

**EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

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

**Dr. Pető Katalin**



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

**Debrecen**

**2007**

**EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**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 Műtéttani Tanszék**

**Debrecen**

**2007**

## 1. BEVEZETÉS

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

A klinikai gyakorlatban a *vese ischaemia-reperfüziós károsodása* elkerülhetetlen következménye lehet számos kórállapotnak és műtéti beavatkozásnak is. Lehet általános hypoperfusio és a keringés ezt követő helyreállításának következménye szívmegállást követő újraélesztés, shockos állapot kapcsán, de okozhatja lokális hypoperfusio is hasi traumák esetében. Előfordulhat minden olyan beavatkozás során, mely az aorta teljes keresztmetszetű leszorítását igényli az arteria renalis eredése felett.

Meleg- és hideg ischaemiás, illetve reperfüziós károsodásokkal lehet számolni vesetransplantatio során is. A különböző típusú vese resectiók esetén (egysíkú vagy ékalakú resectiók, longitudinalis nephrotomia), vesedaganat eltávolítása kapcsán 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-reperfüziós károsodások lehetőségét. 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 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. 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 pathomechanizmusának 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.

Ezek egyike a szabadgyök termelésben kulcsszerepet játszó xantin-oxidáz gátlószere, az *allopurinol*, melynek ischaemia-reperfusió károsodásokra gyakorolt kedvező hatását már számos kísérlet bebizonyította. Olyan irodalmi hivatkozást azonban nem találtunk, mely speciálisan a leszorított erekre, így az arteria renalisra vonatkozóan közölt volna adatokat 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 veseartéria időleges leszorítását követő ischaemia-reperfusió károsodások különböző módszerekkel kimutathatók és megfelelő kezeléssel csökkenthetőek, nemcsak a veseszövetben, hanem a leszorítás helyén az érfalban és az egész szervezetet érintő szisztémás változásokkal kapcsolatban is.

Végső 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.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Megfelelő artériás érmodell kidolgozása kutyák arteria renalisán, az ér teljes keresztmetszetének időleges leszorítását követő ischaemiás-reperfüziós 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 reperfüzio során.
5. A 45 perces ischaemia és az azt követő reperfüzio szisztémásan bekövetkező változásainak kimutatása haematologiai és haemorheologiai vizsgálatokkal, antioxidáns aktivitás és endothelin szint meghatározással.
6. Fenti modellen a leggyakrabban alkalmazott rutin vesefunkciós vizsgálatok (szérum urea és kreatinin meghatározás) mellett -az ischaemia-reperfüziós károsodások kimutatására eddig erre a célra nem alkalmazott módszer- a vizelet N-acetyl- $\beta$ -D-glukózaminidáz aktivitás meghatározása.

### **3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

#### **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 törvény előírásait betartva, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyeivel (25/1996 ÁTEB, 15/2000 DEMÁB, 6/2001 DEMÁB) végeztük.

##### *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. Tekintettel az érreaktivitási vizsgálatokra, a szokásos protokolltól eltérően a praemedicációban nem alkalmaztunk Atropint, nem használtunk Lidocain infiltrálást a vesehilus preparálása során és nem alkalmaztunk anticoagulans kezelést, mivel ez az eredményeket befolyásolhatta volna.

##### *Műtéti technika*

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

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-reperfusiós csoport+ hordozóanyag (I/R, n=8):*

A bal oldali arteria renalist (kettős arteria esetén mindkét ágat) leszorítottuk. 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 reperfusiós időszakot követően a bal arteria renalist érreaktivitás vizsgálatok céljából kimetszettük, majd az állatokat túlaltatással extermináltuk.

*II. Allopurinollal előkezelt ischaemia-reperfusiós 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/kg dózisban). 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 renalist kimetszettük, majd az állatokat extermináltuk.

*IV. Az allopurinollal előkezelt ischaemia-reperfusiós 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 strukturális 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<sup>®</sup>), anticoagulans kezelés nem történt.

*Mintavételi protokoll*

Az első kísérletsorozatban az érreaktivitási vizsgálatokhoz a mintavételek a 45 perces leszorítás felengedését követő 60 perces reperfusio után történtek.

