

Ischaemias preconditionálás alkalmazása a májsebészetben. Az állatmodelltől a human alkalmazásig.

Doktori értekezés

Dr. Hahn Oszkár

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok
Gastroenterologia



Konzulens: Dr. Kupcsulik Péter, egyetemi tanár, az orvostudományok kandidátusa

Hivatalos bírálók: Dr. Mikó Irén, egyetemi tanár, az orvostudományok kandidátusa
Dr. Lengyel Gabriella, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szalay Ferenc, egyetemi tanár,
az orvostudományok doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Ondrejka Pál, egyetemi tanár,
az orvostudományok kandidátusa
Dr. Sándor József, egyetemi tanár,
az orvostudományok kandidátusa

Budapest

2014

3.5.2.2. Neutrofil granulocytak.....	32
3.5.2.3. CD4 lymphocytak.....	33
3.5.2.4. NKT sejtek.....	33
5.2.5. Hepatociták és sinus endothel sejtek.....	33
3.5.3. Az I-R károsodás jelvivő molekulái.....	34
3.5.3.1. Komplement rendszer.....	34
3.5.3.2. Citokinek.....	34
3.5.4. Az immunmechanizmus.....	35
3.5.4.1. Toll like receptorok (TLR).....	36
3.5.4.2. Receptor for advanced glycation end products (RAGE).....	37
3.5.5. A sinusoidális és hepatocita károsodás.....	37
3.5.5.1. Szabadgyökök.....	37
3.5.5.2. Szabadgyökök eliminálásáért felelős mechanizmusok: az antioxidáns rendszer.....	39
3.5.5.3. Porusok (Mitochondrial permeability transition - MPT).....	40
3.5.5.4. Ionháztartás felborulása.....	41
3.5.5.5. Nekrózis és apoptózis ischaemia-reperfúziós károsodások kapcsán..	41
3.5.5.5.1. Nekrózis.....	41
3.5.5.5.2. Apoptózis.....	42
3.5.5.5.3. Nekrózis, vagy apoptózis?.....	42
3.5.6. Genetikai változások-hosszútávú hatás (HIF1, NFkB).....	43
3.5.6.1. Hypoxia jelpálya, a HIF-1 szerepe.....	43
3.5.6.2. NFkB (nuklearis faktor kappa B) szerepe.....	44
3.5.7. Az I-R távoli szervi hatása.....	44
3.5.8. Az irreverzibilis károsodás fogalma és klinikai jelentősége.....	44
3.5.9. Az IR dinamikája.....	44
3.6. Az ischaemia-reperfúziós károsodást befolyásoló tényezők.....	47
3.6.1. Ischaemia hossza.....	47
3.6.2. Ischaemia "hőmérséklete": hideg-meleg ischaemia különbségek.....	47
3.6.3. Máj állapota.....	48
3.6.3.1. Tápláltsági állapot.....	48
3.6.3.2. A beteg életkora.....	48
3.6.3.3. Zsírmáj.....	48
3.7. Az I-R károsodás csökkentésének módszerei.....	49
3.7.1. Ischaemiás preconditionálás (IP).....	49
3.7.1.1. Az IP patomechanizmusa.....	49
3.7.1.1.1. Citokin termelés.....	49
3.7.1.1.2. Sejtenergetika - ATP preservatio.....	50
3.7.1.1.3. Ionhomeosztázis megőrzése.....	51
3.7.1.1.4. Oxidatív stressz.....	52
3.7.1.1.5. Mikrokeringés.....	52
3.7.1.1.6. Apoptózis gátlás.....	52
3.7.1.2. IP dinamikája.....	53
3.7.2. Ischaemias postconditionálás.....	56
3.7.3. Ischaemias perconditionálás (remote preconditioning).....	56
3.7.4. Kémiai (farmakológiai) módszerek.....	56

4. CÉLKITÚZÉS.....	59
4.1. Célkítúzés.....	59
4.1.1. Kérdések.....	59
4.2. A témaválasztás indoklása.....	59
5. MÓDSZEREK.....	61
5.1. Állatmodell kísérleti elrendezése, műtéttechnika.....	61
5.1.1. Az I. kísérlet műtéti elrendezése.....	61
5.1.2. A II. kísérlet műtéti elrendezése.....	62
5.2. Human vizsgálatok.....	62
5.2.1. A vizsgálat tervezése.....	62
5.2.2. Sebészi beavatkozás.....	63
5.3. Vizsgálati módszerek.....	63
5.3.1. Áramlásmérés laser Doppler flowmeterrel (állatmodell).....	63
5.3.2. CT-volumetria.....	66
5.3.3. ICG-mérés.....	67
5.3.4. Laboratóriumi vizsgálatok.....	67
5.3.5. Szövetteni vizsgálatok.....	68
5.3.6. Oxidatív stressz vizsgálata.....	69
5.3.6.1. Össz-scavanger aktivitás mérése luminometriával.....	69
5.3.6.2. Redukálóképesség meghatározása Oyaizu szerint.....	69
5.3.6.3. Szabad szulfhidril-csoportok meghatározása Sedlak módszere szerint.....	69
5.3.7. Posztoperatív szövödmények meghatározása.....	70
5.3.6. Alkalmazott statisztikai módszerek.....	70
6. EREDMÉNYEK.....	71
6.1. Állatkísérletek.....	71
6.1.1. Hemodinamikai paraméterek.....	71
6.1.2. Mikrocirkuláció laser Doppler flowmeterrel.....	71
6.1.3. Szövetteni feldolgozás.....	74
6.1.4. TNF- α szintek.....	76
6.1.5. Laboratóriumi vizsgálatok: seBi, ALT, LDH.....	76
6.1.6. Túlélés a 7. posztoperatív napon.....	77
6.1.7. Redox status.....	78
6.1.7.1 Luminometriás össz-scavanger aktivitás.....	78
6.1.7.2. Redukálóképesség.....	78
6.1.7.3 Szabad szulfhidril (SH) -csoportok meghatározása.....	78
6.2. Humán vizsgálatok.....	79
6.2.1. Beteg jellemzők.....	79
6.2.2. Műtéti jellemzők.....	80
6.2.3. CT-volumetria.....	81
6.2.4. ICG mérés.....	81
6.2.5. Laboratóriumi vizsgálatok (AST, ALT, bilirubin).....	81
6.2.6. Redox status vizsgálatok.....	83
6.2.7. Morbiditás, mortalitás.....	85
7. MEGBESZÉLÉS.....	87
8. KÖVETKEZTETÉSEK.....	91

