált vizet adunk, ennek autooxidációját tekintjük 100 %-nak a kiinduláskor mért MDA-hez képest (Abs. vak).

Maradék autooxidáció (MAO) = $(\text{Abs. minta} - \text{Abs. vak}) / (\text{Abs. kontroll} - \text{Abs. vak})$

Antioxidáns aktivitás (AOA) % = $(1 - \text{MAO}) \times 100$

Az antioxidáns aktivitás értékeket a preoperatív értékhez viszonyítva adtuk meg, százalékban kifejezve (relatív antioxidáns aktivitás).

3.4.4. Plasma endothelin szint meghatározása

Az endothelin meghatározása enzimhez-kapcsolt immunoassay (ELISA, Biomedica) módszerrel történt.

A minta előkészítése során 3 ml natív vérhez 150 µl Heparint (Inj. Heparibene-Na 5000 NE/ml) és 150 µl GORDOX-ot (Trasyolol 10000 NE/ml) adtunk. Felhasználásig jég közé tettük, majd 10 percig (2500 g) centrifugáltuk.

A mintában lévő endothelin és a microtitráló plate alján lévő specifikus policlonalis antitest között antigénspecifikus kötődés jön létre. A kötődő komponens mennyisége enzimmel (peroxidáz) konjugáló második antitesttel és a megfelelő enzim-szubsztráttal (TMB –tetrametil bezidin) láthatóvá tehető és fotometriásan mérhető.

A színreakció (450 és 620 nm-en Shimadzu Spectrofotométerrel mérve) arányos a mintában lévő endothelin mennyiségével.

3.5. Statisztikai analízis

Eredményeinket átlag \pm szórás (S.D.), illetve az átlag standard hibája (M.) formában tüntettük fel. A statisztikai analízishez SigmaStat for Windows szoftvert használtunk (Jandel Scientific Co., 1992-1994., Erkrath, Németország).

A laboratóriumi paraméterek variancia analízise (ANOVA) során a csoporton belüli összehasonlításhoz Dunnett's tesztet, a csoportok közti analízishez Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk.

Az érreaktivitási vizsgálatoknál a különböző kísérleti csoportok esetében kapott hatásokat Newman-Keuls *post hoc* teszt felhasználásával hasonlítottuk össze.

A statisztikailag szignifikáns eltérést $p < 0,05$ értéknél fogadtuk el.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A veseartéria lezoritását követő ischaemia-reperfúziós károsodások funkcionális és morfológiai vizsgálatának eredményei az érfalban

4.1.1. Az érreaktivitási vizsgálatok eredményei

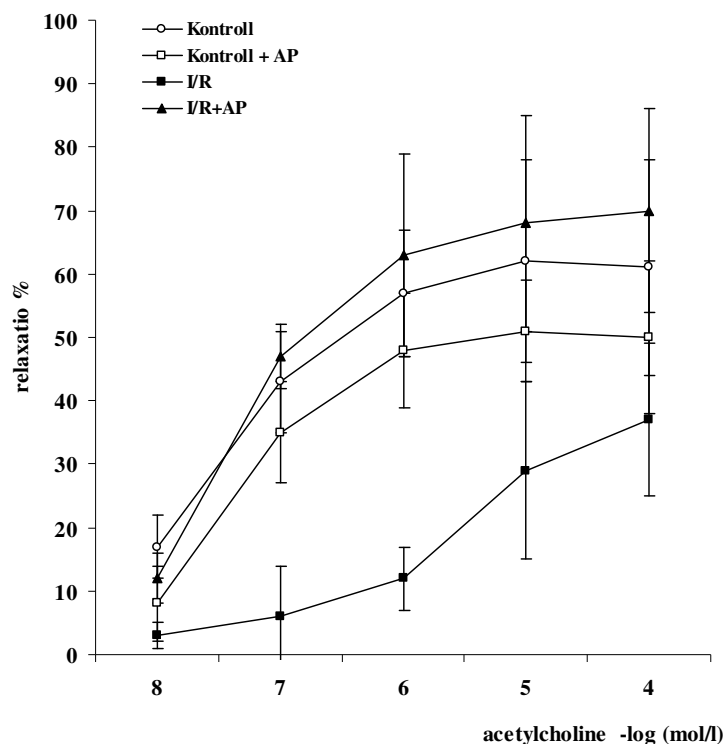
A noradrenalin koncentráció-hatás görbék értékelése alapján azt találtuk, hogy a 45 perces ischaemiát és a 60 perces reperfúziót követően az α -adrenerg receptor mediált válaszok nem károsodtak, a dózis-hatás görbék az egyes csoportok között nem mutattak szignifikáns eltéréseket. Az allopurinol az α -adrenerg receptor érzékenységet sem normoxiában, sem ischaemia/reperfúziót követően nem befolyásolta.

Az acetylcholin által kiváltott relaxáció az ér endothel funkciójának fontos markere. Az III. táblázatban az acetylcholin hatást jellemző paraméterek (E_{max} % és pD_2), a 6. ábrán a lezoritott veseartéria acetylcholin dózis-hatás görbéi láthatók.

Az acetylcholin (muscarin receptor agonista) által kiváltott relaxációra jellemző, hogy a lezoritást követően az I/R csoportban az acetylcholin érzékenység erősen csökkent -majdnem 2 nagyságrenddel az ÁL csoporthoz képest (50 ± 15 ; 70 ± 17)- ezt úgy tűnik, az allopurinol előkezelés kivédi, hiszen az allopurinollal előkezelt csoportban gyakorlatilag azonos paramétereket mértünk (75 ± 17).

III. táblázat: Az allopurinol védő hatása az acetylcholin által kiváltott relaxációra
 E_{max} : hatásmaximum; pD_2 : a félmaximális hatás kiváltásához szükséges agonista koncentráció negatív logaritmus; $p < 0,05$: * vs I/R; + vs ÁL

	E_{max} %	pD_2
AP+I/R	75 ± 15	$7.4\pm 0.1^*$
I/R	50 ± 15	$5.8\pm 0.2^+$
K+AP	48 ± 14	6.5 ± 0.3
ÁL	70 ± 17	7.1 ± 0.4



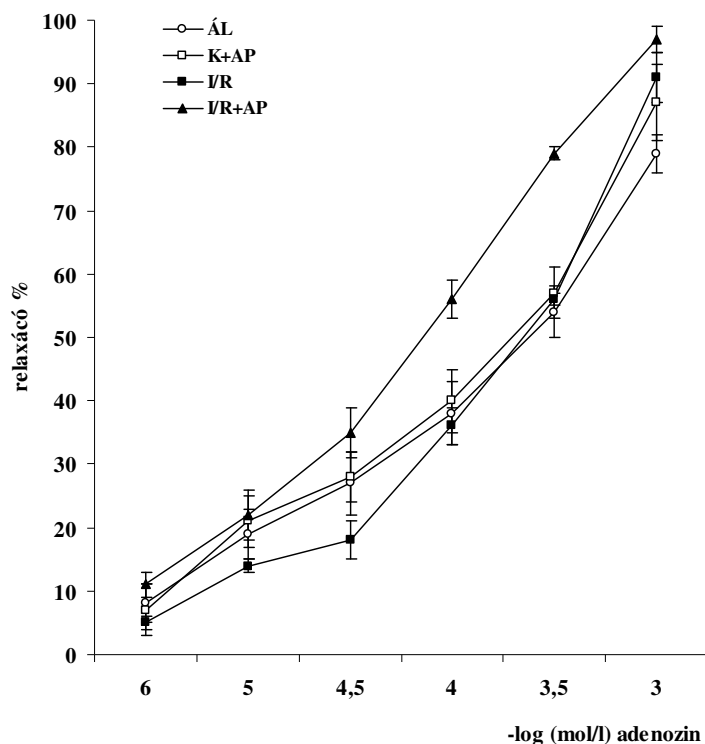
6. ábra

Az allopurinol védő hatása az acetylcholin által indukált relaxációra az érfalban 45 perces ischaemiát és 60 perces reperfuziót követően

A IV. táblázatban az adenzin hatására jellemző IC_{50} értékeket adtuk meg. Az adenzin (P_1 purinoceptor aktivátor) receptor érzékenysége nem változik szignifikánsan sem a leszorítás után, sem az allopurinol előkezelést követően az ép kontrollhoz képest, de meglepő módon a leszorítást követően az allopurinol jelentősen fokozza a P_1 purinoceptor érzékenységet (3.6 ± 0.1 ; 4.2 ± 0.1) (7. ábra). Ez egy ischaemia-specifikus jelenségnek fogható fel, azaz az allopurinol csak hypoxiában hat, normoxiában nem.

IV. táblázat: Az allopurinol kezelés potenciáló hatása az adenzin által kiváltott relaxációra IC_{50} : a prekontrakciót 50%-kal csökkentő agonista koncentráció; $p < 0,01$: * vs ÁI; + vs AP+I/R

	$-\log(IC_{50})$
AP+I/R	$4.2 \pm 0.1^*$
I/R	$3.7 \pm 0.1^+$
K+AP	$3.5 \pm 0.1^+$
ÁI	3.6 ± 0.1



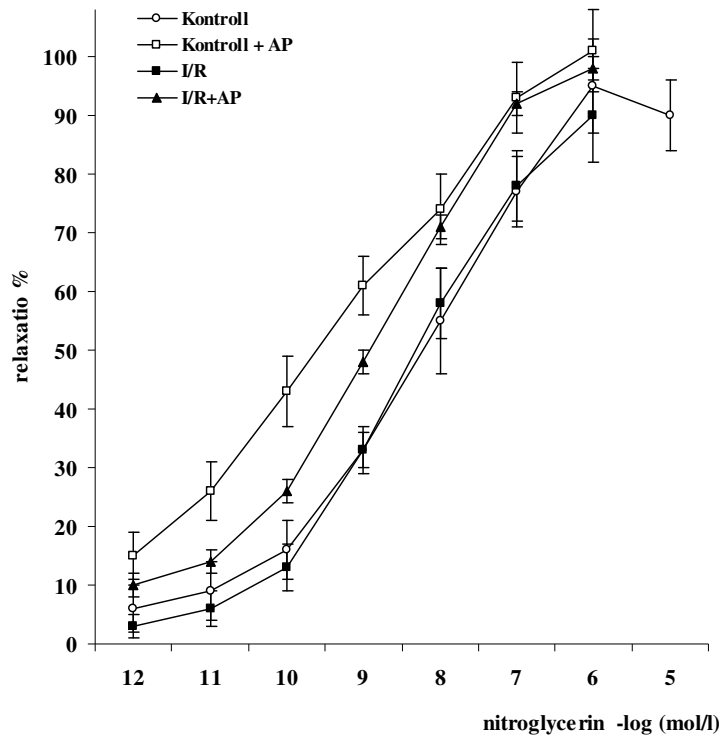
7. ábra

Az allopurinol *potenciáló* hatása az adenosin által kiváltott relaxációra az érfalban 45 perces ischaemiát és 60 perces reperfuziót követően

Az V. táblázat adatai a nitroglicerinnel indukált relaxációt jellemző adatokat mutatják. A nitroglicerinnel (exogen NO donor) indukált relaxáció esetében, ellentétben az adozinnal, az allopurinol csak normoxiás körülmények között befolyásolta a NO által kiváltott relaxációt ($4,2 \pm 0,1$). A K+AP csoport dózis-hatás görbéjének balratolódása figyelhető meg, a pD_2 értékek emelkedésével párhuzamosan (8. ábra).

V. táblázat: Az allopurinol potenciáló hatása a nitroglicerinnel indukált relaxációra E_{max} : hatásmaximum; pD_2 : a félmáximális hatás kiváltásához szükséges agonista koncentráció negatív logaritmus; * $p < 0,05$ vs Ál

	E_{max} %	pD_2
AP+I/R	107 ± 10	8.7 ± 0.2
I/R	83 ± 7	8.4 ± 0.2
K+AP	99 ± 11	$9.0 \pm 0.2^*$
Ál	93 ± 6	8.2 ± 0.2



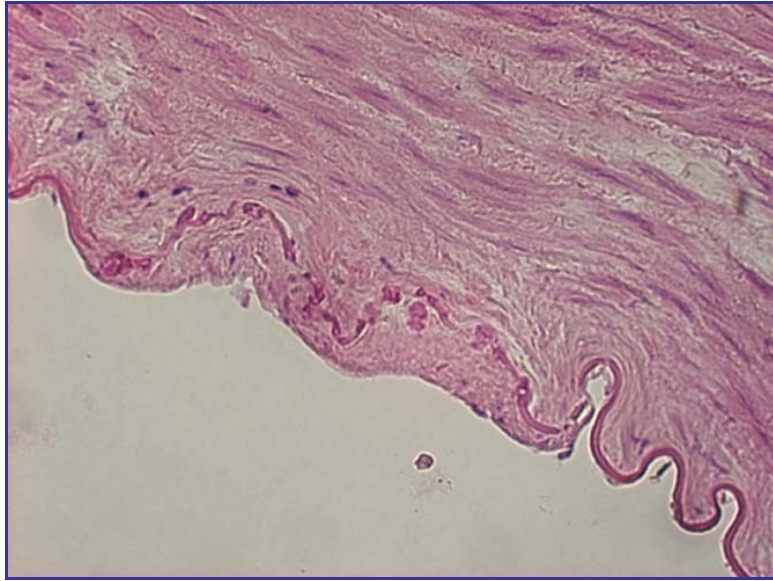
8. ábra

Az allopurinol *potenciáló* hatása a nitroglicerinnel kiváltott relaxációra az érfalban 45 perces ischaemiát és 60 perces reperfuziót követően

4.1.2. A leszorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálatának eredményei

A 3. *postoperatív* napon történt arteria renalis mintavétel során az I/R csoportban az endothelsejtek változó nagyságát, a lamina elastica és az elastica interna ellapulását, sőt helyenként megszakadását és göccs subendotheliális fibrosist (9. ábra), néhol necrosist tapasztaltunk, melyek nem, illetve enyhébb formában jelentkeztek az allopurinollal kezelt csoportban.

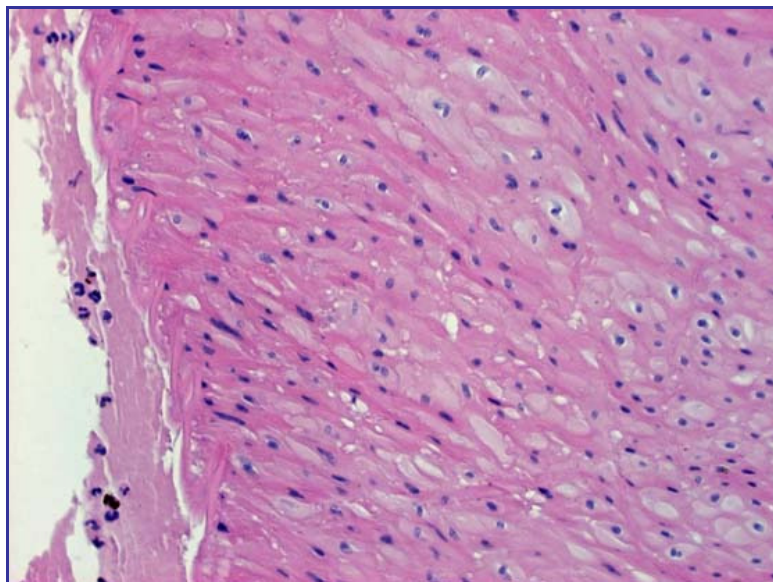
Az I/R csoport 7. *postoperatív* napon vett mintáiban leukocyta margináció (10. ábra), simaizomsejt és endothel sejt proliferáció volt látható (11. ábra), míg az AP+I/R csoportban a vizsgálatok említésre méltó változásokat nem mutattak.



9. ábra

A 45 perces lezorítást követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán a lamina elastica/elastica interna megszakadása, fragmentálódás látható subendotheliális fibrosissal a veseartériában.

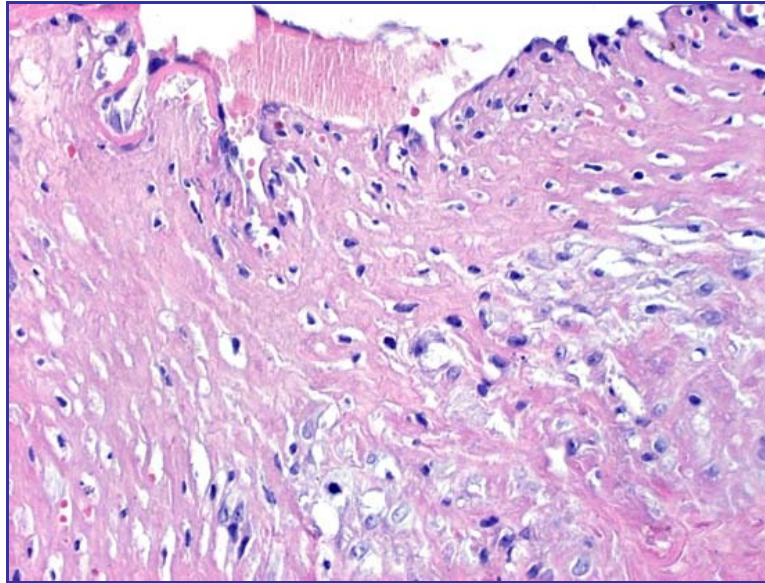
I/R csoport, 3. postoperatív nap, HE festés, N: 400x



10. ábra

A 45 perces lezorítást követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán leukocytá marginatio figyelhető meg a veseartériában.

I/R csoport, 7. postoperatív nap, HE festés, N: 400x



11. ábra

A 45 perces lezorítást követő ischaemia-reperfüziós károsodás kapcsán simaizomsejt és endothel sejt proliferáció látható a veseartériában.
I/R csoport, 7. postoperatív nap, HE festés, N: 400x

4.1.3. A lezorított veseartéria apoptózis vizsgálatának eredményei

Fiziológiás mértékű apoptózis természetesen mindig zajlik az érfalban, amely látóterenként 1-2 endothelsejt és 1-2 adventitiális mesenchymasejt apoptosisa formájában jelentkezik. Kórosnak tekinthető a simaizomsejtek és az adventitia ereinek endothelsejt apoptosisa.