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 reperfusio kezdetén (R0), a reperfusio 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 követően ismét a vena cephalicából. A vizeletmintákat fenti időpontokban hólyagkatéterezéssel nyertük. Szöveti mintákat a 3. és 7. postoperatív napon vettünk.

### **3.2. A veseartéria leszorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodások funkcionális és morfológiai vizsgálata az érfalban**

#### **3.2.1. Érreaktivitási vizsgálatok**

Vizsgálataink alapja a acetylcholin, adenzin és nitroglicerin koncentrációfüggő relaxáló hatásának kimutatása az eltávolított érgyűrűn *in vitro* körülmények között.

A preparátumokat a vizsgálatok megkezdéséig oxigenizált Krebs oldatban tartottuk. A kimetszett arteria renalis felszínéről az adventitiát óvatosan eltávolítottuk. Az artériából 2 mm széles csíkpreparátumot készítettünk, két kapillaritásmentes fonállal rögzítettük és kettősfalú, vertikális elrendezésű, 37°C-on termosztált, Krebs oldatot tartalmazó szervkádban függesztettük fel.

A tápoldatot 95% O<sub>2</sub> és 5% CO<sub>2</sub> keverékkel oxigenizáltattuk, ezáltal az oldat átlagosan 7,4 pH értéket vett fel. Az egyik fonalat acélhoroghoz, a másikat izometriás mechanoelektromos transzducer érzékelőjéhez rögzítettük.

A vascularis simaizom mechanikai változásait poligráfon regisztráltuk. Megfelelő ekvilibrációs idő elteltével noradrenalin kumulatív koncentráció hatásgörbéket vettünk fel. Az artériák 1 µM noradrenalin által előidézett prekontrakciója után növekvő koncentrációban (10 nmol/l-100 µmol/l) acetylcholint (muscarin agonista) adagoltunk a Krebs oldatba, majd az egyensúlyi állapot eléréséig folyamatos átmosást végeztünk. Ezt követően a P<sub>1</sub> purinerg receptor aktivátor adenzint adtuk az oldathoz, melynek koncentrációja 1 µmol/l-1mmol/l volt. Az újabb egyensúlyi állapot beállása után az 1 pmol/l-10 µmol/l koncentrációjú nitroglicerin (exogén NO donor)

koncentrációfüggő relaxáló hatását vizsgáltuk. Minden egyes farmakológiai kísérletünk végén kálium-kloridot juttatunk az oldatba, a dózishatás 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 kísérleti állatoknál 2 különböző időpontban történt mintavétel szövettani vizsgálatokhoz: a 3. és a 7. postoperatív napon, általában 4-4 állatot bevonva 1-1 időperiódushoz tartozó vizsgálatba.

Az eltávolított arteria renalis formalinban fixáltuk, paraffinba ágyaztuk, metszeteket készítettünk, melyeket haematoxylin-eosinnal festettünk.

### **3.2.3. A leszorított veseartéria apoptosiz vizsgálata**

A 3. és 7. postoperatív napon vett arteria renalis szövetmintákból 10%-os formaldehides fixálás és paraffinba ágyazás után 5  $\mu$ m vastagságú metszeteket készítettünk. 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.

### **3.3. A veseartéria lezorítását követő ischaemia-reperfúziós károsodások funkcionális és morfológiai változásainak vizsgálata a vesére vonatkozóan**

#### **3.3.1. Rutin vesefunkciós vizsgálatok**

Szérum kreatinin és szérum urea-nitrogén koncentráció meghatározása történt nátrium-citráttal alvadésgátolt 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- $\beta$ -D-glukózaminidáz meghatározása**

Meghatározását a Pócsi és munkatársai által módosított Horak-féle kolorimetriás módszerrel végeztük, VRA-GlcNAc szubsztrátot (PPR Diagnostics, London, UK) alkalmazva. Az enzimátikus 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<sub>i</sub>) alkalmaztuk.

#### **3.3.3. A veseparenchyma fénymikroszkópos szövettani vizsgálata**

A szövettani vizsgálatok az egyes csoportoknál a 3. és 7. postoperatív napon történtek, általában 4-4 állatot bevonva 1-1 időperiódushoz tartozó vizsgálatba.