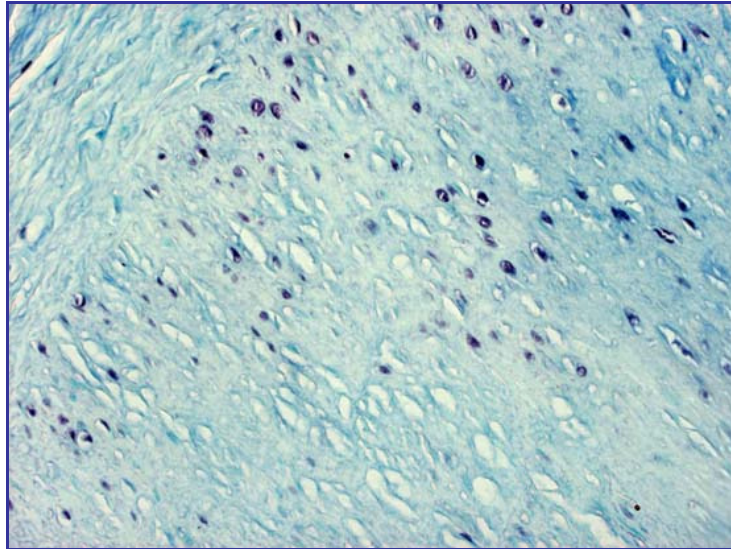
Az I/R csoportban már a 3. *postoperatív napon* megjelent látóterenként 1-2 apoptosissal elhaló simaizomsejt a mediában és néhány érendothelsejt az adventitiában (12. ábra). Az apoptotikus sejtek száma kissé nőtt a műtétet követő 7. napon, ezenkívül leukocytá margináció is megfigyelhető volt.

Az allopurinollal előkezelt I/R csoportban a 3. postoperatív napon nem észleltünk pathológiás apoptotikus választ (13. ábra), de a 7. *postoperatív napon* elszórtan láthatók voltak apoptotikus simaizomsejtek és adventitiális érendothelsejtek.

Az áloperált csoportban a metszetekben csak fiziológiás mértékű érendothelsejt és adventitiális mesenchymasejt apoptózis észlelhető.

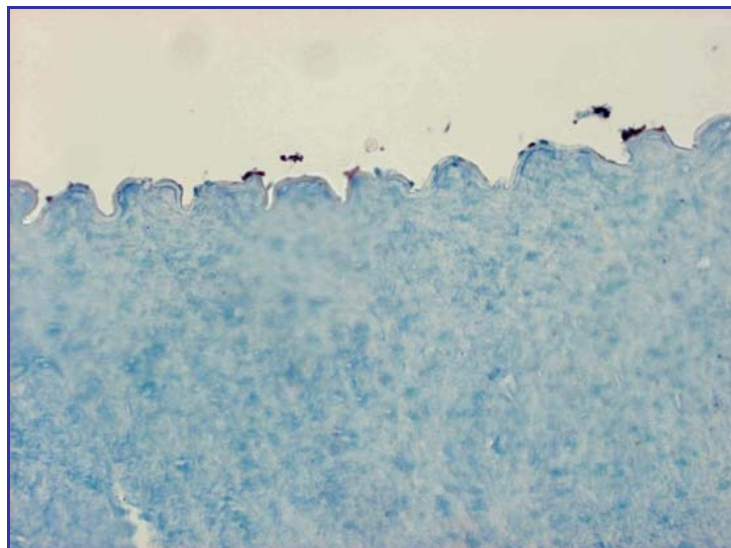
A látóterenkénti apoptotikus sejtek számában a 45 perc ischaemiás (I/R), valamint az allopurinollal előkezelt (AP+I/R) csoportot összehasonlítva a különbség szembetűnő volt a 3. *postoperativ napon* (12-13. ábra).

A 7. *postoperativ napon* nem volt jelentős különbség az I/R és AP+I/R csoport mintái közt.



12. ábra

A 45 perces leszorítást követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán a veseartéria simaizomsejtjeiben és az adventitia endothel sejtjeiben élénk apoptózis látható.
I/R csoport, 3. *postoperativ nap*; Apoptag festés, N: 400x



13. ábra

A 45 perces leszorítást követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán a veseartéria endothel sejtjeiben apoptózis látható.
AP+I/R csoport, 3. *postoperativ nap*; Apoptag festés, N: 400x

4.2. A veseartéria lezorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodások funkcionális és morfológiai változásainak változásai a vesére vonatkozóan

4.2.1. Rutin vesefunkciós vizsgálatok eredményei

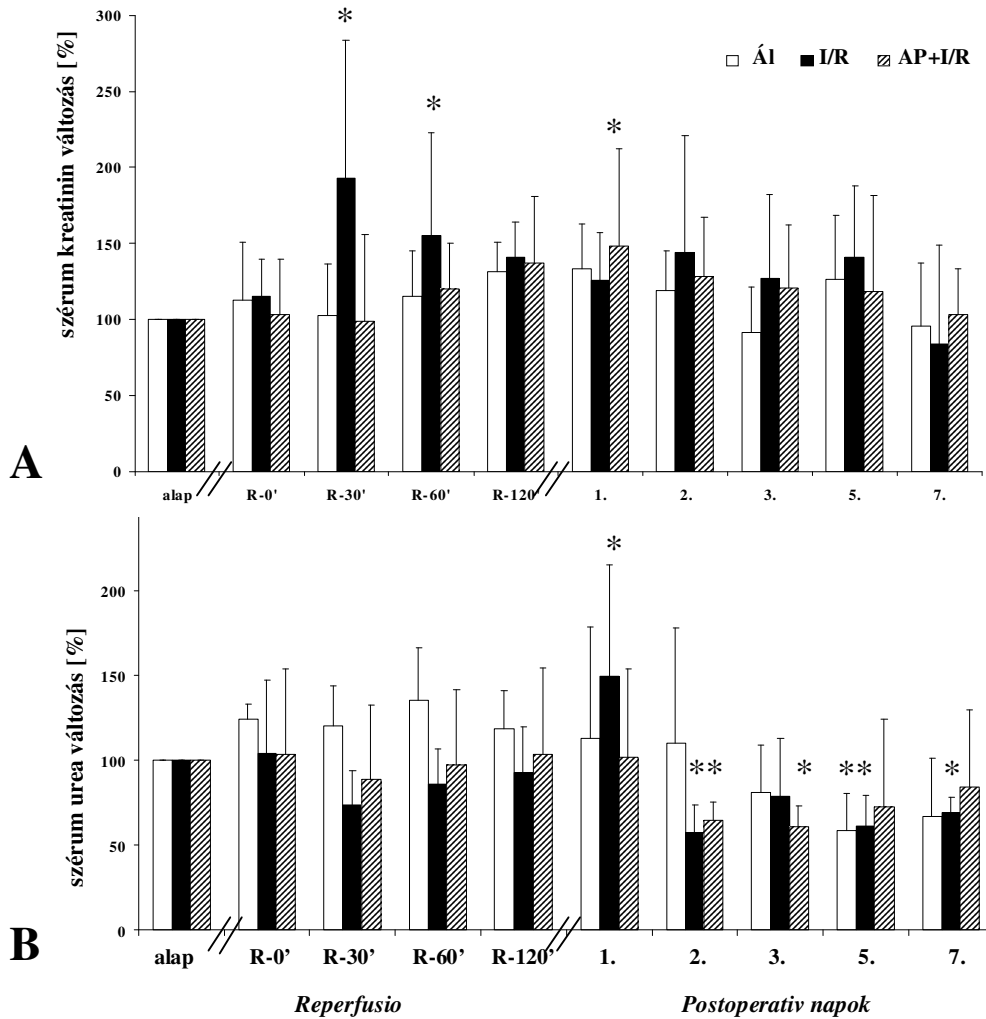
A változást a műtét előtti értékekhez viszonyítva, relatív értékben adtuk meg.

A *szérum kreatinin* értékek (14.A ábra) az I/R csoport esetében szignifikáns mértékben emelkedtek a reperfúzió 30. ($193\pm 90\%$) és a 60. percében az alapértékhez képest ($155\pm 68\%$) majd csökkenni kezdtek és egy héttel a műtétet követően visszatértek a kiindulási szintre. Az allopurinollal előkezelt (AP+I/R) csoport esetében a mért értékek a 1. postoperatív napot kivéve valamennyi vizsgált időpontban alacsonyabbak voltak a kezelés nélküli, arteria lezorításos csoportnál, gyakorlatilag megegyeztek az áloperált csoport értékeivel. A műtétet követő napon az alapértékhez képest szignifikánsan magasabb ($149\pm 64\%$) volt a szérum kreatinin szint.

Az áloperált (ÁL) csoportnál az értékek lassú, folyamatos, nem szignifikáns emelkedése mutatkozott a reperfúziót követő 1. napig, majd fokozatosan csökkenést követően a műtét után 1 héttel ismét a kiindulási értékre estek.

A *szérum urea* koncentráció (14.B ábra) az I/R csoportban a korai reperfúziós időszakban észlelhető nem szignifikáns csökkenést követően az 1. postoperatív napon szignifikáns mértékben, másfélszeresére emelkedett az alapértékhez képest ($150\pm 66\%$), majd ezt követően a műtétet követő napokon ismét csökkenő tendenciát észleltünk, a 2., 5. és 7. napon az alapértékhez képest szignifikáns mértékben. Az allopurinollal kezelt (AP+I/R) csoport esetében a korai reperfúziós időszakban és az 1. postoperatív napon a szérum urea szint az alapérték közelében maradt, a 2-3. műtét utáni napokon azonban szignifikánsan alacsonyabb szérum-urea értékeket mértünk (65 ± 11 és $61\pm 13\%$).

Az áloperált csoportnál a reperfusio megindulásától kezdve a 2. műtét utáni napig kissé magasabb szérumszintű urea értékeket mértünk, majd a 3. postoperatív naptól csökkenést figyelhetünk meg, mely az 5. napon szignifikáns volt az alapértékhez képest ($59 \pm 22\%$).



14. ábra

A szérumszintű kreatinin (A) és szérumszintű urea (B) szintjének változása a vesearteria 45 perces lezoritását követő ischaemia-reperfusió károsodás kapcsán. átlag \pm S.E.M.; * $p < 0,05$ vs alap
R-0', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 60. és 120. perce; 1., 2., 3., 5., 7. postoperatív napok

4.2.2. Vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz aktivitás változások

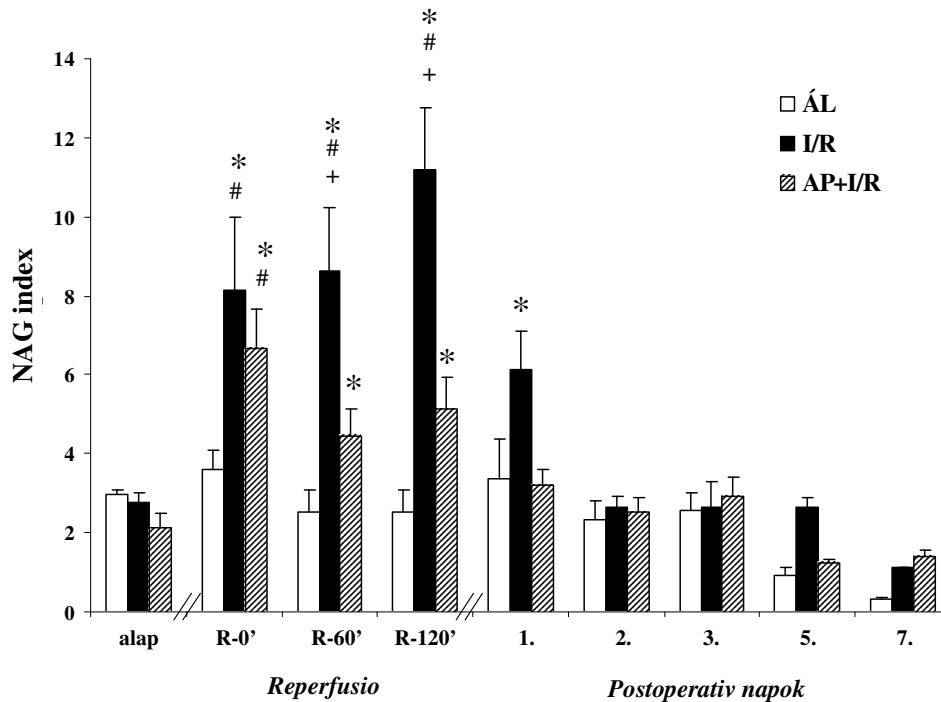
Az I/R csoport esetében jelentős NAG_i emelkedést tapasztaltunk az ischaemiás periódus végén ($8,13 \pm 1,87$), mely a reperfusio 2. órájában érte el csúcspontját ($11,19 \pm 1,56$), ezt követően csökkenni kezdett és a 2. postoperatív napon már újból az alapérték közelében volt ($2,63 \pm 0,31$), illetve a műtét utáni 5. napon az eredeti érték felére csökkent ($1,11 \pm 0,02$). Szignifikáns volt a változás ($p < 0,05$) a kezdeti NAG_i értékhez képest az arteria renalis felengedésének időpontjában, továbbá a reperfusio első és második órájában, valamint a műtét utáni első napon.

Az allopurinol előkezelésben részesült csoport (AP+I/R) állatainál hasonló tendenciát tapasztaltunk, de az emelkedés kisebb mértékű volt és maximumát a reperfusio kezdetén érte el ($6,67 \pm 0,98$). Szignifikánsan volt a változás az alapértékhez képest a reperfusio kezdetén, annak első és második órájában.

Az áloperált csoport (ÁL) állatai esetében számottevő változást nem találtunk, az alapértékhez képest szignifikáns eltérés egyik időpontban sem volt észlelhető.

Az áloperált csoporthoz viszonyítva szignifikánsan magasabb NAG_i-t találtunk az I/R csoportban a reperfusio kezdetén, annak első és második órájában, ugyanakkor az allopurinollal kezeltéknél ezt csak a reperfusio kezdetén tapasztaltuk.

Összehasonlítva az I/R csoport értékeit az allopurinollal kezelt csoportéval, a reperfusio első és második órájában az I/R csoportban szignifikánsan magasabb értékeket találtunk (15. ábra).



15. ábra

Vizelet NAG_i változása

a vesearteria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán.

átlag±S.E.M.; *p<0,05 vs alap, # p<0,05 vs Ál, + p<0,05 vs AP+I/R

R-0', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 60. és 120. perce; 1.,2.,3.,5.,7. postoperativ nap

4.2.3. Szöveti változások a veseparenchymában

A fénymikroszkópos vizsgálatok során az áloperált és az allopurinollal előkezelt (AP+I/R) csoportban nem találtunk komolyabb eltérést.

Az I/R csoport 7. postoperativ napon készült metszeteiben interstitialis fibrosist és kissé tágult corticalis tubulusokat találtunk, némelyikben szövettörmelékekkel.

Az AP+I/R csoport esetében a szövettani vizsgálatok sem a glomeruláris, sem a tubuláris rendszerben említésre méltó változásokat nem mutattak.

4.3. A veseartéria leszorítását követő szisztémás ischaemia-reperfúziós károsodások

4.3.1. Haematologiai paraméterek változásai

A VI. táblázatban a haematologiai paraméterek változásait tüntettem fel.

A vörösvérsejtek számában a 3-7. postoperatív napokon észleltünk csökkenést, legkifejezettebben az I/R csoport állatainál, itt a 7. postoperatív napon a különbség szignifikáns volt az alapértékhez képest ($4,1 \pm 1,3 \times 10^6/\mu\text{l}$ vs alap: $7,1 \pm 0,5 \times 10^6/\mu\text{l}$).

A haemoglobin szint a műtétet követő 2. naptól mutatott csökkenő tendenciát, a legalacsonyabb értékeket a 7. postoperatív napon érte el, amikor az alapértékhez képest szignifikánsan alacsonyabbnak mutatkozott mind az I/R, mind az AP+I/R csoportban ($11,1 \pm 0,4 \text{ g/l}$, illetve $11,2 \pm 1,5 \text{ g/l}$ vs alap).

A haematocrit értékek hasonló módon változtak, bár a különbség nem volt szignifikáns (18.B ábra).

Az MCV, MCH és az MCHC értékek nem változtak szignifikáns mértékben.

A thrombocyta szám a 1-3. postoperatív napokon kismértékben csökkent, majd fokozatosan visszatért az eredeti szintre. Az MPV értékek a thrombocyta számmal inverz módon alakultak, azaz a műtétet követő 1-5. napon emelkedtek, gyakorlatilag mindhárom csoport esetében hasonló, de nem szignifikáns mértékben.

A fehérvérsejt szám az 1. postoperatív napra minden csoportnál szignifikáns mértékben ($p < 0,001$) emelkedett és a 2-5. műtétet követő napokon folyamatosan szignifikáns mértékben magasabb maradt, kivéve az AP+I/R csoportot az 5. postoperatív napon.

A legmagasabb fehérvérsejt számot ($32,8 \pm 6,3 \times 10^3/\mu\text{l}$ vs alap) és a legnagyobb emelkedést az alapértékhez képest (150% az 1. napon) az I/R csoportban tapasztaltuk.

VI. táblázat: Haematologiai paraméterek változása a veseartéria 45 perces leztorítását követő ischaemia-reperfüziós károsodás kapcsán

Vizsgált paraméter	Csoport	Alap	Reperfusio ideje (perc)				Postoperativ napok				
			R-0'	R-30'	R-60'	R-120'	1.	2.	3.	5.	7.
Vvs [*10 ⁶ /μl]	ÁL	6,9 ± 0,7	6,8 ± 0,9	6,6 ± 1,1	6,9 ± 0,9	7,0 ± 1,1	7,7 ± 1,3	6,3 ± 0,8	6,2 ± 1,0	5,6 ± 0,6	5,4 ± 1,4
	I/R	7,1 ± 0,5	6,8 ± 0,6	7,0 ± 0,8	7,4 ± 1,1	7,4 ± 0,5	7,6 ± 0,9	7,1 ± 0,7	6,7 ± 0,7	5,5 ± 1,2	4,1 ± 1,3*
	AP+I/R	6,7 ± 0,7	6,2 ± 1,1	6,7 ± 1,1	6,3 ± 1,0	6,6 ± 1,3	6,2 ± 0,5	6,9 ± 1,3	5,6 ± 0,4	5,6 ± 0,4	5,6 ± 0,2
Hgb [g/dl]	ÁL	14,1 ± 1,1	14,1 ± 1,5	14,5 ± 2,2	14,4 ± 2,1	15,1 ± 1,9	15,5 ± 1,6	13,6 ± 1,6	13,5 ± 1,5	12,0 ± 1,0	11,7 ± 1,3
	I/R	14,5 ± 0,6	13,9 ± 0,9	14,3 ± 0,9	14,2 ± 0,7	14,7 ± 0,9	15,3 ± 1,1	14,6 ± 1,4	13,6 ± 1,4	12,2 ± 1,6*	11,1 ± 0,4*
	AP+I/R	13,7 ± 0,9	12,7 ± 1,2	12,9 ± 0,8	12,9 ± 1,1	12,9 ± 1,4	13,4 ± 1,0	12,7 ± 1,1	12,0 ± 0,8*	11,0 ± 0,5*	11,2 ± 1,5*
MCV [fl]	ÁL	72,3 ± 3,4	72,1 ± 2,7	71,7 ± 2,6	71,9 ± 2,8	72,3 ± 4,5	72,4 ± 2,9	70,7 ± 2,6	68,4 ± 3,0	72,2 ± 5,6	68,8 ± 3,3
	I/R	71,6 ± 3,3	71,4 ± 2,7	70,9 ± 2,9	71,5 ± 2,5	72,3 ± 2,7	71,5 ± 2,9	70,7 ± 2,9	70,6 ± 2,4	70,0 ± 5,1	70,1 ± 2,2
	AP+I/R	72,6 ± 2,4	72,8 ± 2,7	72,8 ± 2,8	72,9 ± 2,9	73,5 ± 2,2	73,6 ± 2,6	70,9 ± 2,2	70,3 ± 1,5	71,6 ± 4,5	69,9 ± 1,6
MCH [pg]	ÁL	20,7 ± 1,5	20,9 ± 1,1	21,4 ± 1,1	20,8 ± 0,7	21,3 ± 1,3	21,5 ± 1,3	21,7 ± 0,7	21,4 ± 0,4	21,4 ± 1,1	20,3 ± 1,5
	I/R	20,9 ± 1,2	20,4 ± 0,9	20,6 ± 1,4	21,4 ± 1,4	20,7 ± 0,7	21,2 ± 1,4	21,4 ± 0,8	21,0 ± 0,9	20,9 ± 0,8	20,2 ± 1,8
	AP+I/R	20,9 ± 1,6	20,7 ± 1,7	21,1 ± 1,4	20,4 ± 1,8	21,2 ± 1,5	21,3 ± 1,3	20,9 ± 0,8	21,2 ± 1,3	20,3 ± 2,6	20,5 ± 1,5
MCHC [g/dl]	ÁL	28,7 ± 2,6	29,0 ± 1,9	29,9 ± 1,3	29,0 ± 1,5	29,0 ± 1,6	29,6 ± 1,7	29,4 ± 2,9	29,8 ± 2,7	29,7 ± 1,6	29,5 ± 1,7
	I/R	29,2 ± 1,4	28,6 ± 1,7	29,1 ± 1,9	28,2 ± 3,6	28,1 ± 2,3	29,6 ± 1,4	30,3 ± 1,4	28,9 ± 2,4	30,0 ± 2,0	27,7 ± 2,7
	AP+I/R	28,8 ± 2,1	28,4 ± 1,6	27,8 ± 3,5	27,9 ± 1,5	28,2 ± 2,6	28,9 ± 1,5	27,2 ± 3,4	30,2 ± 1,4	28,4 ± 2,0	29,2 ± 1,6
Thr [*10 ³ /μl]	ÁL	294 ± 98	297 ± 52	257 ± 80	281 ± 84	281 ± 67	270 ± 71	267 ± 78	254 ± 100	294 ± 67	246 ± 93
	I/R	313 ± 67	356 ± 110	284 ± 129	337 ± 48	305 ± 129	326 ± 113	281 ± 87	246 ± 95	301 ± 126	364 ± 101
	AP+I/R	308 ± 73	278 ± 39	284 ± 105	307 ± 43	304 ± 53	296 ± 116	285 ± 61	258 ± 83	297 ± 73	319 ± 127
MPV [fl]	ÁL	10,8±0,71	11,1±0,4	11,1±0,52	11,3±0,4	11,3±0,5	11,4±0,9	11,4±1,2	11,2±1,2	11,1±1,2	10,3±1,5
	I/R	10,8±0,9	11,2±0,8	10,9±0,9	11,3±0,6	11,1±0,9	11,0±1,2	11,0±0,9	11,3±0,8	11,4±0,7	11,6±0,7
	AP+I/R	10,6±1,4	11,0±0,9	11,1±1,0	11,8±0,9	11,6±0,9	11,2±0,8	11,5±0,8	12,0±0,3	11,5±0,7	10,7±0,1
Fvs [*10 ³ /μl]	ÁL	13,5 ± 2,8	13,4 ± 2,4	14,3 ± 1,8	15,2 ± 1,5	16,6 ± 2,0	24,8 ± 4,3*	24,4 ± 2,5*	22,9 ± 4,4*	19,9 ± 0,7*	14,9 ± 1,6
	I/R	13,3 ± 3,1	14,0 ± 3,8	13,1 ± 2,6	13,3 ± 2,4	15,7 ± 5,8	32,8 ± 6,3*	28,2 ± 6,4*	28,6 ± 6,3*	24,6 ± 4,3*	16,8 ± 5,6
	AP+I/R	12,6 ± 3,1	13,8 ± 2,6	12,6 ± 1,6	14,5 ± 1,7	16,0 ± 4,9	30,5 ± 5,0*	23,7 ± 3,5*	25,6 ± 5,8*	18,0 ± 2,3	18,4 ± 5,2

*p<0,05 vs. saját alap

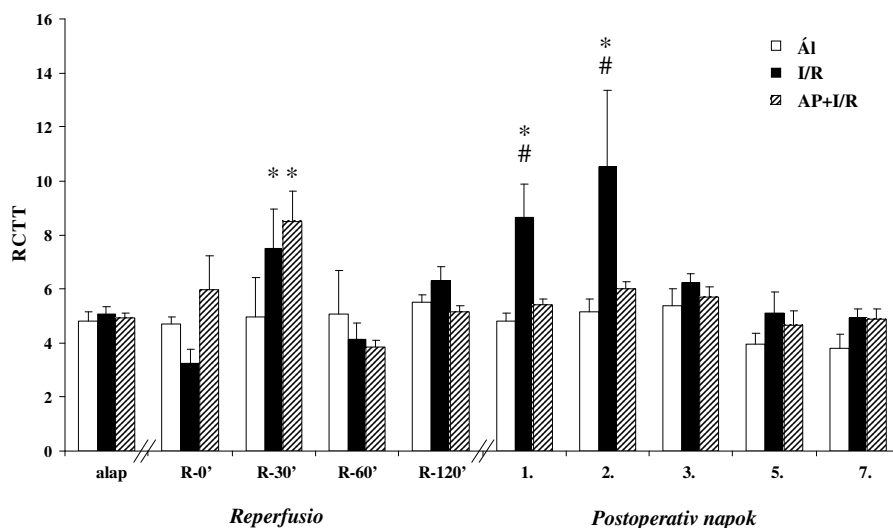
Vvs=vörösvérsejt szám, Hgb=haemoglobin szint, MCV=mean corpuscular volume (átlagos vörösvérsejt térfogat),
MCH=mean corpuscular haemoglobin (átlagos vörösvérsejt Hgb tartalom), MCHC=mean corpuscular haemoglobin concentration (átlagos vörösvérsejt Hgb koncentráció),
Thr=thrombocyták száma, MPV=mean platelet volume (átlagos thrombocyták térfogat), Fvs=fehérvérsejt szám

4.3.2. Haemorheologiai paraméterek változásai

4.3.2.1. Vörösvérsejtek deformabilitásának változásai

A Relative Cell Transit Time (RCTT) értékek alakulását az idő függvényében a 16. ábra mutatja. A műtét előtt mért alapértékek közel azonosak voltak a kísérleti csoportokban, míg a reperfusio 30. percében az I/R és az AP+I/R csoportnál szignifikánsan magasabb ($7,51 \pm 1,75$ és $8,51 \pm 1,12$; $p=0,015$ illetve $p<0,001$) értékeket találtunk az alaphoz viszonyítva. A reperfusio következő másfél órájában az emelkedett RCTT értékek visszatértek a preoperatív szint közelébe, majd az AP+I/R csoportnál a 1-3. postoperatív napon mutatózó enyhe, folyamatos, de nem szignifikáns emelkedést követően a 7. postoperatív napra ismét a műtét előtti szintre csökkentek. Az I/R csoportban szignifikáns emelkedést követően maximális értéküket a műtétet követő 2. napon érték el. Az 1. és a 2. postoperatív napon (1. nap: $8,66 \pm 1,21$; 2. nap: $10,5 \pm 2,83$) a különbség szignifikánsnak mutatkozott az alapértékekkel ($p=0,015$ illetve $p=0,011$), az áloperált csoporttal ($p=0,001$ és $p=0,002$), valamint az allopurinollal előkezelt csoporttal ($p=0,019$ és $p<0,001$) összehasonlítva. A 3-7. postoperatív napokon a műtét előttihez hasonló értékeket tapasztaltunk mindegyik csoportnál, kivéve egy enyhe, nem szignifikáns csökkenést az áloperált csoport esetében az 5. és 7. postoperatív napon.

A 17. ábra az Initial Relative Filtration Rate (IRFR) adatokat mutatja a három kísérleti csoport esetében. Látható, hogy a reperfusio kezdetén az IRFR szignifikánsan alacsonyabb volt az alaphoz képest az AP+I/R csoport esetében ($p=0,006$), míg a reperfusio 30. percében az I/R és az AP+I/R csoport értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak az alapértékeknél ($p<0,001$ mindkét esetben). Az 1. és 2. postoperatív napokon az IRFR értékek kismértékű, nem szignifikáns csökkenése látható, amely az RCTT értékek esetében nem volt észlelhető.



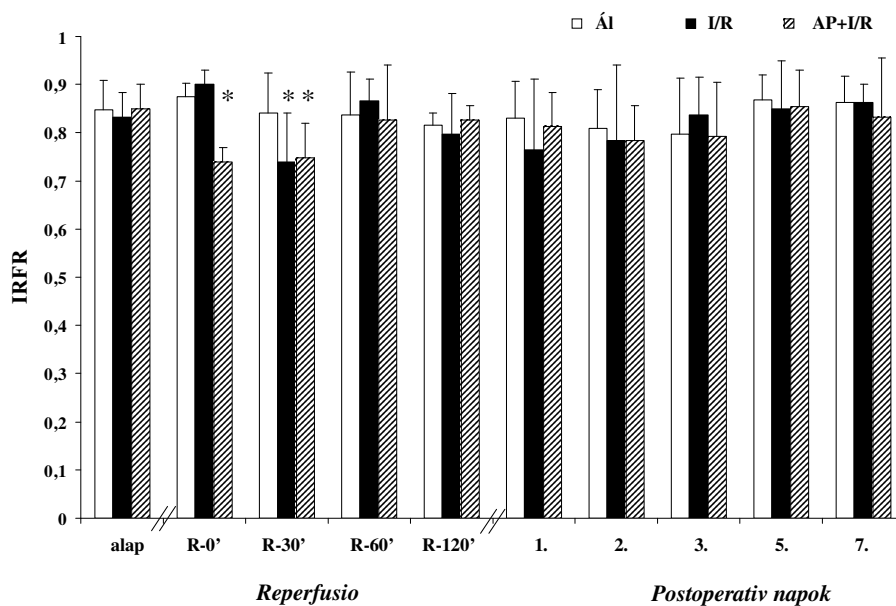
16. ábra

RCTT értékek változása

a veseartéria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán.

átlag±S.E.M.; *p<0,05 vs alap, # p<0,05 vs ÁI és AP+I/R

R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perc; 1.,2.,3.,5.,7. postoperativ nap



17. ábra

IRFR értékek változása

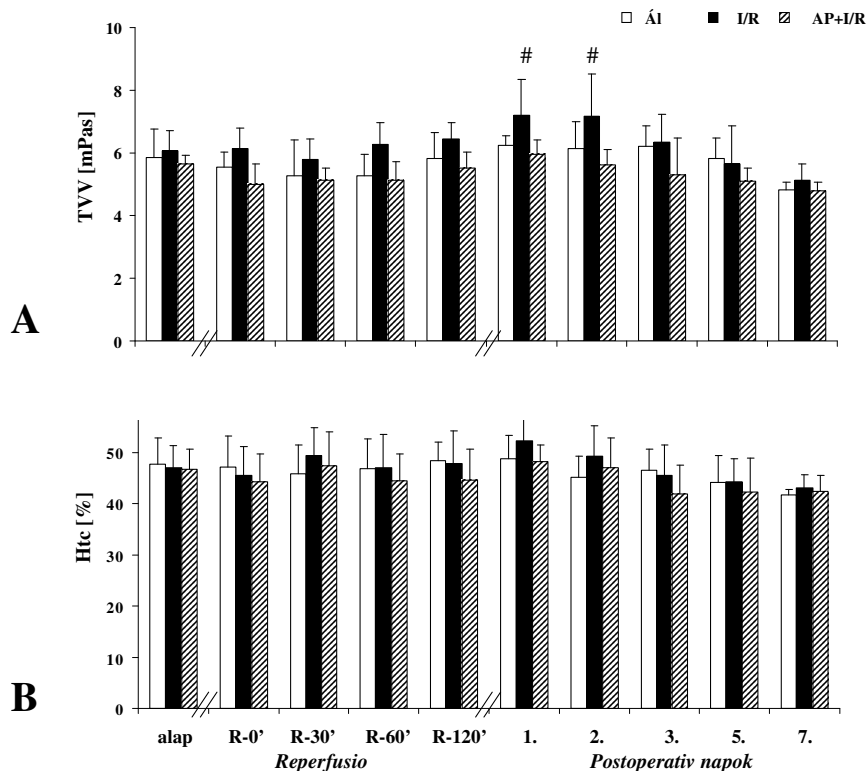
a veseartéria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán.

átlag±S.D.; *p<0,05 vs alap

R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perc; 1.,2.,3.,5.,7. postoperativ nap

4.3.2.2. Teljes vér- és plasma viszkozitás változások

A 90 s^{-1} nyírófeszültségnél mért teljes vér viszkozitás a reperfusio ideje alatt kismértékben emelkedő tendenciát mutatott és az I/R csoport esetében szignifikánsan magasabb maradt az első két postoperatív napon az AP+I/R csoporthoz viszonyítva ($7,21 \pm 1,13 \text{ mPas}$, $p=0,033$; illetve $7,17 \pm 1,33 \text{ mPas}$, $p=0,036$). A 3-7. műtét utáni napokon a teljes vér viszkozitás értékek valamennyi csoport esetében mérsékelten, bár nem szignifikáns mértékben csökkentek (18.A ábra), amelyet a haematocrit értékek hasonló változása kísért (18.B ábra). A 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás értékek (19. ábra), és a plasma viszkozitás értékek (20. ábra) enyhén, nem szignifikáns mértékben emelkedtek az 1-7. postoperatív napokon.

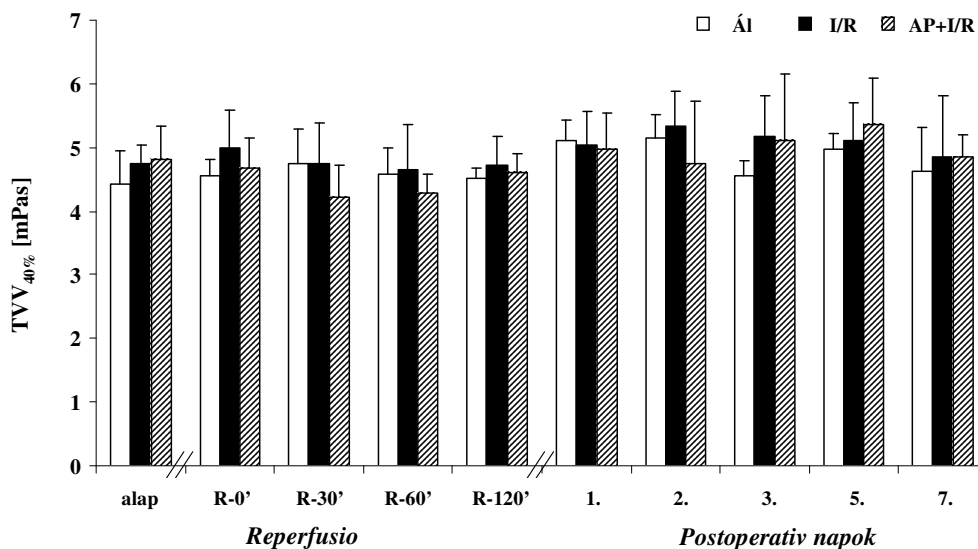


18. ábra

Teljes vér viszkozitás (A) és a haematocrit (B) változása a veseartéria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfusiós károsodás kapcsán.

átlag±S.D.; # $p<0,05$ vs AP+I/R

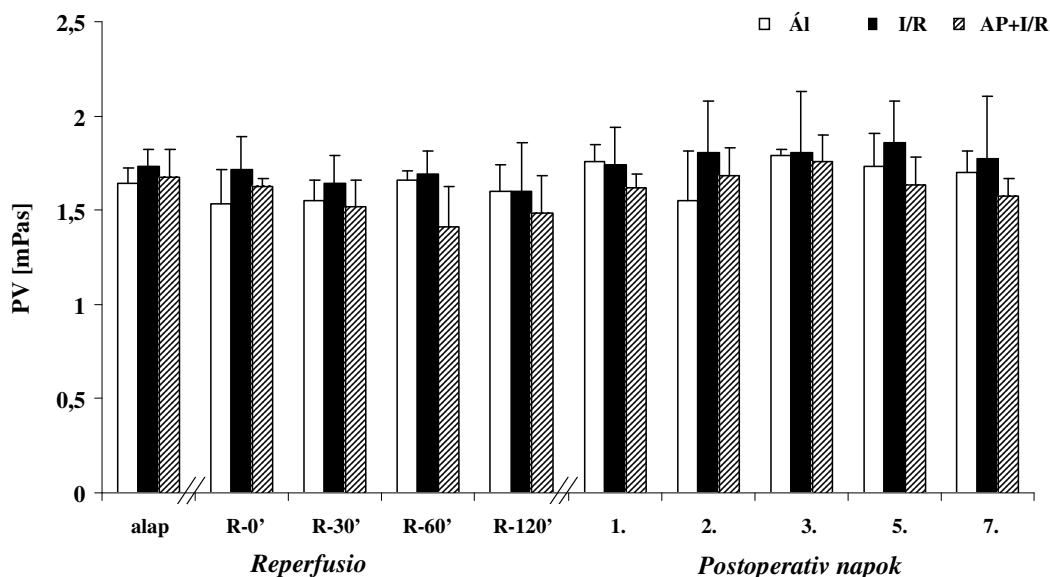
R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1.,2.,3.,5.,7. postoperatív nap



19. ábra

A 40%-os haematocritra korigált teljes vér viszkozitás értékek változása a veseartéria 45 perces leztorítását követő ischaemia-reperfusiós károsodás kapcsán. átlag±S.D.