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

### **3.4. A veseartéria lezorítását követő szisztémás ischaemia-reperfüziós károsodások vizsgálata**

#### **3.4.1. Haematologiai paraméterek meghatározása**

A vizsgálatokat Sysmex F-800 haematologiai automatával (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Japán), K<sub>3</sub>-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 Filtration elvén működő Carat FT-1 típusú filtrómeterrel (Carat Diagnostic Kft., Budapest) határoztuk meg a vörösvérsejtek deformálódási képességét. A Na-heparinnal anticoagulált vért 10 percig centrifugáltuk (2500 g), majd a plazmát és a 'buffy coat'-ot eltávolítottuk. A sejtuszpenziót kétszer mostuk foszfát pufferben. Az utolsó centrifugálást követően a felülúszó eltávolítása után a vörösvérsejt-szuszpenziót PBS-sel 5%-ra hígítottuk, majd 5 µm átlagos pórusátmérőjű polycarbonat filteren áramoltattuk át (Nuclepore<sup>®</sup>, Whatman Inc.) állandó (negatív) áramlási nyomás mellett (4 vízcm). A folyadékoszlop haladási (filtrációs) sebessége és a vörösvérsejt-szuszpenzió haematocritjának ismeretében a software meghatározza a kezdeti relatív filtrációs sebesség (Initial Relative Filtration Rate, IRFR) és a relatív sejt-tranzitidő (Relative Cell Transit Time, RCTT) paramétereket.

### **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  $90 \text{ s}^{-1}$  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 munkatársai által ajánlott matematikai formula segítségével:

$$TVV_{40\%/PV} = (TVV_{Htc}/PV)^{40\%/Htc}$$

ahol  $TVV_{40\%}$  = 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 mtsai módosított módszerével történt. A bovin agyhomogenizátumhoz adott szérum gátolja az adott idő alatt végbemenő lipidperoxidációt, melyet tiobarbitursavas színreakcióval fotometriásan követünk. A képződött TBA-reaktív aldehidek (pl. MDA, malondialdehid) 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) = (Abs. minta - Abs. vak) / (Abs. kontroll - Abs. vak)

Antioxidáns aktivitás (AOA) % = (1 - MAO) x 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 (Trasylo1 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 poliklonális 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 ± szórás (S.D.), illetve az átlag standard hibája (S.E.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 ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

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

#### 4.1.1. Az érreaktivitási vizsgálatok eredményei

	noradrenalin		acetylcholin		adenozin	nitroglicerín	
	$E_{max}$ (mN/mm <sup>2</sup> )	pD <sub>2</sub>	$E_{max}$ %	pD <sub>2</sub>	-log(IC <sub>50</sub> )	$E_{max}$ %	pD <sub>2</sub>
AP+I/R	13,6±1,3	6,3±0,2	75±15	7.4±0.1*	4.2±0.1 <sup>++</sup>	107±10	8.7±0.2
I/R	12,4±1,4	6,3±0,2	50±15	5.8±0.2 <sup>+</sup>	3.7±0.1 <sup>#</sup>	83±7	8.4±0.2
K+AP	12,5±1,0	6,2±0,2	48±14	6.5±0.3	3.5±0.1 <sup>#</sup>	99±11	9.0±0.2 <sup>+</sup>
ÁL	14,8±1,3	6,3±0,1	70±17	7.1±0.4	3.6±0.1	93±6	8.2±0.2

átlag±S.E.; p<0,05: \* vs I/R; + vs ÁL; p<0,01: ++ vs ÁL; # vs AP+I/R

A noradrenalin koncentráció-hatás görbék értékelése alapján azt találtuk, hogy ischaemia-reperfúziót követően az  $\alpha$ -adrenerg receptor mediált válaszok nem károsodtak, a dózis-hatás görbék az egyes csoportok között nem mutattak szignifikáns eltéréseket. Az allopurinol az  $\alpha$ -adrenerg receptor érzékenységet sem normoxiában, sem ischaemia-reperfúziót követően nem befolyásolta.

Az acetylcholin által kiváltott relaxáció az ér endothel funkciójának fontos markere. Az acetylcholin (muscarin receptor agonista) által kiváltott relaxációra jellemző, hogy a leszorítást követően az I/R csoportban az acetylcholin érzékenység erősen csökkent -majdnem 2 nagyságrenddel az áloperált csoporthoz képest (50±15; 70±17)- ezt úgy tűnik, az allopurinol előkezelés kivédi, hiszen az AP+I/R csoportban gyakorlatilag azonos paramétereket mértünk (75±17).