R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1.,2.,3.,5.,7. postoperatív nap



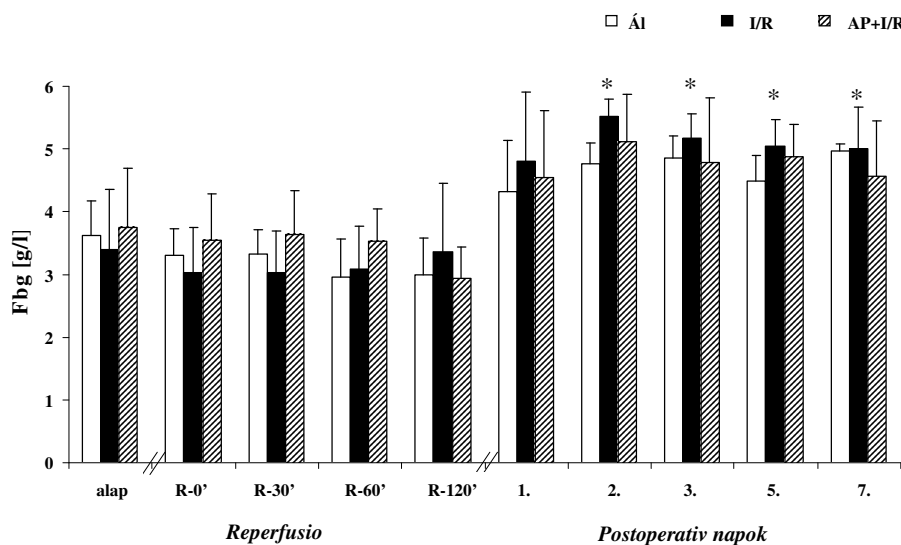
20. ábra

A plasma viszkozitás változása a veseartéria 45 perces leztorítását követő ischaemia-reperfusiós károsodás kapcsán. átlag±S.D.

R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1.,2.,3.,5.,7. postoperatív nap

4.3.2.3. Fibrinogén koncentráció változások

A fibrinogén koncentráció meghatározásakor a legmagasabb értékeket mindhárom csoportnál az 1. postoperatív napon kaptuk, mely az I/R csoport esetében tartósan, szignifikáns mértékben magasabb maradt a 2-7. műtét utáni napokon ($p < 0,002$) az alapértékekhez képest (21. ábra).



21. ábra

Plasma fibrinogén szintjének változása
a vesearteria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán.
átlag \pm S.D.; * $p < 0,05$ vs alap
R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1., 2., 3., 5., 7. postoperatív nap

4.3.3. Szérum antioxidáns aktivitás változások

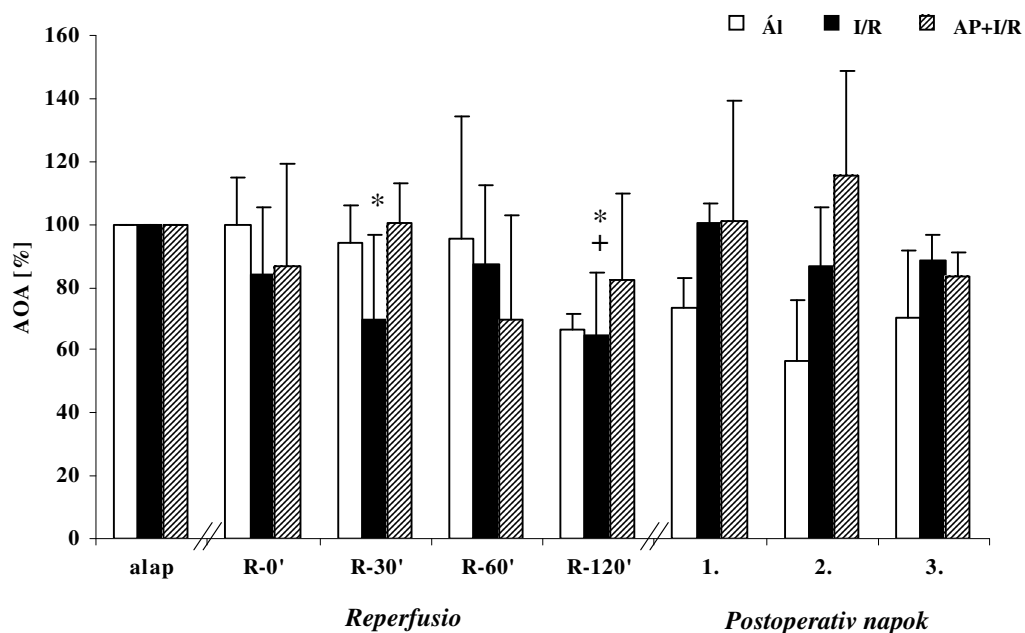
Az antioxidáns aktivitás változását a műtét előtti értékhez viszonyítva adtuk meg, annak százalékában kifejezve (22. ábra).

Az ischaemia-reperfúziós (I/R) csoport esetében az antioxidáns aktivitás a műtét előtti értékhez képest szignifikánsan alacsonyabb volt a reperfusio 30. ($69 \pm 27\%$ vs 10%) és

120. percében ($65\pm 20\%$ vs 100%), ezt követően átmeneti, nem szignifikáns emelkedést követően a 3. postoperatív napra megközelítette az eredeti értéket. A reperfusio 120. percében az allopurinollal kezelt csoporthoz viszonyítva szignifikánsan kisebb volt az antioxidáns aktivitás (83 ± 25 vs $65\pm 20\%$).

Az allopurinollal kezelt ischaemia-reperfusió csoport (AP+I/R) esetében a reperfusio 120. percében az antioxidáns aktivitás az eredeti szint kb. 70%-ára csökkent, de az 5. postoperatív napra gyakorlatilag visszaért a beavatkozás előtti szintre. A műtét előtt mért értékekhez képest szignifikáns eltérés nem volt.

Az áloperált (ÁL) csoportban nem volt szignifikáns változás. Az antioxidáns aktivitás csökkenése minimális volt és a 7. postoperatív napra visszatért a műtét előtti szintre.

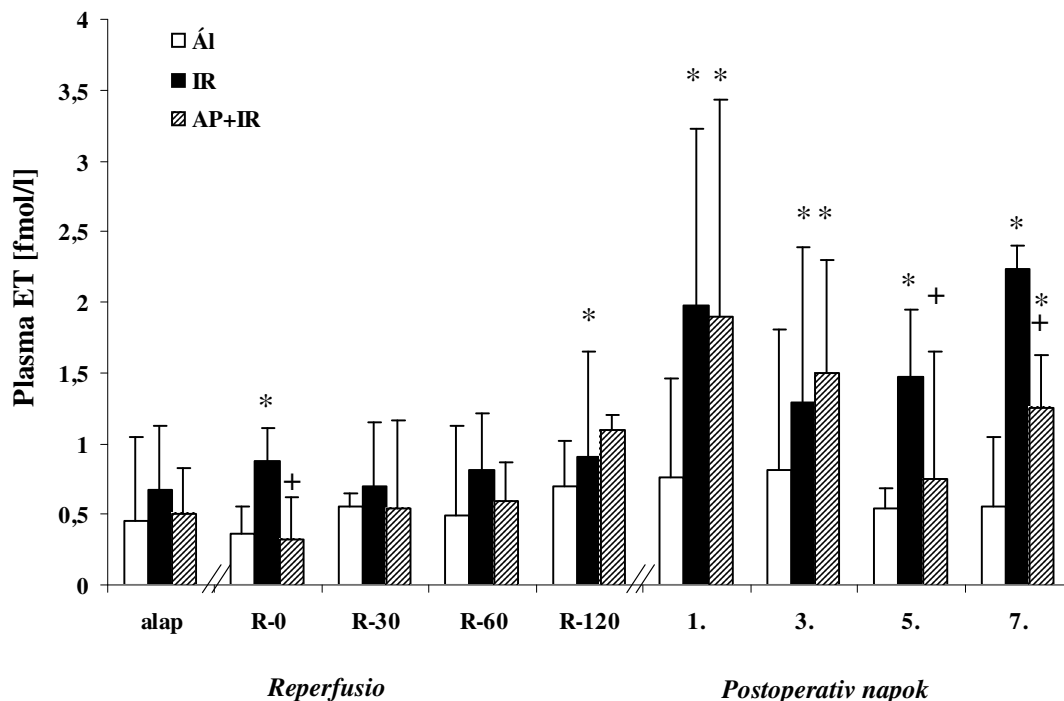


22. ábra

Szérum relatív antioxidáns aktivitás változása
a vesearteria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfusió károsodás kapcsán.
átlag±S.E.M.; * $p < 0,05$ vs. alap, + $p < 0,05$ vs. AP+I/R
R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1., 2., 3. postoperatív nap

4.3.4. Plasma endothelin szint változások

Az áloperált csoportnál nem tapasztaltunk szignifikáns változást a plasma endothelin szintben. Az I/R csoportban a plasma endothelin szint a reperfusio kezdetén szignifikánsan magasabb volt az Ál és az AP+I/R csoportok adataihoz hasonlítva ($0,88 \pm 0,23$ vs $0,45 \pm 0,6$ és vs $0,32 \pm 0,3$). Az 1. postoperatív napon mindkét ischaemiás csoportban a műtét előtti értékhez viszonyítva szignifikánsan magasabb plasma endothelin szintet mértünk (I/R: $1,98 \pm 1,24$ vs $0,67 \pm 0,45$; AP+I/R: $1,9 \pm 1,53$ vs $0,5 \pm 0,32$), mely az I/R csoportban végig, az AP+I/R csoportban az 5. postoperatív napot kivéve, szignifikánsan magasabb maradt az alapértékhez képest. Az 5. és 7. postoperatív napon az AP+I/R csoport plasma endothelin szint szignifikánsan alacsonyabb volt az I/R csoporthoz képest ($0,75 \pm 0,9$ vs $1,47 \pm 0,48$ illetve $1,25 \pm 0,38$ vs $2,23 \pm 0,17$) (23. ábra).



23. ábra

A plasma endothelin-1 szintjének változása
a veseartéria 45 perces leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodás kapcsán.
átlag±S.E.M.; *p<0,05 vs alap, + p<0,05 vs I/R
R-0', R-30', R-60', R-120': reperfusio kezdete, 30., 60. és 120. perce; 1., 3., 5., 7. postoperatív nap

5. MEGBESZÉLÉS

Kísérleteink tanúsága szerint a vese ischaemia-reperfusio nemcsak *veseszövet* károsodást okoz, hanem jelentős *szisztémás következményekkel* is járhat. Ennek jeleként nemcsak a vesefunkció beszűkülése figyelhető meg, hanem a szisztémás paraméterek közül egyes haemorheológiai paraméterek romlása, úgymint a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenése is bekövetkezik. Ezen túlmenően vasoconstrictor mediátorok -köztük endothelin- fokozott felszabadulása is kimutatható, mely változások egymással összeadódva akár a szervezet egészének funkciójára is hatással lehetnek.

Fontos megfigyelésünk továbbá, hogy magában az átmenetileg *leszorított veseartériában* is generálódnak olyan elváltozások, melyek révén csökken a dilatator anyagok hatása, mely magában rejti annak további lehetőségét is, hogy a vese szintjén a vasoreguláció egyensúlya eltolódik a vasoconstrictio felé. Ez egyben felveti annak lehetőségét, hogy a reperfusio során nem történik meg az érintett oldali szerv tökéletes folyamatos reoxigenizációja.

A jelen modellünkben észlelt fenti elváltozások egy része kedvezően befolyásolható volt xantin-oxidáz gátló allopurinol előkezeléssel, mely indirekt módon arra enged következtetni, hogy a folyamatok háttérében legalább részben xantin-dehidrogenáz/xantin oxidáz pathophysiológias aktivációja állhat.

Ami kutatási modellünket illeti, egyes szerzők azáltal kívánták a vizsgálatok specificitását növelni, hogy az egyik vese ischaemiáját kombinálták az ellenoldali vese eltávolításával.¹⁵⁹ Az általunk alkalmazott modellnél érintetlenül hagyjuk az ellenoldali vesét, hasonlóan sok más szerzőhöz.^{52, 83, 150} Eredményeink szerint tehát az egyik oldali vese ischaemia-reperfusioja mellett is generálódnak olyan elváltozások, melyek nemcsak az

érintett oldali vesében, az azt ellátó artériában, hanem szisztémásan is okoznak kóros elváltozásokat.

Modellünkben a több munkacsoport által is alkalmazott 45 perces ischaemiás időtartamot választottuk.^{3,5,13,65} A xantin-dehidrogenáz/xantin oxidáz konverzióhoz szükséges idő szervenként különbözik, vese esetében körülbelül 30 percre tehető.^{88, 158} Ezért célszerű ennél hosszabb időtartamot választani.

Irodalmi adatok szerint 75 illetve 90 perces veseartéria leszorítás esetén a veseelégtelenség miatti halálozás kutyák esetében már igen magas. Weight és munkatársai patkány modellen többféle -15, 30, 45 és 60 perces- ischaemiás időtartamot alkalmazva úgy találták, hogy a 45 perc már szignifikáns, de még reverzibilis változást idézett elő a vizsgált paraméterekben.¹⁵⁹

Az általunk vizsgált *allopurinolt* többen is alkalmazták az ischaemia-reperfúziós károsodások kivédésére. Hatása sok tényező függvénye, így függ az alkalmazás módjától (per os, intravenás, intraperitoneális), a dózistól (vesemodellben általában 50-100 mg/ttkg), az ischaemiás szövet/szerv típusától, az ischaemia időtartamától és a hőmérséklettől (hideg vagy meleg ischaemia), az alkalmazás idejétől (ischaemiát megelőzően vagy azt követően) és végül a kísérleteknél alkalmazott állatfajtól. Southard és munkatársai azt találták, hogy bár a xantin-oxidáz aktivitás magasabb patkányban, mint kutyában vagy embernél, de a szuperoxid-dizmutáz és xantin-oxidáz arány (SOD:XO) majdnem 26-szor nagyobb kutyában és 40-szer magasabb embernél, mint patkányok esetében,¹³⁵ ezért a kutya is alkalmas modell lehet a kutatások során.

Hatásmechanizmusának két fő hipotézise van. Egyik szerint a hypoxia ideje alatti purin nukleotid vesztés megakadályozása révén nyújt védelmet az ischaemiás károsodással szemben. Ezt alátámasztotta az a megfigyelés, hogy allopurinol előkezelés szignifikáns

módon javította a túlélési arányt és a postoperatív vesefunkciót azokban az állatokban, melyek 40-120 perc vese-ischaemiának voltak kitéve.⁵

Időleges coronaria leszorítás során csökkentette az infarctus kiterjedését, mérsékelte a szívizom kontraktilitásának romlását és az arrythmiák kialakulásának gyakoriságát. Ezt a hipotézist igazolta az a felfedezés is, hogy patkány modellben csökkent a purin nukleotidok (ATP, ADP, AMP) koncentrációja 1 órás ischaemiát követően, mely allopurinol előkezelés alkalmazásával kivédhető volt.^{5, 109}

A másik hipotézis a reaktív oxigén intermedierek szerepére fókuszál, oki szerepüket feltételezve az ischaemia-reperfüziós károsodás pathophysiologiájában.

McCord szerint a toxikus oxigén metabolitok legnagyobb részben a korábban ischaemiás szövetek reperfüziója során keletkeznek, xantin-oxidáz-dependens folyamatok során. Az ischaemia a sejtek ATP tartalmának csökkenését okozza, amely hipoxantin-xantin, xantin-húgysav átalakuláson megy keresztül, amelyet a xantin-oxidáz katalizál. Normális körülmények között a szövetekben az enzim közel 90%-a xantin-dehidrogenáz formájában van jelen. Ischaemia során a xantin-dehidrogenáz xantin-oxidázzá konvertálódik -a folyamat kalcium és proteáz-dependens-, amely a reperfüzió során megjelenő oxigént használja elektron-akceptorként és szuperoxid aniont generál.^{42, 88}

Azok a kutatások, melyek során kimutatták, hogy xantin-oxidáz gátlók és gyökfogók alkalmazásával az ischaemia-reperfüziós károsodások mérsékelhetők, igazolták az XD-XO konverzió során keletkező szabadgyökök szerepét,^{23, 48, 110} ugyanakkor mások szerint nem a xantin-oxidáz rendszer a szabadgyökök fő forrása,^{38, 58, 60, 90} hanem a mitochondrialis elektrontranszport lánc,⁷² a citochrom P-450 enzimek,³⁶ a neutrophil sejtekben a NADPH-oxidázok,⁷⁴ a dysfunctionáló NOS.¹⁴⁷

A szabadgyökök támadáspontja elsődlegesen a sejtmembrán. A vesében az ischaemia-reperfüziós sejt-károsodást -legalábbis részben- a sejtmembránban található többszörösen

telítetlen zsírsavak és foszfolipidek lipidperoxidációja okozza, mely mitochondriális dysfunctiót, valamint az energia metabolizmus és az intracellularis kalcium homeostasis zavarát okozza.⁴⁸ A szabadgyökök károsítják a glomerularis mesangialis sejteket és a renalis tubularis sejteket, ezáltal mind funkcionális, mind morfológiai károsodást okozva.^{5, 110}

Az elváltozások nem egyforma mértékben érintik a vese különböző szegmenseit. Főleg a proximalis tubulusok (S1, S2, S3), köztük is leginkább az S3 tubulusok érzékenyek az ischaemia-reperfusiós károsodásra, míg a distalis tubulus relatíve nem érintett.⁶² Korábban úgy vélték, hogy ez a heterogenitás a vese különböző régióinak eltérő vérellátásából adódik.^{11, 111, 155} Kiyama és munkatársai szerint a sejtek eltérő intrinsic antioxidáns státusa a különbség oka.⁶² Mások is úgy találták, hogy a jelenség a vese különböző régióinak/sejtjeinek eltérő antioxidáns enzim (kataláz, glutation-peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz) megoszlásával⁹⁷ és az ischaemia-reperfusio hatására bekövetkező enzimvesztéssel függ össze.²⁹

Az ischaemia és az azt követő reperfusio a lokális szövetkárosodás mellett hatással lehet a vér *rheológiai faktoraira* is, ezáltal szisztémás szinten befolyásolja a *mikrokeringés* állapotát. Ezen változások jelentőségét kimutatták különböző eredetű ischaemiás illetve ischaemia-reperfusiós károsodások -cardiovascularis, cerebrovascularis, perifériás keringési betegségek, szerv- és szövet-transplantatiók- haemorheológiai változásának vonatkozásában.¹⁴⁸ A vese ischaemia-reperfusio ezen szisztémás hatásával kapcsolatban azonban még kevés információ áll rendelkezésre.

Az erek endotheljének a *vascularis reaktivitás*ban, a vasoconstrictio-vasodilatatio szabályozásában betöltött szerepe ma már vitathatatlan. Az endothelből felszabaduló endothelin a legaktívabb vasoconstrictor, melynek hatását ellensúlyozza az endothel által termelt NO.^{93, 113} Ha az endothel funkciója ép, akkor folyamatosan termeli a nitrogén-monoxidot, amely vasodilatációt okoz, tehát az ér relaxált állapotban van. Ha azonban az endothel megsérül, akkor a nitrogén-monoxid csökkent termelődése miatt érkontrakció

következik be. Chiang és munkatársai (Chiang) New Zealand nyulakon arteria femoralis superficialis artériagyűrűknél 3 órás ischaemiát és 0, 1 és 2 órás reperfusiot követően nem találtak lényeges eltérést a noradrenalinnal indukált kontrakciókban. Az acetylcholinnal kiváltott relaxációk mérésekor azt tapasztalták, hogy a relaxációs képesség csak az ischaemiát követő 2 órás reperfusio esetén csökkent szignifikánsan a kontrollhoz képest. A mi eredményeink alapján viszont már 1 órás reperfusio után is jelentős volt az endothel acetylcholin iránti érzékenységének csökkenése. A kisebb relaxációs képességet ők az alacsonyabb nitrogén-monoxid szintnek tulajdonították, amit a sérült endothel csökkent NO termelése vagy a fokozott felhasználás okozhat. Úgy vélték, hogy a kontraktilitás-csökkenés nem befolyásolja az ischaemia-reperfusiot követő relaxációs képességet.²¹

Az érrendszer megbetegedésével járó diabeteses patkányoknál kimutatták az acetylcholin által kiváltott endothelfüggő vasorelaxáció nagyfokú romlását.³² Lieberthal és munkatársai vizsgálatai szerint ischaemiát követően az acetylcholin indukált vasorelaxatio súlyos károsodása mutatható ki a veseerekben.⁷³ Mashiach és munkatársai azt tapasztalták, hogy az acetylcholin nem befolyásolta a vese főbb funkcióit, azonban az exogén NO donor SNAP nagymértékben javította az ischaemiás vese működését.⁸³

Kutyák arteria femoralisain végzett 3 óra ischaemiát és 1 óra reperfusiot követően az α_1 -adrenerg receptor denzitás- és aktivitásnövekedés a simaizomsejtek kontrakcióját okozta, míg az α_2 -adrenoceptorokon keresztül az endotheliális EDRF felszabadulását váltotta ki a kontrakció-relaxáció egyensúlyának megőrzése érdekében.¹³⁰ Mások az arteria epigastrica inferior és arteria mammaria interna funkcionális összehasonlításánál is erre a következtetésre jutottak.⁵¹

Odashiro és munkatársai kutyákon tanulmányozták in situ vénagraftokat és endothel-fosztott, fordított pozícióban beültetett vénagraftokat. Noradrenalinnal indukált előkontrakciók után endothelfüggő relaxációt váltottak ki acetylcholinnal és adenzin-

difoszfáttal és azt figyelték meg, hogy a megfordított, endothelium-fosztott vénagraftok relaxációs képessége szignifikánsan csökkent az in situ graftokéhoz képest. Arra a következtetésre jutottak, hogy az in situ vénagraft endothelje meg tudja őrizni EDRF termelő, ezáltal a relaxációs képességét, tehát minimalizálni kell a sérüléseket az endothel épségének megóvása érdekében.¹⁰⁵

Kísérleteink alapján megállapítható, hogy a reperfusio során az ér endothel rétege morfológiai és funkcionális károsodásokat szenved. Feltételezhető, hogy ischaemiás körülmények között az endothelium NO és PGI₂ termelése csökken. Ismert az a tény, hogy a szuperoxid anion képződés fokozódik a reperfusio során, továbbá ismert az is, hogy a nitrogén-monoxid szuperoxid anion jelenlétében toxikus és reaktív peroxinitritet képez, amelynek jelentősége a pathophysiologiai folyamatokban, így a gyulladásban és az apoptózisban is egyre világosabb.^{7, 140} Garcia-Criado és munkatársai gyulladáisos folyamatok vizsgálatakor az exogén nitrogén-monoxid adásával 100%-os túlélést tudtak elérni hasonló állatkísérleti modellben.³⁹ Mások a gastrointestinalis traktus és az idegrendszer tanulmányozásakor azt tapasztalták, hogy a non-adrenerg non-cholinerg relaxációt, legalábbis részben, szintén a nitrogén-monoxid mediálja.

Eredményeink szerint a korai reperfuziós fázisban jelentkező acetylcholin érzékenység erősen csökkent, mely allopurinol kezeléssel kivédhető volt. Az allopurinol kedvező hatását tapasztalták Sobey és munkatársai is keverék kutyáknál. Az arteria coronaria circumflexa sinistra 60 perc ischaemiát követő 90 perces reperfuziója során azt találták, hogy az endothel-függő, acethylcholin-indukált relaxáció gyengült, amelyet sikerült mérsékelni allopurinol, továbbá amlodipine és propranolol adásával is.¹³⁴

Feltételezhetjük, hogy az allopurinol a szuperoxid termelődés megakadályozásával gátolja a nitrogén-monoxid - szuperoxid anion kölcsönhatást, visszaállítva így a nitrogén-monoxid eredeti, a normoxiás körülmények között tapasztalható hatását. Dowell és

munkatársai New Zealand nyulak aortagyűrűin végzett kísérleteikben az erek endothel-függő és endothel-független változásait vizsgálva azt találták, hogy elsősorban a hidrogén-peroxid, kisebb mértékben a szuperoxid anionok felelősek a kialakult károsodásokért, de a hidroxil gyökök szerepét sem zárták ki.³¹

A csak ischaemia-reperfusio kapcsán észlelhető, allopurinol által kiváltott adenzin érzékenység fokozódás okát jelenleg nem ismerjük, bár az adenzin által kiváltott válaszok endothelium-függését még nem tanulmányozták kutyaartériákon -csak az ATP veseischaemiát követő kedvező hatását bizonyították- azonban ez a jelenség az endothel-függő relaxáló faktor(ok) fokozott felszabadulását is tükrözheti.¹¹² Ha feltételezzük az adenzin hatás endothelfüggőségét, abban az esetben elképzelhetőnek tartjuk, hogy a reperfusio során nagy mennyiségben felszabaduló szuperoxid anion indirekt adenzin hatást csökkentő effektusát az allopurinol semlegesíti. Ennek háttere továbbra is tisztázatlan.

A lezorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálatával az irodalomban nem talákoztunk, csak a veseszövetben található erek elváltozásairól számolnak be a szerzők. Kísérleteink során kimutattuk, hogy a veseartériában is hasonló morfológiai elváltozások jönnek létre az ischaemia-reperfusio következtében. Így kimutatható volt az endothelsejtek változó nagysága, a lamina elastica és az elastica interna ellapulása, helyenként megszakadása, továbbá gócos subendotheliális fibrosis, sőt néhol necrosis is előfordult.

Az I/R csoportban a 7. postoperatív napon megfigyelhető simaizomsejt és endothel sejt proliferáció az allopurinollal kezelt csoportban elmaradt. Mindezen felismerések alátámasztják azon hipotézisünket, hogy a reperfusio során aktiválódó XD-XO rendszer aktiválódása jelentősen hozzájárul a postischaemiás érkárosodás pathomechanizmusához. Ez magában foglalhat olyan endotheliális dysfunctióval járó érregulációs és morfológiai változásokat is, melyek együttesen kritikusan befolyásolhatják az érintett szerv egészének túlélését.

A fentieket mintegy alátámasztva cellularis szinten is jelentős elváltozásokat észleltünk, hiszen kísérleteinkben jelentős apoptotikus jelenségeket észleltünk az érintett érstruktúrában.

Az *apoptosis* szabályozott sejthalál, mely a sejtmag DNS-ének fragmentálódásával jellemezhető, ez jelenti az alapját a TUNEL technikával történő kimutatásnak.⁶⁴ Az irodalomban nem találtunk a leszorított veseartériában kialakuló apoptosissal foglalkozó közleményt, csak a vese proximalis tubulusaira és a glomerulusokra vonatkozólag.

A leszorított arteria renalis vizsgálata során azt találtuk, hogy a a TUNEL pozitív sejtek száma csökkent allopurinol alkalmazása esetében az I/R csoporttal összehasonlítva.

A látóterenkénti apoptosis számában a különbség szembetűnő volt a 3. postoperatív napon. Az a tény, hogy az allopurinol előkezelés nem tudta teljesen kivédeni az apoptosist, azt sugallja, hogy kialakulásában több faktor is szerepet játszik.⁶⁶

A szabadgyökökkel kapcsolatban igazolták, hogy direkt DNS károsodást okoznak (Hagar 1996).⁵⁰ Ischaemia-reperfusio után az arteria renalisban apoptosis és necrosis egyaránt létrejöhethet, sejttípustól és az ischaemiás károsodás súlyosságától függően, de döntő mértékben necrosissal történik. Amennyiben az ischaemiás inzultus enyhébb, vagy védőfaktorok vannak jelen, az ischaemiás sejthalál exekúciós formája nagyobb mértékben apoptosissal történik, ezért kisebb mértékű gyulladás jön létre a szövetekben, ami miatt kisebb mértékű a szövetkárosodás és kedvezőbbek a feltételek a szövetregeneráció számára.⁷⁸

Kísérleteink szerint az ischaemia-reperfusio során fellépő oxidatív stressz csökkenthető allopurinol előkezeléssel, mely hozzájárul a reaktív oxigéngyökök szintjének mérséklése által a sejtek túléléséhez, mivel ezáltal mérséklődhet a sejteket érő intracellularis kalcium akkumuláció, ATP felhasználás. A túlélő sejtek számának növekedése mellett elősegítheti az apoptotikus morfológiával történő executiót a necrosissal szemben.

Kísérleteinkben az I/R károsodások *vesefunkcióra* gyakorolt hatásáról információt nyújtó *szérum kreatinin* szint változásai hasonlóak voltak mások eredményeihez,^{5, 122} bár más szerzők általában hosszabb ideig fennálló vesefunkció romlásról számoltak be, míg saját kísérleteinkben csak a korai reperfüziós időszakban (reperfüzio 30. és 60. perce és 1. postoperatív nap) tapasztaltunk szignifikáns emelkedést. Baker és munkatársi patkányokon végeztek 45 perces veseartéria leztorítást 7 napos utánkövetéssel. Szignifikánsan magasabb szérum kreatinin értékeket mértek az ischaemia-reperfüziós csoportban az áloperált csoporttal összehasonlítva az első öt postoperatív napon és szignifikánsan kisebb mértékű emelkedést a 2. postoperatív napon az allopurinollal előkezelt csoportban az ischaemiással szemben.⁵ Rhoden és munkatársai szintén patkánymodellen az 1. és 4. postoperatív napokon találtak szignifikánsan magasabb szérum kreatinin értékeket az I/R csoportban az allopurinollal kezelt és a kontroll csoporttal összehasonlítva.¹²² A *szérum urea* értékek esetében hasonló a helyzet, saját kísérleteinkben csak az 1. postoperatív napon tapasztaltunk szignifikánsan magasabb értékeket az I/R csoportnál, míg az irodalomban elnyújtottabb hatásról számolnak be.^{49, 78}

A vesefunkció károsodásának korai, érzékeny, non-invazív indikátora az *N-acetyl-β-D-glükózaminidáz (NAG)* megjelenése és szintjének emelkedése a *vizeletben*.

A NAG egy nagy molekulású enzim, mely a vese proximális tubularis sejtjeinek lysosomáiban nagy mennyiségben található. Nagy molekulásúlya miatt nem juthat át a glomerulus ultrafiltrátumba, viszont a tubulus sejteket ért inzultus hatására a lysosomákból felszabadul és a vizeletbe kerül.

Az irodalomban nem találtunk olyan, vese ischaemia-reperfüzióval kapcsolatos közleményt, mely a vesekárosodás kimutatására ezt a vizsgálatot alkalmazná, ugyanakkor számos tumorelles terápiaiban alkalmazott citosztatikummal, illetve egyes nephrotoxikus antibiotikumokkal végzett kezeléssel kapcsolatos cikkben említik, mint a vesekárosító hatás indikátorát.¹⁰⁶

Eredményeink azt mutatták, hogy a NAG aktivitás, illetve a NAG index (NAG_i) standardizált körülmények között alkalmas a vese ischaemia-reperfusio okozta károsodásának korai jelzésére és az allopurinol védőhatásának igazolására. Az a tény, hogy már a reperfusio megindulásakor mindkét ischaemiás csoportból nyert mintákban szignifikánsan magasabb értékeket találtunk az alapértékekhez, illetve az áloperált csoportokhoz képest, mutatja az ischaemia direkt szervkárosító hatását. A reperfusio első két órájában és az 1. postoperatív napon történő további emelkedés pedig a reperfusio során nagy mennyiségben keletkező szabadgyökök károsító hatásait jelezte. Ugyanakkor az allopurinol mint xantin-oxidáz gátló szer védő hatása is jól látszott az I/R csoporttal történő összehasonlítás során, legmarkánsabban a reperfusio 1. és 2. órájában és az 1. postoperatív napon.

A NAG_i értékeknél tapasztalt viszonylag nagy szórást több tényező magyarázhatja. Egyrészt a NAG aktivitás az életkorral is változik, másrészt a hím kutyák NAG aktivitása körülbelül kétszerese a nőstény kutyákénak,⁹⁹ illetve a NAG_i vizelet-kreatininre vonatkoztatva van megadva, mely a testtömegén kívül függ a folyadékfogyasztástól is.

A *vese fénymikroszkópos szövettani vizsgálatai* során a 45 perces veseartéria leszorítással kapcsolatos ischaemia és az azt követő reperfusio az áloperált és az allopurinollal kezelt csoportoknál nem járt említésre méltó morfológiai eltéréssel, míg az ischaemia-reperfusió csoportban interstitialis fibrosist és kissé tágult corticalis tubulusokat találtunk, bennük szövettörmelékekkel, de komolyabb elváltozásokat itt sem tapasztaltunk, hasonlóan Weight és munkatársai patkány modellen végzett kísérletéhez. Modelljünkben 15-30-45-60 perces artéria leszorítást végeztek funkcionális, morfológiai és pathophysiologiai változások kimutatására. A 7. postoperatív napon végzett szövettani vizsgálatok alkalmával komolyabb eltéréseket -mitotikus sejtek, glomerularis károsodás, apoptotikus/piknotikus sejtmagok- csak a 60 perces veseartéria leszorításos csoportnál találtak, bár valamennyi csoportnál, a leszorítás

növekvő időtartamával arányban, a proximalis tubulusok különböző mértékű károsodását és növekvő számban necrosist mutattak ki.¹⁵⁹

Kutatásainkban az I/R szisztémás változásainak jelzésére használt *haematologiai paraméterek* közül a *fehérvérsejt szám* változása nem volt karakterisztikus. A műtétet követő 1-5. napokon tapasztaltunk az alapértékhez képest szignifikáns emelkedést, amely valószínűleg magának a sebészi beavatkozásnak tudható be. Az ilyenkor bekövetkező reakciók hasonlóak lehetnek az acut fázis történéseihez, melynél fehérvérsejtszám emelkedés figyelhető meg.⁶⁷ A fehérvérsejtek szerepe az ischaemia-reperfusio pathogenesisében jól ismert.^{4, 101} A leukocyták adherentiája, migrációja befolyásolhatja a keringésben való megoszlásukat.

A *thrombocyta szám* minden csoportban enyhén csökkent a postoperativ napokon, de az ischaemia-reperfusió csoportok (I/R, AP+I/R) szignifikánsan magasabb értékeket mutattak a 7. postoperativ napon, a kontroll értékekkel összehasonlítva. A thrombocyta szám csökkenés vagy emelkedés részét képezheti a sebészi traumát követő acut gyulladásos fázis reakcióknak, mint a megemelkedett fehérvérsejt szám, fibrinogén és globulin szint, a csökkenő vörösvérsejt szám, vagy éppen a haemoconcentratio.⁶⁷ Ismert, hogy ischaemiát követően interakció figyelhető meg a thrombocyták és az endothelium között, amely ischaemia indukálta expresszióból származó P-selectinek által regulált.⁸⁴

A *haemoglobin* és *haematocrit* értékek csökkenő tendenciát mutattak, mely a műtétet követő második napon kezdődött. Az 5. és 7. postoperativ napra szignifikánssá vált a különbség a műtét előtt mérthez képest mindkét ischaemiás csoportban (I/R és AP+I/R).

A vér *rheologiai* viselkedését több tényező határozza meg, így a teljes vér viszkozitása, mely szintén számos tényezőtől függ (haematocrit, plasma viszkozitás, vörösvérsejt aggregatio, nyírófeszültség, plasma fibrinogén szint), a keringés geometriája

(kis átmérőjű erek, érhálózat felépítése) és a vörösvérsejtek egyes tulajdonságai (deformabilitás, a membrán mechanikai tulajdonságai, felszín/térfogat arány).¹⁴⁸

Az ischaemia-reperfusio több mechanizmuson keresztül befolyásolhatja a vér rheológiai viselkedését. Ezek közé tartoznak a lokális haemodinamikai változások, lokális fizikai és anyagcsere változások,^{18, 156} a haemostasis és az endothel sejt funkció változásai,⁹² melyek acut fázis reakciókat indítanak be a műtéti stresszel, vagy az adott traumával összefüggésben.⁶⁷ Az ischaemia-reperfusio által okozott stressz reakciókat kísérő általános változások következtében emelkedhet a vér viszkozitása, a haematocrit érték, a fibrinogén koncentráció és a fehérvérsejt szám.⁶⁷ Az ischaemia-reperfusio ezen kívül mind a szabadgyök, mind a nitrogén-monoxid útvonalon keresztül is befolyásolhatja a haemorheológiai állapotot a vörösvérsejtek deformabilitásának romlása és aggregációs hajlamuk fokozódása révén.^{6, 15, 61, 102-103, 148}

A vörösvérsejtek rendkívül érzékenyek a szabadgyökök károsító hatásaival szemben, mivel membránjuk sok, többszörösen telítetlen zsírsavat tartalmaz, mely hajlamos a peroxidációra, folyamatosan magas oxigénkoncentrációnak van kitéve és gazdag vasban, ami a szabadgyök reakciók egyik katalizátora.^{6, 136, 138} A vörösvérsejteket mind extracellularis, mind intracellularis gyökhatások érik. Intracellularisan az oxihaemoglobin methaemoglobinná történő kismértékű, állandó átalakulása zajlik.⁵⁵ Extracellularisan az ischaemia-reperfusio során keletkező reaktív oxigén intermedierek fenyegetik a sejtet részben a sejtmembrán direkt károsítása, részben Heinz-testek képződése révén.³³

Fiziológiás körülmények között egyensúly van a spontán termelődő szuperoxid gyökök és a vörösvérsejtek antioxidáns védekező rendszere közt, pathológiás körülmények között azonban a szabadgyökök kifejthetik károsító hatásukat.