Az adenzin (P<sub>1</sub> purinoceptor aktivátor) receptor érzékenység 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<sub>1</sub> purinoceptor érzékenységet (3.6±0.1; 4.2±0.1). Ez egy ischaemia-specifikus jelenségnek fogható fel, azaz az allopurinol csak hypoxiában hat, normoxiában nem.

A nitroglicerinnel (exogen NO donor) indukált relaxáció esetében, ellentétben az adenzinnal, az allopurinol csak normoxiás körülmények között befolyásolta a NO által kiváltott relaxációt ( $4,2\pm 0,1$ ). A K+AP csoport dózis-hatás görbéjének balrattolódása figyelhető meg, a  $pD_2$  értékek emelkedésével párhuzamosan.

#### **4.1.2. A lezorított veseartéria fénymikroszkópos szövettani vizsgálatának eredményei**

A 3. *postoperativ napon* történt mintavétel során az arteria renalis vizsgálatánál az I/R csoportban az endothelsejtek változó nagyságát, a lamina elastica és az elastica interna ellapulását, sőt helyenként megszakadást és göcos subendotheliális fibrosist, néhol necrosist tapasztaltunk, mely nem, illetve enyhébb formában jelentkezett az allopurinollal kezelt csoportban.

Az I/R csoport 7. *postoperativ napon* vett mintáiban leukocytá margináció, simaizomsejt és endothel sejt proliferáció volt látható, míg az AP+I/R csoportban említésre méltó változásokat nem találtunk.

#### **4.1.3. A lezorított veseartéria apoptózis vizsgálatának eredményei**

Kórosnak tekinthető a simaizomsejtek és az adventitia ereinek endothelsejt apoptosisa.

Az I/R csoportban már a 3. *postoperativ napon* megjelent látóterenként 1-2 apoptosissal elhaló simaizomsejt a mediában és néhány érendothelsejt az adventitiában. Az apoptotikus sejtek száma kissé nőtt a 7. *postoperativ napon*. Az allopurinollal előkezelt csoportban a műtétet követő 3. *postoperativ napon* nem, de a 7. napon elszórtan láthatók voltak apoptotikus simaizomsejtek és adventitiális érendothelsejtek. Az áloperált csoportban a metszetekben fiziológiás mértékű apoptózis észlelhető. A látóterenkénti apoptotikus sejtek számában szignifikáns különbség volt az I/R és AP+I/R csoportok közt a 3. *postoperativ napon*.



## **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 az I/R csoport esetében szignifikáns mértékben emelkedtek a reperfusio 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 AP+I/R csoport esetében a postoperatív 1. napot kivéve valamennyi vizsgált időpontban alacsonyabbak voltak az I/R 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 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 az I/R csoportban a korai reperfúziós időszakban észlelhető nem szignifikáns csökkenést követően az 1. postoperatív napon szignifikáns mértékben 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 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 értékeket mértünk ( $65\pm 11$  és  $61\pm 13\%$ ). Az áloperált csoportnál a reperfusio megindulásától kezdve a 2. műtét utáni napig folyamatosan magasabb értékeket mértünk, majd a 3. postoperatív naptól csökkenést figyelhattunk meg., mely az 5. napon szignifikánssá vált az alapértékhez képest ( $59\pm 22\%$ ).

#### **4.2.2. Vizelet N-acetyl- $\beta$ -D-glukózáminidáz aktivitás változások**

Az I/R csoport esetében jelentős NAG<sub>i</sub> 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<sub>i</sub> értékhez képest az arteria renalis felengedésének időpontjában, továbbá a reperfusio első és második órájában, valamint a műtét utáni első napon.

Az 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 esetében az alapértékhez képest szignifikáns eltérés egyik időpontban sem volt észlelhető.

Az áloperált csoporthoz viszonyítva szignifikánsan magasabb NAG<sub>i</sub>-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 AP+I/R csoportéval, a reperfusio első és második órájában az I/R csoportban szignifikánsan magasabb értékeket találtunk.