Kísérleteinkben igazolódott a vörösvérsejtek károsodása, mely feltételezhetően nagyrészt a szabadgyököknek tulajdonítható. Eredményeink azt mutatták, hogy a 45 perces

arteria renalis leszorítás és az azt követő reperfusio hátrányosan befolyásolta a vörösvérsejtek deformabilitását, ami a reperfusio első órájában és a korai postoperatív napokon volt a legkifejezettebb.

A teljes vér viszkozitás, a plasma fibrinogén szintje és a fehérvérsejtszám is emelkedett az ischaemia-reperfusiót követően. Ezen változások közül a *vörösvérsejt deformabilitás* romlása, a *teljes vér viszkozitás* és a *plasma fibrinogén szint* emelkedése mérsékelhetőek voltak allopurinol alkalmazásával.

A vese ischaemia-reperfusio kapcsán tapasztalható vörösvérsejt deformabilitás rosszabbodása kétfázisú volt: a korait a reperfusiót követő 30. percben, a későit 1-2 nappal a reperfusiót követően tapasztaltuk. A korai fázisban nem volt különbség az I/R és az AP+I/R csoportok közt, míg a késői fázisban az allopurinol védőhatása igazolódni látszott, mivel csak az I/R csoportban észleltünk szignifikáns deformabilitás romlást az 1. és 2. postoperatív napokon.

Az ischaemia-reperfusio hatása összetett. A korai fázisban lokális fizikai és metabolikus változások és a xantin-oxidáz aktiválódása játszanak kulcsszerepet.^{18, 88} Ez magyarázhatja a korai fázist. A szisztémás metabolikus változások, mint a tejsavszint emelkedése, pH csökkenés és a hypoxiás változások szintén ronthatják a vörösvérsejt deformabilitást,^{18, 156} de nem védhetőek ki allopurinollal, bár megelőzhetik a xantin-oxidáz aktiválódást. Az ischaemia-reperfusió károsodással összefüggő gyulladós folyamatok -mint a leukocita aktiváció- lassabban játszódnak le, órát vesz igénybe a kialakulásuk,^{41, 101} ez magyarázhatja a késői fázist. Feltételezhető, hogy a késői hatás a gyulladós reakció mértékét tükrözi. Ha a korai fázisban a szabadgyök termelődést megelőzzük, vagy mérsékeljük allopurinol adásával, akkor a gyulladós reakció enyhébb lesz, ami mérsékeltebb akut fázis reakcióban és enyhébb fokú vörösvérsejt deformabilitás romlásban nyilvánul meg az 1-2. napon. Ha ez a korai prevenció nem lenne, akkor a gyulladós reakció

a vörösvérsejtek rigidebbé válását vagy az aktivált és felszaporodott leukocyták miatt a pórusok fokozottabb eltömődését okozná a műtétet követő napokon.

A *plasma antioxidáns aktivitás* változását vizsgálva az a tény, hogy sem az allopurinollal kezelt csoport, sem az áloperált csoport esetében nem észleltünk számottevő változást sem egymáshoz, sem az alapértékhez viszonyítva, azt mutatja, hogy sikerült mérsékelni az ischaemia-reperfusio káros hatását allopurinol alkalmazásával. Szignifikáns különbséget csak az I/R csoport esetében tapasztaltunk, ahol a reperfusio 120. percében a reperfusio 60. percéhez és az 1. postoperatív naphoz képest alacsonyabb volt az antioxidáns aktivitás.

A szervezet saját védekező rendszerének részeként az enzimatisz rendszer enzimeit -a szuperoxid dizmutázok, a kataláz és a glutation-peroxidáz- végzik a reperfusio korai szakaszában keletkező oxigén eredetű szabadgyökök, reaktív oxigén intermedierek semlegesítését, de ha ezek mennyisége meghaladja az endogén antioxidáns rendszer kapacitását, kialakul az oxidatív stressz állapota.¹²⁵ Az áloperált és az allopurinollal kezelt csoport esetében az enzimszint elegendő volt ennek megelőzésére, nem csökkent a kritikus érték alá, míg az I/R csoportnál az egyensúly a szabadgyökök irányába billent és a reperfusió károsodás kialakult.

Az irodalomban az egyes antioxidáns enzimek szintjének változásait többnyire külön-külön vizsgálták. Így Unal és munkatársai is -más egyéb vizsgálatok mellett- vizsgálták a szuperoxid dizmutáz és a glutation-peroxidáz aktivitást, bár nem találtak statisztikailag értékelhető eltérést a kontroll és az antioxidáns vitaminokkal illetve exogén nitrogén-monoxiddal kezelt csoportok között.¹⁵⁰ Lee és munkatársai aszkorbinsavat alkalmaztak kutyák vese autotranszplantációjánál az ischaemia-reperfusió károsodások kivédésére. Azt találták, hogy az antioxidáns enzimek külön-külön mért aktivitása a plazmában szignifikánsan magasabb volt a kezelt csoportoknál, mint a kontrollcsoportban.⁷⁰

A *plasma endothelin szint* változása jól demonstrálta az ischaemia-reperfúziós károsodás kialakulását és az allopurinol alkalmazása során kimutatható volt egy kétfázisú védelem. Mivel az endothelin-1 felszabadulását serkenti a hypoxia és/vagy ischaemia, ennek megfelelően az ischaemiás időszak végén az I/R csoportban szignifikánsan magasabb endothelin szintet mértünk az alapértékhez képest, ami teljesen elmaradt az allopurinollal kezelt csoport esetében, hasonlóan az áloperált csoporthoz. Ezt tekinthetjük a védelem első fázisának. Az allopurinol protektív hatása a xantin-oxidáz gátlásával kifejtett szabadgyök termelődést csökkentő hatása révén nemcsak a reperfusio kezdeti szakaszában, hanem a késői postoperatív szakaszban is érvényesült, mely a védelem második fázisát jelenti.

Az endothelin-1 a legerősebb hatású vasoconstrictor, melyet az endothelium sejtei szelektíve választanak ki. Az ET-1 két receptorhoz kötődve fejti ki hatását: az ET_A receptorok főleg a vascularis simaizomsejteken expresszálódnak és az ET-1 vasoconstrictor hatását mediálja.¹²⁶ Az ET_B receptor elsősorban az endothel sejteken expresszálódik, aktiválódása a Ca-dependens eNOS-t aktiválja, mely NO és prosztaciklin képződést okoz, következményes vasodilatációval.¹²⁹

A plasmaszint fiziológiásan alacsony, mert az endothelin abluminálisan secretálja, pathológiás körülmények között azonban (pl. hypoxia) szintje sokszorosára nőhet.¹²⁶

In vivo és ex vivo kísérletekben kimutatták, hogy ischaemiát követően emelkedett az ET_A receptor kötőhelyek száma és fokozódott az ET-1 vasoconstrictor hatással szembeni érzékenység.^{145, 162}

Keletkezésében és gátlásában keringő faktorok (serkentő: angiotenzin II, TGF- β , inzulin, thrombin, citokinek; gátló: pitvari natriuretikus peptid, nitrogén-monoxid, prosztaciklin) és haemodinamikai tényezők (pl. lassú áramlás alacsony falfeszüléssel) egyaránt részt vesznek. Hatásai igen sokrétűek, vasoconstrictión kívül az RBF (renal blood flow) és GFR (glomerular blood flow) csökkentése, az aldosteron secretio serkentése, pozitív

inotrop és chronotrop hatás, pitvari natriuretikus peptid felszabadulásának serkentése. Ezenkívül fokozza a thrombocyta aggregatiót, a thrombocyták és leukocyták kitapadását az érfalhoz.⁹⁸

Feltételezhető, hogy az endothelin-1 a vese ischaemia-reperfusiója során nagy mennyiségben a keringésbe jutva nemcsak lokálisan a vesében hat, hanem számos szisztémás hatást is kifejt, melyek kedvezőtlenül befolyásolhatják a szervezet egészét. Kísérleteinkben ezeket sikerült mérsékelni allopurinol ischaemiát megelőző adásával.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy keverék kutyák egyik oldali arteria renalisának 45 percre történő leszorításával létrehozott ischaemia és az oclusio megszüntetésekor bekövetkező reperfusio kapcsán kialakult változásokra a xantin-oxidáz gátló allopurinol -az érleszorítást megelőzően, szisztémásan alkalmazva- kedvező hatást gyakorolt, mind a veseartéria endothelfüggő vascularis válaszára, mind a vesefunkcióra, valamint a szervezet egészére is.

Alkalmazása *hasznos vaso- és renoprotectiv eljárás lehet* mind az arteria renalis leszorítást igénylő műtéteknél, mind a veseparenchyma védelmét biztosító ún. „nephron-sparing surgery” beavatkozások során.

Az allopurinol védőhatása feltételezhető bármely szervén végzett műtéti beavatkozásnál a szervet ellátó artéria keringésből történő kirekesztése során.

FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az érmodell kialakítása során megállapítottuk, hogy bizonyos szerek adása meghamisíthatja az érreaktivitási vizsgálatok eredményét, ezért a szokásos protokolltól eltérően nem szabad anticoagulans kezelést és Atropin premedikációt alkalmazni, sem a vesehilus hidraulikus preparáláshoz Lidocain oldatot használni, holott ez az egyik szokásos technika a klinikumban veseműtétek során.
2. A veseartéria 45 perces egyoldali leszorítása és az azt követő reperfusio következményeinek keverék kutyákon történő vizsgálata során elsőként mutattuk ki, hogy nemcsak a veseszövetben, hanem a leszorított érben is kialakulnak az ischaemia-reperfusióval összefüggő funkcionális és morfológiai változások.
3. Így a leszorított ér kontrakciós-relaxációs képessége sérült: az acetylcholin-indukált relaxáció -az endothel funkció egyik fontos markere- szignifikánsan gyengült, hasonlóan az adozin-indukált relaxációhoz (endothel-függő). A nitroglicerin-indukált (endothel-független) relaxáció gyakorlatilag nem változott.
4. A veseartériák morfológiai vizsgálata minimális elváltozásokat mutatott a HE festéssel készült metszetekben. Apoptosis vizsgálattal a 3. postoperatív napon kifejezett, a 7. postoperatív napon már csak minimális apoptotikus aktivitást észleltünk az érfalban.
5. Megállapítottuk, hogy a vesefunkciós vizsgálatok közül a vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz szintjének meghatározása -melyet a vese ischaemia-reperfusió károsodásának jelzésére mi alkalmaztunk először- korai, érzékeny, nem invazív módszernek bizonyult a vesekárosodás kimutatására és az allopurinol protektív hatásának igazolására.
6. A szisztémás változások vizsgálata során a 45 perces ischaemia és az azt követő reperfusio karakterisztikus és szignifikáns változásokat idézett elő több

haemorheológiai paraméterben. Jelző értékű változásokat mutatott a vörösvérsejt deformabilitás és a fibrinogén koncentráció. Az eltérések egy része összefüggésbe hozható a szabadgyökök okozta károsodásokkal, más része a beavatkozások által okozott sebészi traumával.

7. Az egyéb, szisztémás hatásokat vizsgáló paraméterek közül jelző értékűnek találtuk a plasma antioxidáns aktivitás és a plasma endothelin szint változásait az ischaemia-reperfüziós károsodások jelzésére, illetve az alopurinol védő hatásának bizonyítására.
8. A xantin-oxidáz gátló allopurinol 100 mg/ttkg dózisban történő, ischaemiát megelőző szisztémás alkalmazásával a 45 perces ischaemia és az azt követő reperfüzió káros hatásai bár teljes mértékben nem voltak kivédhetők -ami a szabadgyökökön kívül egyéb faktorok szerepére is utal-, de szignifikáns mértékben mérsékelhetők voltak mind a vascularis reaktivitás, mind a vesefunkció, valamint a szervezet egészének vonatkozásában is. Elsőként hívtuk fel rá a figyelmet, hogy az allopurinol alkalmazása hasznos reno- és vasoprotectiv eljárás lehet arteria renalis leszorítást igénylő műtéteknél.

6. ÖSSZEFOGLALÁS / SUMMARY

A klinikai gyakorlatban a vese ischaemia-reperfúziós károsodása elkerülhetetlen következménye lehet számos kórállapotnak és műtéti beavatkozásnak, melyek során nemcsak a veseparenchyma szenvedhet károsodásokat, hanem magában a leszorított arteria renalis falában is bekövetkezhetnek hasonló elváltozások, amelyek az ér kontrakciós-relaxációs képességét kedvezőtlenül befolyásolhatják. Az oxidatív stressz kiváltotta folyamatok a lokális szövetkárosodás mellett hatással lehetnek a vér rheológiai faktóira is, ezáltal szisztémás szinten befolyásolhatják a mikrokeringés állapotát is.

Keverék kutyákon végzett kutatómunkánk során a 45 perces vese ischaemiát követő reperfúzió különböző fázisaiban a leszorított érben érreaktivitás és morfológiai (hagyományos fénymikroszkópia, apoptosis) vizsgálatokat, a vesében funkcionális (szérum urea és kreatinin, vizelet N-acetyl- β -D-glukózaminidáz) eltéréseket, valamint a szisztémás keringésben bekövetkező változásokat kívántuk kimutatni (haematológiai és haemorheológiai vizsgálatok, antioxidáns aktivitás és endothelin szint meghatározás).

Mivel a fenti károsodás háttérében szabadgyök reakciók állhatnak, ezek relatív etiológiai szerepére -indirekt módon- a xantin-oxidáz gátlószere, az allopurinol alkalmazása révén következtettünk.

Eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy vese ischaemia-reperfúzió során magában a leszorított vesearteriában is kialakulnak olyan elváltozások, melyek révén az egyensúly eltolódhat a vasoconstrictio irányába. További káros következményként a vesefunkció beszűkülése és jelentős szisztémás változások alakulnak ki: egyes hemorheológiai paraméterek (vörösvérsejt deformabilitás) romlása, ezen túlmenően endothelin fokozott felszabadulása (vasoconstrictor mediátor) és a szervezet antioxidáns aktivitásának csökkenése is kimutatható volt, mely változások egymással összeadódva akár a szervezet egészének funkciójára is hatással lehetnek.

A jelen modellünkben észlelt fenti elváltozások egy része kedvezően befolyásolható volt allopurinol előkezeléssel, mely indirekt módon arra enged következtetni, hogy a folyamatok háttérében legalább részben xantin-dehidrogenáz/xantin-oxidáz pathophysiologiás aktivációja állhat.

SUMMARY

Renal ischemia-reperfusion injury can be an inevitable consequence of a number of clinical situations and operative procedures, and may result not only in the injury of the renal parenchyma but the clamped artery itself. These changes may impair the contractile-relaxant capacity of the vessel. Processes caused by oxidative stress may influence the rheological factors of the blood thereby altering microcirculation.

The aim of our study on mongrel dogs was to demonstrate the changes of renal artery clamping for 45 minutes, followed by reperfusion in the clamped artery applying functional (vascular reactivity) and morphological (light microscopy and apoptosis) examinations in the kidney using functional (serum urea and creatinin, urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase) tests. It was also our aim to show the alterations in systemic circulation (hematological and hemorheological examinations, determination of plasma antioxidant activity and endothelin level).

Since free radicals may play a key role in this process, their contribution was concluded indirectly by administering xanthin-oxidase inhibitor allopurinol.

In summary we can conclude that alterations may also occur in the clamped artery during ischemia-reperfusion, shifting the balance towards vasoconstriction. Further adverse effects are deterioration of renal function and considerable systemic changes such as deterioration of hemorheological parameters (red blood cell deformability), increased release of endothelin (vasoconstrictor mediator), reduced antioxidant activity in the body. These changes added together may influence the functioning of the whole organism.

The fact that these changes could partly be influenced by preischemic allopurinol treatment may indirectly indicate that, at least in part, the pathophysiological activation of xanthin-dehydrogenase/xanthin-oxidase is found in the background of the process.

7. IRODALOMJEGYZÉK

7.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Aiba M., Yokoyama Y., Snow T.R., Novitzky D., McKeown P.P.: Effects of allopurinol pretreatment with pulmonary flush on lung preservation. *J. Heart. Lung. Transplant.* 1992;11:1025-1030.
2. Akdemir H., Asik Z., Pasaoglu H., Karakucuk I., Oktem I.S., Koc R.K.: The effect of allopurinol on focal cerebral ischaemia: an experimental study in rabbits. *Neurosurg. Rev.* 2001;24:131-135.
3. Alatas O., Sahin A., Colak O., Inal M., Koken T., Yasar B., Karahuseyinoglu E.: Beneficial effects of allopurinol on glutathione levels and glutathione peroxidase activity in rat ischaemic acute renal failure. *J. Int. Med. Res.* 1996;24:33-39.
4. Anaya-Prado R., Toledo-Pereyra L.H., Lentsch A.B., Ward P.A.: Ischemia-reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 2002;105:248-258.
5. Baker G.L., Corry R.J., Autor A.P.: Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. *Ann. Surg.* 1985;202:628-641.
6. Baskurt O.K., Temiz A., Meiselman H.J.: Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Rad. Biol. Med.* 1998;24:102-110.
7. Beckman J.S., Koppenol W.H.: Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am. J. Physiol.* 1996;271:C1424-1437.
8. Behrends M., Waltz M.K., Kribben A., Neumann T., Helmchen U., Philipp T.: No protection of the porcine kidney by ischemic preconditioning. *Exp. Physiol.* 2000;85:819-827.
9. Berry C.E., Hare J.M.: Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J. Physiol.* 2004;555:589-606.
10. Bolli R.: The late phase of preconditioning. *Circ. Res.* 2000;87:972-983.
11. Bonventre J.V.: Mechanisms of ischemic acute renal failure. *Kidney Int.* 1993;43:1160-1178.
12. Bonventre J.V.: Kidney ischemic preconditioning. *Curr. Opin. Nephrol. Hy.* 2002;11:43-48.
13. Bor M.V., Durmus O., Cayci B., Turkozkan N.: An alternative parameter for monitoring the therapeutic benefits of allopurinol simultaneously in renal ischaemia-reperfusion injury: MDA/ATP Ratio. *Cell. Biochem. Funct.* 2000;18:229-234.
14. Borges F., Fernandes E., Roleira F.: Progress towards the discovery of xanthine-oxidase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 2002;9:195-217.
15. Bor-Kucukatay M., Wenby R.B., Meiselman H.J., Baskurt O.K.: Effects of nitric oxide on red blood cell deformability, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003;284:H1577-1584.
16. Boros M., Kaszaki J., Nagy S.: Oxygen free radical induced histamine release during intestinal ischemia and reperfusion. *Eur. Surg. Res.* 1989;21:297-304.
17. Boulanger C., Lüscher T.F.: Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J. Clin. Invest.* 1990;85:587-590.
18. Brun J.: Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2002;26:63-79.
19. Busse R., Edwards G., Feletou M., Fleming I., Vanhoutte P.M., Weston A.H.: EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol. Sci.* 2002;23:374-380.
20. Chatterjee S.N., Berne T.V.: Protective effect of allopurinol in renal ischemia. *Am. J. Surg.* 1976;131:658-659.
21. Chiang P.C., Traul T.K., Farooq M.M., Lesniak R.J., Seabrook G.R., Towne J.B., Freischlag J.A.: Loss of superficial femoral artery relaxation following ischaemia-reperfusion. *J. Surg. Res.* 1996;60:361-364.
22. Cochrane J., Williams B.T., Banerjee A., Harken A.H., Burke T.J., Cairns C.B., Shapiro J.I.: Ischemic preconditioning attenuates functional, metabolic, and morphologic injury from ischemic acute renal failure in the rat. *Ren. Fail.* 1999;21:135-145.
23. Cohen P.J.: Allopurinol administered prior to hepatic ischaemia in the rat prevents chemiluminescence following restoration of circulation. *Can. J. Anaesth.* 1992;39:1090-1093.

24. Cunha M.S., da Silva J.C., Nakamoto H.A., Ferreira M.C.: Study of warm ischemia followed by reperfusion on a lower limb model in rats: effect of allopurinol and streptokinase. *Clinics* 2005;60:213-220.
25. Das D.K., Engelman R.M., Clement R., Otani H., Prasad M.R., Rao P.S.: Role of xanthine oxidase inhibitor as free radical scavenger: a novel mechanism of action of allopurinol and oxipurinol in myocardial salvage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1987;148:314-319.
26. Dawn B., Bolli R.: Role of nitric oxide in myocardial preconditioning. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2002;962:18-41.
27. De Greef K.E., Ysebaert D.K., Ghielli M., Vercauteren S., Nouwen E.J., Eyskens E.J., de Broe M.E.: Neutrophils and acute ischemia-reperfusion injury. *J. Nephrol.* 1998;11:110-122.
28. Dillon J.J., Grossman S.H., Finn W.F.: Effect of oxipurinol on renal reperfusion injury in the rat. *Ren. Fail.* 1993;15:37-45.
29. Dobashi K., Ghosh B., Orak J.K., Singh I.: Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol. Cell. Biochem.* 2000;205:1-11.
30. Dormándy J., Flute P., Mátrai Á., Bogár L., Mikita J.: The new St. George's blood filterometer, *Clin. Hemorheol.* 1985;5:975-983.
31. Dowell F.J., Hamilton C.A., McMurray J., Reid J.L.: Effects of a xanthine oxidase/hypoxanthine free radical and reactive oxygen species generating system on endothelial function in New Zealand white rabbit aortic rings. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993;22:792-797.
32. Dresner, L.S., Wang, S.P., West, M.W.: Nitric oxide inhibition simulates the enhancement of alpha1 agonist-induced vasoconstriction in diabetes. *J. Surg. Res.* 1997;70:119-123.
33. Fehér J., Vereckei A.: Szabadgyök reakciók jelentősége az orvostudományban. *Biogal Gyógyszergyár*, 1985.
34. Ferrari R.P., Battiston B., Brunelli G., Casella A., Caimi L.: The role of allopurinol in preventing oxygen free radical injury to skeletal muscle and endothelial cells after ischemia-reperfusion. *J. Reconstr. Microsurg.* 1996;12:447-450.
35. Fields M., Lewis C.G., Lure M.D.: Allopurinol, an inhibitor of xanthine oxidase, reduces uric acid levels and modifies the signs associated with copper deficiency in rats fed fructose. *Free Rad. Biol. Med.* 1996;20:595-600.
36. Fleming I.: Cytochrome P450 enzymes in vascular homeostasis. *Circ. Res.* 2001;89:753-762.
37. Furchgott R.F., Zawadzki J.V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-366.
38. Galat J.A., Robinson A.V., Rhodes R.S.: Postischemic renal dysfunction: The limited role of xanthine oxidase-generated oxygen free radicals. *J. Surg. Res.* 1990;49:488-492.
39. Garcia-Criado F.J., Eleno N., Santos-Benito F., Valdunciel J.J., Reverte M., Lozano-Sanchez F.S., Ludena M.D., Gomez-Alonso A., Lopez-Novoa J.M.: Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation* 1998;66:982-990.
40. Godin D.V., Garnett M.E.: Altered antioxidant status in the ischemic/reperfused rabbit myocardium: effects of allopurinol. *Can. J. Cardiol.* 1989;5:365-371.
41. Grace P.A.: Ischaemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.* 1994;81:637-647.
42. Granger D.N., Rutili G., McCord J.M.: Superoxide radicals in feline intestinal ischaemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-29.
43. Granger D.N., McCord J.M., Parks D.A., Hollwarth M.E.: Xanthine oxidase inhibitors attenuate ischemia-induced vascular permeability changes in the cat intestine. *Gastroenterology* 1986;90:80-84.
44. Granger D.N., Hollwarth M.E., Parks D.A.: Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 1986;548:47-63.
45. Granger D.N., Korthuis R.J.: Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu. Rev. Physiol.* 1995;57:311-332.
46. Green C.J., Healing G., Simpkin S., Lunec J., Fuller B.J.: Desferrioxamine reduces susceptibility to lipid peroxidation in rabbit kidneys subjected to warm ischaemia and reperfusion. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 1986;85:113-117.
47. Green C.J., Healing G., Simpkin S., Gower J., Fuller B.J.: Allopurinol inhibits lipid peroxidation in warm ischaemic and reperfused rabbit kidneys, *Free Radic. Res. Commun.* 1989;6:329-337.

48. Greene E., Paller M.S.: Xanthine oxidase produces $\cdot\text{O}_2$ in posthypoxic injury of renal epithelial cells. *Am. J. Physiol.* 1992;263:251-255.
49. Gupta P.C., Matsushita M., Oda K., Nishikimi N., Sakurai T., Nimura Y.: Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in rats by allopurinol and prostaglandin E1. *Eur. Surg. Res.* 1998;30:102-107.
50. Hagar H., Ueda N., Shah S.V.: Role of reactive oxygen metabolites in DNA damage and cell death in chemical hypoxic injury to LLC-PK1 cells. *Am. J. Physiol.* 1996;271:F209-215.
51. He G.W., Acuff T.E., Ryan W.H., Yang C.Q., Mack M.J.: Functional comparison between the human inferior epigastric artery and internal mammary artery. Similarities and differences. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1995;109:13-20.
52. Hestin D., Johns E.J.: The influence of allopurinol on kidney haemodynamic and excretory responses to renal ischaemia in anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.* 1999;128:255-261.
53. Horak E., Hopfer S.M., Sunderman F.W. Jr.: Spectrophotometric assay for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. *Clin. Chem.* 1981;27:1180-1185.
54. Ilhan H., Alatas O., Tokar B., Colak O., Pasaoglu O., Koku N.: Effects of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody, allopurinol, and methylene blue on intestinal reperfusion injury. *J. Pediatr. Surg.* 2003;38:1591-1595.
55. Imre S., Csornai M., Balázs M.: High sensitivity to autoxidation in neonatal calf erythrocytes: possible mechanism of accelerated cell aging. *Mech. Ageing Dev.* 2001;122:69-76.
56. Islam C., Mathie R., Dinneen M.D., Kiely E.A., Peters A.M., Grace P.A.: Ischemia-reperfusion injury in the kidney; the effect of preconditioning. *BJU Int.* 1997;79:842-847.
57. Jefayri M.K., Grace P.A., Mathie R.T.: Attenuation of reperfusion injury by renal ischaemic preconditioning: the role of nitric oxide. *BJU Int.* 2000;85:1007-1013.
58. Joannidis M., Straunthaler G., Pfaller W.: Xanthine oxidase: evidence against a causative role in renal reperfusion injury. *Am. J. Physiol.* 1990;258:F232-236.
59. Karwinski W., Farstad M., Ulvik R., Soreide O.: Sixty-minute normothermic liver ischemia in rats. Evidence that allopurinol improves liver cell energy metabolism during reperfusion but that timing of drug administration is important. *Transplantation.* 1991;52:231-234.
60. Karwinski W., Bolann B., Ulvik R., Farstad M., Soreide O.: Normothermic liver ischemia in rats: xanthine oxidase is not the main source of oxygen free radicals. *Res. Exp. Med. (Berl).* 1993;193:275-283.
61. Kayar E., Mat F., Meiselman H.J., Baskurt O.K.: Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology* 2001;38:405-414.
62. Kiyama S., Yoshioka T., Burr I.M., Kon V., Fogo A., Ichikawa I.: Strategic locus for the activation of the superoxide dismutase gene in the nephron. *Kidney Int.* 1995;47:536-546.
63. Klausner J.M., Paterson I.S., Goldman G., Kobzik L., Rodzen C., Lawrence R., Valeri C.R., Shepro D., Hechtman H.B.: Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotrienes. *Am. J. Physiol.* 1989;256:F794-802.
64. Kockx M.M., Muhring J., Bortier H., De Meyer G.R., Jacob W.: Biotin- or digoxigenin-conjugated nucleotides bind to matrix vesicles in atherosclerotic plaques. *Am. J. Pathol.* 1996;148:1771-1777.
65. Kónya L., Kékesi V., Juhász-Nagy S., Fehér J.: Effect of antioxidant treatment on the myocardium during reperfusion in dogs. *Acta Physiol. Hung.* 1993;81:219-228.
66. Kónya L., Bencsáth P., Szénási G., Fehér J.: Lack of effect of antioxidant therapy during renal ischemia and reperfusion in dogs. *Experientia* 1993;49:235-237.
67. Koppensteiner R.: Blood rheology in emergency medicine. *Semin. Thromb. Hemost.* 1996;22:89-91.
68. Kosieradzki M., Ametani M., Southard J.H., Mangino M.J.: Is ischemic preconditioning of the kidney clinically relevant? *Surgery* 2003;133:81-90.
69. Kourembanas S., Marsden P.A., McQuillan L.P., Faller D.V.: Hypoxia induces endothelin expression and secretion in cultured human endothelium. *J. Clin. Invest.* 1991;88:1054-1057.
70. Lee H.T., Emala C.W.: Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: Role of A_1 and A_3 receptors. *Am. J. Physiol. (Renal Physiol.)* 2000;278:F380-387.
71. Lelcuk S., Alexander F., Kobzik L., Valeri C.R., Shepro D., Hechtman H.B.: Prostacyclin and thromboxane A_2 moderate postischemic renal failure. *Surgery* 1985;98:207-212.

72. Lenaz G.: Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim. Biophys. Acta* 1988;1366:53-67.
73. Lieberthal W., Wolf E.F., Rennke H.G., Valeri C.R., Levinsky N.G.: Renal ischemia and reperfusion impair endothelium-dependent vascular relaxation. *Am. J. Physiol.* 1989;256:F894-900.
74. Li J.M., Shah A.M.: ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003;14:S221-226.
75. Lin Y., Phillis J.W.: Oxypurinol reduces focal ischemic brain injury in the rat. *Neurosci.Lett.* 1991;126:187-190
76. Linas S.L., Whittenburg D., Parsons P.E., Repine J.E.: Ischemia increases neutrophil retention and worsens acute renal failure: role of oxygen metabolites and ICAM-1. *Kidney Int.* 1995;48:1584-1591.
77. Lindsay S., Liu T.H., Xu J.A., Marshall P.A., Thompson J.K., Parks D.A., Freeman B.A., Hsu C.Y., Beckman J.S.: Role of xanthine dehydrogenase and oxidase in focal cerebral ischemic injury to rat. *Am. J. Physiol.* 1991;261:H2051-2057.
78. Lopez-Neblina F., Toledo A.H., Toledo-Pereyra L.H.: Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J. Invest. Surg.* 2005;18:335-350.
79. Loyaga-Rendon R.Y., Sakamoto S., Aso T., Iwasaki-Kurashige K., Takahashi R., Azuma H.: Mediators involved in decreasing peripheral vascular resistance with carbachol in the rat hind limb perfusion model. *J. Pharmacol. Sci.* 2005;98:263-274.
80. Lüscher T., Noll G.: The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator. *Atherosclerosis* 1995;118:S81-90.
81. Majno G., Ames III. A., Chiang J.: No reflow after cerebral ischaemia. *Lancet* 1967;2:569-570.
82. Masaki Z., Ichigi Y., Kuratomi K., Iguchi A., Sato S., Nakamura K., Hirata Y., Tokuda Y., Nohtomi T.: In situ perfusion by retrograde cannulation of a tumor artery for nephron-sparing surgery. *Int. J. Urol.* 1995;2:161-165.
83. Mashlach E., Sela S., Winaver J., Shasha S.M., Kristal B.: Renal ischemia-reperfusion injury: contribution of nitric oxide and renal blood flow. *Nephron* 1998;80:458-467.
84. Massberg S., Enders G., Leiderer R., Eisenmenger S., Vestweber D., Krombach F., Messmer K.: Platelet-endothelial cell interactions during ischemia/reperfusion: the role of P-selectin. *Blood* 1998;92:507-515.
85. Massey V., Komai H., Palmer G., Elion G.B.: On the mechanism of inactivation of xanthine oxidase by allopurinol and other pyrazolo[3,4-d]pyrimidines. *J. Biol. Chem.* 1970;245:2837-2844.
86. Mátrai Á., Whittington R.B., Ernst E.: Simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin. Hemorheol.* 1987;7:261-265.
87. Matsui N., Satsuki I., Morita Y., Inaizumi K., Kasajima K., Kanoh R., Fukuishi N., Akagi M.: Xanthine oxidase-derived reactive oxygen species activate nuclear factor kappa B during hepatic ischemia in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 2000;84:363-366.
88. McCord J.M.: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 1985;312:159-163.
89. Megison S.M., Horton J.W., Chao H., Walker P.B.: High dose versus low dose enteral allopurinol for prophylaxis in mesenteric ischemia. *Circ. Shock* 1990;30:323-329.
90. Metzger J., Dore S.P., Lauterburg B.H.: Oxidant stress during reperfusion of ischemic liver: no evidence for a role of xanthine oxidase. *Hepatology* 1988;8:580-584.
91. Mikó I., Szabó Z., Furka I., Tarsoly E., Pintér J.: Experimental in situ renal hypothermia through the renal vein. *Acta Chir. Hung.* 1985;26:253-258.
92. Mombouli J.V., Vanhoutte P.M.: Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999;31:61-74.
93. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.: Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.* 1989;38:1709-1715.
94. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A.: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991;43:109-142.
95. Moorhouse P.C., Grootveld M., Halliwell B., Quinlan J.G., Gutteridge J.M.: Allopurinol and oxipurinol are hydroxyl radical scavengers. *FEBS Lett.* 1987;213:23-28.
96. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A.: Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986;74:1124-1136.

97. Muse K.E., Oberley T.D., Sempf J.M., Oberley L.W.: Immunolocalization of antioxidant enzymes in adult hamster kidney. *Histochem. J.* 1994;26:734-753.
98. Nagy J., Csiky B., Kovács T., Wittmann I.: Endotheldysfunctio. *Orv. Hetil.* 2001;31:1667-1672.
99. Nakamura M., Itoh T., Miyata K., Higashiyama N., Takesue H., Nishiyama S.: Difference in urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity between male and female beagle dogs. *Ren. Physiol.* 1983;6:130-133.
100. Nakashima M., Niwa M., Iwai T., Uematsu T.: Involvement of free radicals in cerebral vascular reperfusion injury evaluated in a transient focal cerebral ischemia model of rat. *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:722-729.
101. 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.
102. Németh N., Szokoly M., Ács G., Bráth E., Lesznyák T., Furka I., Mikó I.: Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2004;30:133-145.
103. Németh N., Lesznyák T., Szokoly M., Furka I., Mikó I.: Allopurinol prevents erythrocyte impairing but not the hematological alterations after limb ischemia-reperfusion in rats. *J. Invest. Surg.* 2006;19:47-56.
104. Nitescu N., Ricksten S.E., Marcussen N., Haraldsson B., Nilsson U., Basu S., Guron G.: N-acetylcysteine attenuates kidney injury in rats subjected to renal ischaemia-reperfusion. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2006;21:1240-1247.
105. Odashiro T., Komori K., Ishii T., Okadome K., Sugimachi K.: Comparison of endothelial function between in situ and reversed vein graft: Differences in endothelium-dependent responses. *Surgery* 1995;117:179-188.
106. Oláh V.A., Békesi A., Tóth A., Kovács I, Balla G.: Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in leukaemic children during high-dose methotrexate therapy. *Haematologia* 1995;26:151-157.
107. Ortega Mateo A., de Artinano A.A.: Highlights on endothelins: a review. *Pharmacol. Res.* 1997;36:339-351.
108. Owens M.L., Lazarus H.M., Wolcott M.W., Maxwell J.G., Taylor J.B.: Allopurinol and hypoxanthine pretreatment of canine kidney donors. *Transplantation* 1974;17:424-427.
109. Pacher P., Nivorozhkin A., Szabó Cs.: Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol. Rev.* 2006;58:87-114.
110. Paller M.S., Hoidal J.R., Ferris T.F.: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Invest.* 1984;74:1156-1164.
111. Paller M.S.: Effect of neutrophil depletion on ischemic renal injury in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 1989;113:379-386.
112. Paller M.S., Schnaith E.J., Rosenberg M.E.: Purinergic receptors mediate cell proliferation and enhanced recovery from renal ischemia by adenosine triphosphate. *J. Lab. Clin. Med.* 1998;131:174-183.
113. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526.
114. Palmer R.M.J., Ashton D., Moncada S.: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-666.
115. Panes J., Perry M., Granger D.N.: Leukocyte-endothelial cell adhesion: avenues for therapeutic intervention. *Br. J. Pharmacol.* 1999;26:537-550.
116. Park K.M., Byun J-Y., Kramers C., Kim J.I., Huang P.L., Bonventre J.V.: Inducible nitric-oxide synthase is an important contributor to prolonged protective effects of ischemic preconditioning in the mouse kidney. *J. Biol. Chem.* 2003;29:27256-27266.
117. Parks D.A., Granger D.N.: Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am. J. Physiol.* 1986;250:G749-753.
118. Pócsi I., Taylor S.A., Richardson A.C., Aamlid K.H., Smith B.V., Price R.G: VRA-GlcNAc – Novel substrate for N-acetyl- β -D-glucosaminidase applied to assay of this enzyme in urine. *Clin. Chem.* 1990;36:1884-1888.