#### **4.2.3. Szöveti változások a veseparenchymában**

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

Az I/R csoport 7. postoperatív napon készült metszeteiben interstitialis fibrosist találtunk és tágult corticalis tubulusok voltak láthatók, bennük szövettörmelékekkel.

### **4.3. A veseartéria lezorítását követő szisztémás ischaemia-reperfüziós károsodások**

#### **4.3.1. Haematologiai paraméterek változásai**

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 ( $11,1 \pm 0,4$  g/l, illetve  $11,2 \pm 1,5$  g/l vs alap).

A *haematocrit* értékek hasonló módon változtak, bár a különbség nem volt szignifikáns.

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 hasonlóan, de nem szignifikánsan.

A *fehérvérsejt* szám az 1. postoperatív napra minden csoportnál szignifikáns mértékben 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.

#### **4.3.2. Haemorheologiai paraméterek változásai**

##### **4.3.2.1. Vörösvérsejtek deformabilitásának változásai**

A műtét előtt mért *RCTT* alapértékek közel azonosak voltak a kísérleti csoportokban, míg a reperfüzio 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 visszatértek a preoperatív szint közelébe, majd az AP+I/R csoportnál a 1-3. postoperatív napon mutakozó 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 AP+I/R 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 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 alapértékeknel ( $p<0,001$  mindkét esetben). Az 1. és 2. postoperatív napokon az *IRFR* értékek kismértékű, nem szignifikáns csökkenése látható, amely az *RCTT* értékek esetében nem volt észlelhető.

#### **4.3.2.2. Teljes vér- és plasma viszkozitás változások**

A  $90\text{ s}^{-1}$  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 ( $7,21\pm 1,13$  mPas,  $p=0,033$ ; illetve  $7,17\pm 1,33$  mPas,  $p=0,036$ ). A 3-7. műtét utáni napokon a teljes vér viszkozitás értékek valamennyi csoport esetében mérsékelten, bár nem szignifikáns mértékben csökkentek, amelyet a haematocrit értékek hasonló változása kísért. A 40%-os

haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás értékek, valamint a plasma viszkozitás értékek emelkedtek az 1-7. postoperatív napokon.

#### **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.

#### **4.3.3. Szérum antioxidáns aktivitás változások**

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

Az I/R csoport esetében az antioxidáns aktivitás a műtét előtti értékhez képest szignifikánsan alacsonyabb volt a reperfusio 30. percében ( $69 \pm 27\%$  vs  $100\%$ ) 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 AP+I/R csoporthoz viszonyítva szignifikánsan kisebb volt az antioxidáns aktivitás ( $83 \pm 25$  vs  $65 \pm 20\%$ ).

Az AP+I/R csoport 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 csoportnál nem volt szignifikáns változás.

#### **4.3.4. Plasma endothelin szint változások**

Az I/R csoportban a plasma endothelin szint a reperfusio kezdetén szignifikánsan magasabb volt az áloperált 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  $2,23 \pm 0,17$ ). Az áloperált csoportnál nem tapasztaltunk szignifikáns változást.

## **5. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEGZÉSE**

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 vese szövetben, hanem a leszorított érben is kialakulnak az ischaemia-reperfúzióval 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 adenzin-indukált relaxációhoz (endothel-függő). A nitroglicerín-indukált (endothel-független) relaxáció gyakorlatilag nem változott.
4. A veseartériák morfológiai vizsgálata minimális elváltozást 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- $\beta$ -D-glukózaminidáz szintjének meghatározása -melyet a vese ischaemia-reperfúziós 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 reperfúzió 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-reperfúziós károsodások jelzésére, illetve az allopurinol 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 reperfúzió 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.

## **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 ischaemia-reperfusion on hemorheological factors: preventive role of allopurinol.  
J. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2007; *in press* **IF: 1,037**

## **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 veseműtéteknél. 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.

### **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-neoimplantációk 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 májagyban.  
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., Pósn 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**

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt és elsősorban köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, *Prof. Dr. Mikó Irénnek*, a DE OEC Sebészeti Műtéttani Tanszék vezetőjének, akitől minden lehetőséget megkaptam, hogy kutatómunkát végezhessenek, 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 segítségével nélkül.

Ugyancsak köszönet illeti a kollaborációs partnereket, akik segítségével 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.