119. Reilly P.M., Schiller H.J., Bulkley G.B.: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other oxygen metabolites. *Am. J. Surg.* 1991;161:488-503.
120. Rezkalla S.H., Kloner R.A.: No-reflow phenomenon. *Circulation* 2002;105:656-662.
121. Rhoden E., Pereira-Lima L., Lucas M., Mauri M., Rhoden C., Pereira-Lima J.C., Zettler C., Petteffi L., Bello-Klein A.: The effects of allopurinol in hepatic ischemia and reperfusion: experimental study in rats. *Eur. Surg. Res.* 2000;32:215-222.
122. Rhoden E., Teloken C., Lucas M., Rhoden C., Mauri M., Zettler C., Bello-Klein A., Barros E.: Protective effect of allopurinol in the renal ischemia-reperfusion in uninephrectomized rats. *Gen. Pharmacol.* 2000;35:189-193.
123. Riaz A.A., Wan M.X., Schafer T., Dawson P., Menger M.D., Jeppsson B., Thorlacius H.: Allopurinol and superoxide dismutase protect against leucocyte-endothelium interactions in a novel model of colonic ischaemia-reperfusion. *Br. J. Surg.* 2002;89:1572-1580.
124. Riera M., Herrero I., Torras J., Cruzado J.M., Fatjo M., Lloberas N., Alsina J., Grinyo J.M.: Ischemic preconditioning improves postischemic acute renal failure. *Transplant. Proc.* 1999;31:2346-2347.
125. Róth E.: Oxygen free radicals and their clinical implications. *Acta Chir. Hung.* 1997;36:302-305.
126. Rubanyi G.M., Polokoff M.A.: Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology and pathophysiology. *Pharmacol. Rev.* 1994;46:325-415.
127. Rundles R.W.: Effects of allopurinol on 6-mercaptopurine therapy in neoplastic diseases. *Ann. Rheum. Dis.* 1966;25:655-656.
128. Rundles R.W.: Allopurinol in gouty nephropathy and renal dialysis. *Ann. Rheum. Dis.* 1966;25:694-696.
129. Sakurai T., Yanagisawa M., Takuwa Y., Miyazaki H., Kimura S., Goto K., Masaki T.: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990;348:732-735.
130. Sapienza P., Edwards J.D., Mingoli A., McGregor P.E., Cavallari N., Agrawal D.K.: Ischemia-induced peripheral arterial vasospasm role of alfa1- and alfa2-adrenoceptors. *J. Surg. Res.* 1996;62:192-196.
131. Shimokawa H., Yasutake H., Fujii K., Owada M.K., Nakaike R., Fukumoto Y., Takayanagi T., Nagao T., Egashira K., Fujishima M., Takeshita A.: The importance of the hyperpolarizing mechanism increases as the vessel size decreases in endothelium-dependent relaxations in rat mesenteric circulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996;28:703-711.
132. Siegel G., Schnalke F., Stock G., Grote J.: Prostacyclin, endothelium-derived relaxing factor and vasodilatation. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.* 1989;19:267-270.
133. Smyth E.M., Fitzgerald G.A.: Human prostacyclin receptor. *Vitam. Horm.* 2002;65:149-165.
134. Sobey C.G., Dalipram R.A., Dusting G.J., Woodman O.L.: Impaired endothelium-dependent relaxation of dog coronary arteries after myocardial ischaemia and reperfusion: prevention by amlodipine, propranolol and allopurinol. *Br. J. Pharmacol.* 1992;105:557-562.
135. Southard J.H., Marsch D.C., McAnulty J.F., Belzer F.O.: Oxygen-derived free radical damage in organ preservation: activity of superoxide dismutase and xanthine oxidase. *Surgery* 1987;101:566-570.
136. Southorn P.A., Powis G.: Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. II. Involvement in human disease. *Mayo Clin. Proc.* 1988;63:381-408.
137. Stocks J., Gutteridge J.M.C., Sharp R.J., Dormandy T.L.: Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids. *Clin. Sci. Mol. Med.* 1974;47:215-222.
138. Sukalski K.A., LaBerge T.P., Johnson W.T.: In vivo oxidative modification of erythrocyte membrane proteins in copper deficiency. *Free Rad. Biol. Med.* 1997;22:835-842.
139. Summers W.K., Jamison R.L.: The no reflow phenomenon in renal ischemia. *Lab. Invest.* 1971;25:635-643.
140. Szabó Cs., Zingarelli B., O'Connor M., Salzman A.L.: DNA strand breakage, activation of poly(ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity in macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996;93:1753-1758.
141. Szabó Z., Mikó I., Pintér J., Furka I.: A vénás hypothermia klinikai alkalmazhatósága. *Urol. Nephrol. Szle.* 1985;12:55-60.

142. Szalay L., Kaszaki J., Nagy S., Boros M.: The role of endothelin-1 in circulatory changes during hypodynamic sepsis in the rat. *Shock* 1998;10:123-128.
143. Szentmiklósi A.J., Ujfalusi A., Cseppentő Á.: Adenosine receptors mediate both contractile and relaxant effects of adenosine in main pulmonary artery of guinea pigs. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 1995;351:417-425.
144. Takaoka M., Kuro T., Matsumura Y.: Role of endothelin in the pathogenesis of acute renal failure. *Drug News Perspect.* 2000;13:141-146.
145. Thompson A., Valeri C.R., Lieberthal W.: Endothelin receptor A blockade alters hemodynamic response to nitric oxide inhibition in rats. *Am. J. Physiol.* 1995;269:H743-748.
146. Thornton M.A., Winn R., Alpers C.E., Zager R.A.: An evaluation of the neutrophil as a mediator of in vivo renal ischemic-reperfusion injury. *Am. J. Pathol.* 1989;135:509-515.
147. Tiefenbacher C.P.: Tetrahydrobiopterin: a critical cofactor for eNOS and a strategy in the treatment of endothelial dysfunction? *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2001;280:H2484-2488.
148. Tóth K., Juricskay I.: Rheologiai alapfogalmak. In: Bernát S. I., Pongrácz E. (eds): *A klinikai haemorheologia alapjai.* Kornétás Kiadó, Budapest, 1999. pp. 13-24.
149. Uluoglu C., Timlioglu O.: Endothelium-dependent vasodilation in the isolated rabbit kidney following in vivo and in vitro ischaemia and reperfusion: effects of antagonizing platelet activating factor (PAF). *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 1999;360:324-330.
150. Unal D., Yeni E., Erel O., Bitiren M., Vural H.: Antioxidative effects of exogenous nitric oxide versus antioxidant vitamins on renal ischemia reperfusion injury. *Urol. Res.* 2002;30:190-194.
151. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K., Masaki T.: Endothelin: a novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;322:411-415.
152. Yang C.S., Tsai P.J., Chou S.T., Niu Y.L., Lai J.S., Kuo J.S.: The roles of reactive oxygen species and endogenous opioid peptides in ischemia-induced arrhythmia of isolated rat hearts. *Free Rad. Biol. Med.* 1995;18:593-598.
153. Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J., Telser J.: Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell Biochem.* 2004;266:37-56.
154. Vanhoutte P.M.: *Endothelial dysfunction and vascular disease. Endothelium nitric oxide and atherosclerosis.* Futra Publishing Co. Inc., Armonk, New York, 1999.
155. Venkatachalam M.A., Bernard D.B., Donohoe J.F., Levinsky N.G.: Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2, and S3 segments. *Kidney Int.* 1978;14:31-49.
156. Weed R.I., La Celle P.L., Merrill E.W.: Metabolic dependence of red blood cell deformability. *J. Clin. Invest.* 1969;48:795-809.
157. Welbourn C.R.B., Goldman G., Paterson I.S., Valeri C.R., Shepro D., Hechtman H.B.: Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: Central role of the neutrophil. *Br. J. Surg.* 1991;78:651-655.
158. Weight S.C., Bell P.R., Nisholson M.L.: Renal ischemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.* 1996;83:162-170.
159. Weight S.C., Furness P.N., Nicholson M.L.: New model of renal ischemia-reperfusion injury for comparative functional, morphological and pathophysiological studies. *Br. J. Surg.* 1998;85:1669-1673.
160. Willgoss D.A., Zhang B., Gobe G.C., Kadkhodae M., Endre Z.H.: Repetitive brief ischemia: intermittent reperfusion during ischemia ameliorates the extent of injury in the perfused kidney. *Ren. Fail.* 2003;25:379-395.
161. Willinger C.C., Schramek H., Pfaller K., Pfaller W.: Tissue distribution of neutrophils in postischemic acute renal failure. *Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1992;62:237-243.
162. Wood J.G., Yan Z.Y., Zhang Q., Cheung L.Y.: Ischemia-reperfusion increases gastric motility and endothelin-1-induced vasoconstriction. *Am. J. Physiol.* 1995;269:G524-31.
163. Zimmerman B.J., Granger D.N.: Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sci.* 1994;307:284-292.
164. Zwemer C.F., Shoemaker J.L. Jr., Hazard S.W. 3rd, Davis R.E., Bartoletti A.G., Phillips C.L.: Hyperoxic reperfusion exacerbates postischemic renal dysfunction. *Surgery* 2000;128:815-821.

7.2. Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények

1. **Pető K.**, Oláh V.A., Bráth E., Németh N., Gulyás A., Szilasi M., Sárvári M., Furka I., Mikó I.: Ischaemia- reperfüziós vesekárosodás és az Allopurinol védő hatásának kimutatása vizelet NAG követésével. *Magy. Seb.* 2005;58:134-137.
2. Németh N., Lesznyák T., Szokoly M., Bráth E., **Pető K.**, Szabó Gy., Gulyás A., Kiss F., Imre S., Furka I., Mikó I.: A haemorheologiai vizsgálatok jelentősége kísérletes végtagi ischaemia-reperfüziós károsodások kapcsán. *Magy. Seb.* 2005;58:144-147.
3. Németh N., Gulyás A., Bálint A., **Pető K.**, Bráth E., Kiss F., Furka I., Baskurt O.K., Mikó I.: Measurement of erythrocyte deformability and methodological adaptation for small animal microsurgical models. *Microsurgery* 2006;26:33-37. **IF: 0,812**
4. **Pető K.**, Németh N., Bráth E., Takács E.I., Baskurt O.K., Meiselman H.J., Furka I., Mikó I.: The effects of renal ischemia-reperfusion on hemorheological factors: preventive role of allopurinol. *J Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2007; *in press* **IF: 1,037**

7.3. Az értekezés témájával összefüggő egyéb in extenso közlemények

1. Mikó I., Kovács J., Schmidt E., **Pető K.**, Varga A., Furka I., Tóth Gy.: Protection of the renal artery in nephron-sparing surgery. I. Pathomorphological study. *Acta Chir. Hung.* 1997;36:233-235.
2. Mikó I., Csabina S., Hauck M., Kovács J., Schmidt E., **Pető K.**, Furka I., Varga A., Tóth G.: Protection of the renal artery in nephron sparing surgery. II. Arterial contractility investigations. *Acta Chir. Hung.* 1997;36:236-239.
3. Mikó I., Kovács J., Varga A., Tóth Gy., **Pető K.**, Furka I.: A vesearteria leszorítás következményei kísérletes veseműtételnél. Fény és elektronmikroszkópos vizsgálatok. *Magy. Urol.* 1997;9:127-130.
4. Mikó I., Csabina S., Hauck M., Kovács J., Schmidt E., **Pető K.**, Furka I., Varga A., Tóth Gy., Furka A.: Kísérletes adatok az arteria renalis leszorítását követő érkontraktilitási változásokhoz. *Magy. Urol.* 1997;9:131-135.

7.4. Egyéb közlemények

1. **Pető K.**, Nagy A., Hauck M., Mikó I., Furka I.: Investigation of microcirculatory changes in the duodenum of dogs caused by surgical suture materials. *Acta Chir. Hung.* 1997;36:274-276.
2. Gamal E.M., Metzger P., Szabó Gy., Bráth E., **Pető K.**, Oláh A., Kiss J., Furka I., Mikó I.: The influence of intraoperative complications on adhesion formation during laparoscopic and conventional cholecystectomy in an animal model. *Surg. Endosc.* 2001;15:873-877. **IF: 2,122**
3. Kerekes L., ifj. Sipka S., Dezső B., Furka A., **Pető K.**, Bráth E., Mikó I., Furka I.: Glükokortikoszteroid intravénás és intraductalis alkalmazásának hatásai kutyán kísérletesen előidézett acut pancreatitisben. *Magy. Seb.* 2002;55:225-228.

4. Csízy I., Furka I., Cserni T., Józsa T., Oláh Cs., **Pető K.**, Németh N., Mikó I.: Szöveti microcirculatio mérése kísérletes ureter-neoimplantatiók során. *Orv. Hetil.* 2003;44:129-132.
5. Mikó I., Serfőző J., Kappelmayer J., Sipka S., Furka A., Imre S., Galuska L., Kovács J., Bráth E., **Pető K.**, Németh N., Furka I.: Megmenthető-e a sérült lép? 20 év kutatási eredményei. *Magy. Seb.* 2005;58:69-73.
6. Gamal E.M., Szabó Gy., Nagy P., Bráth E., **Pető K.**, Oláh A., Tamás R., Kovács A., Mikó I.: A peritoneum és a „kémény effektus” szerepe a port site metastasis kialakulásában. Furka féle lép suspensióval végzett új állatkísérletes modell. *Magy. Seb.* 2005;58:89-92.
7. Szabó Gy., Mikó I., **Pető K.**, Bráth E., Nagy P., Gamal E.M.: Laparoszko­pos versus nyitott cholecystectomy: válaszreakciók a máj­ágyban. *Magy. Seb.* 2005;58:106-110.
8. Pap Szekeres J., **Pető K.**, Németh N., Cserni G., Furka I., Svébis M., Cserni T., Bráth E., Mikó I.: Extraabdominalisan átültetett cseplesz le­beny mikro­cirkulációjának intraoperatív vizsgálata laser Doppler flowmetria segítségével kutyán. *Magy. Seb.* 2005;58:116-119.
9. Szabó Z., Domján Zs., **Pető K.**, Mikó I., Papp F., Danka R.: Vese reszekciókkal szerzett tapasztalatainkról különös tekintettel a sebészi segédanyagok alkalmazására. *Magy. Seb.* 2005;58:125-128.
10. Lesznyák T., Németh N., Bráth E., **Pető K.**, Pekár Gy., Nagy D., Ács G., Dinya Z., Pap Szekeres J., Mikó I., Furka I.: A vese neovascularizációja a nagy­cseplesz felhasználásával omentális angiogén faktor előkezeléssel. *Magy. Seb.* 2005;58:129-133.
11. Mikó I., Németh N., Sipka S. Jr. Bráth E., **Pető K.**, Gulyás A., Furka I., Zhong R.: Hemorheological follow-up after splenectomy and spleen autotransplantation in mice. *Microsurgery* 2006;26:38-42. **IF: 0,812**
12. Fülöp L., Bányász T., Gergely Sz., Tóth B. I., Bíró T., Lőrincz I., Balogh Á., **Pető K.**, Mikó I., Nánási P.: Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs. *Acta Physiol. Scand.* 2006;188:163-171. **IF: 2, 865**
13. Szabó Gy., Mikó I., Nagy P., Bráth E., **Pető K.**, Furka I., Gamal E.M.: Adhesion formation with open vs laparoscopic cholecystectomy: An immunological and histological study. *Surg. Endosc.* 2007;21:253-257. **IF: 1,962**
14. Szentkereszty Zs., Pó­sán J., **Pető K.**, Sápy P., Boros M., Takács I., Sz. Kiss S.: Sternoclavicularis ízület fertőzésének sebészi kezelése. *Magy Seb.* 2007;60:514-517.
15. Mikó I., Bráth E., Németh N., Furka A., Sipka S. Jr., **Pető K.**, Serfőző J., Kovács J., Imre S., Benkő I., Galuska L., Sipka S., Ács G., Furka I.: Spleen autotransplantation. Morphological and functional follow-up after spleen autotransplantation in mice: a research summary. *Microsurgery* 2007;27:312-316. **IF: 0,757**

Megjelent in extenso közlemények impakt faktora összesen: 10,367

8. TÁRGYSZAVAK

vese ischaemia-reperfusio	renal ischemia-reperfusion
allopurinol	allopurinol
érreaktivitás	vascular reactivity
vizelet NAG aktivitás	urine NAG activity
haemorheologia	hemorheology
vörösvérsejt deformabilitás	red blood cell deformability

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt és elsősorban köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, *Prof. Dr. Mikó Irénnek*, a DEOEC Sebészeti Műtéttani Tanszék vezetőjének, akitől minden lehetőséget megkaptam, hogy kutatómunkát végezhessek, mind emberileg, mind szakmailag segített, támogatott, időt és fáradságot sohasem kímélve.

Hálás köszönettel tartozom *Prof. Dr. Furka Istvánnak*, aki állandó biztatásával, tanácsaival segítette munkámat és számtalanszor átsegített a kutatómunka holtpontjain.

Külön köszönet illeti *Dr. Németh Norbert* adjunktus urat, aki szakmai-baráti segítségével nagyban hozzájárult e munka megszületéséhez.

Köszönettel tartozom közvetlen munkatársaimnak: *Dr. Bráth Endének*, *Dr. Takács E. Ildikónak*, *Dr. Lesznyák Tamásnak*, *Gulyás Adrienn-nek*, valamint *Dr. Sefcsik István* főállatorvos úrnak.

Munkám nem jöhetett volna létre a *Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi munkatársának* szeretetteljes segítsége nélkül.

Ugyancsak köszönet illeti a kollaborációs partnereket, akik segítsége sokat jelentett munkám elkészítésénél: *Dr. Oláh V. Annát* az antioxidáns aktivitás és NAG vizsgálatokhoz, *Dr. Kovács Juditot* a szövettani vizsgálatokhoz és *Dr. Szentmiklósi Józsefet* az érreaktivitási vizsgálatokhoz nyújtott segítségéért.

Végül, de nem utolsósorban hálámat fejezem ki *Szüleimnek*, *Férjemnek*, *Gyermekeimnek*, türelmükért és a tanulmányaim során nyújtott lelki támogatásukért, mely nélkül ez a munka nem születhetett volna meg.

10. FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények másolata.