8.1. Válaszok a feltett kérdésekre.....	94
8.2. Új megállapítások.....	96
9. ÖSSZEFOGLALÁS.....	97
10. SUMMARY.....	99
11. IRODALOMJEGYZÉK.....	100
12. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE.....	127
13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	129

2. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

a.	<i>Arteria</i>
ADP	<i>Adenozin-Bifoszfát</i>
ALT	<i>Alanin Aminotranszferáz</i>
ANH	<i>Akut Normovolemiás Hemodilutio</i>
ASE	<i>Aszkorbinsav ekvivalens</i>
AST	<i>Aszpartát Aminotranszferáz</i>
ATP	<i>Adenozin-Trifoszfát</i>
cAMP	<i>Ciklikus adenosin monofoszfát</i>
CASH	<i>Chemotherapy Associated Steato Hepatitis</i>
CVP	<i>Central Venous Pressure</i>
DAMP	<i>Danger associated molecular pattern</i>
DNS	<i>Dezoxiribonukleinsav</i>
eNOS	<i>Endothelialis nitrogén monoxid szintáz</i>
EDA	<i>Epidural Analgesia</i>
ER	<i>Endoplazmatikus retikulum</i>
ET	<i>Endothelin</i>
Gln	<i>Glutamin</i>
GLUT	<i>Glukoz transzporter</i>
GSH	<i>Redukált Glutation</i>
GSSG	<i>Oxidált Glutathion</i>
H₂O₂	<i>Hidrogén-Peroxid</i>
HGF	<i>Hepatocyte growth factor</i>
HClO	<i>Hypochlorsav</i>
HIF-1	<i>Hypoxia Inducible Factor-1</i>
HMGB	<i>High mobility group borsz</i>
HSP / HSPs	<i>Heat Shock Protein / Proteins</i>
IHPBA	<i>International Hepato Pancreato Biliary Association</i>
ICAM	<i>Intracellular Cell Adhesion Molecula</i>
ICG	<i>Indocyanid Green</i>
IFN γ	<i>Interferon γ</i>
IL	<i>Interleukin</i>
iNOS	<i>Indukálható NOS</i>
IP	<i>Ischaemiás Preconditionálás</i>
IPC	<i>Intermittent Portal Clamping</i>
I-R	<i>Ischaemia-Reperfúzió</i>
IVC	<i>Inferior vena cava</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal kináz</i>
LDF	<i>Laser Doppler Flowmeter</i>
LDH	<i>Laktát Dehidrogenáz</i>
MAPK	<i>Mitogén Aktivált Protein Kinázok</i>
MPTP	<i>Mitochondrial Permeability Transition Pore</i>
NAD	<i>Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid</i>
NADP	<i>Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Foszfát</i>
NADPH	<i>Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Foszfát hidrogén</i>

NFκB	<i>Nuklearis Faktor-κB</i>
NO	<i>Nitrogen monoxid</i>
NO₂	<i>Nitrogen dioxid</i>
N₂O₃	<i>Dinitrogen trioxid</i>
NOS	<i>Nitrogén Oxid synthase = NO-Szintáz</i>
NKT	<i>Natural Killer T cell</i>
O₂⁻	<i>Szuperoxid Anion</i>
ODFR	<i>Oxygen Derived Free Radicals</i>
OH[•]	<i>Hydroxil Gyök</i>
ONOO⁻	<i>Peroxynitrit</i>
PAF	<i>Platelet activating factor</i>
PI3K	<i>Foszfatidil inozitol 3 kináz</i>
PKC	<i>Protein Kináz C</i>
PLC	<i>Foszfolipáz C</i>
PM	<i>Plató Maximum</i>
RAGE	<i>Receptor for advanced glycation end products</i>
RLU	<i>Relative Light Unit</i>
RMI	<i>Reperfúziós Maximális Idő</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RT	<i>Reperfúziós Terület</i>
SIRS	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i>
SOD	<i>Szuperoxid Dizmutáz</i>
THVE	<i>Total hepatic vascular exclusion</i>
TLR	<i>Toll like receptor</i>
TNF-α	<i>Tumor Nekrózis Faktor-α</i>
UW	<i>Univesity of Wisconsin</i>
v.	<i>véna</i>
VEGF	<i>Vascular Endothel Growth Factor</i>

3. BEVEZETÉS

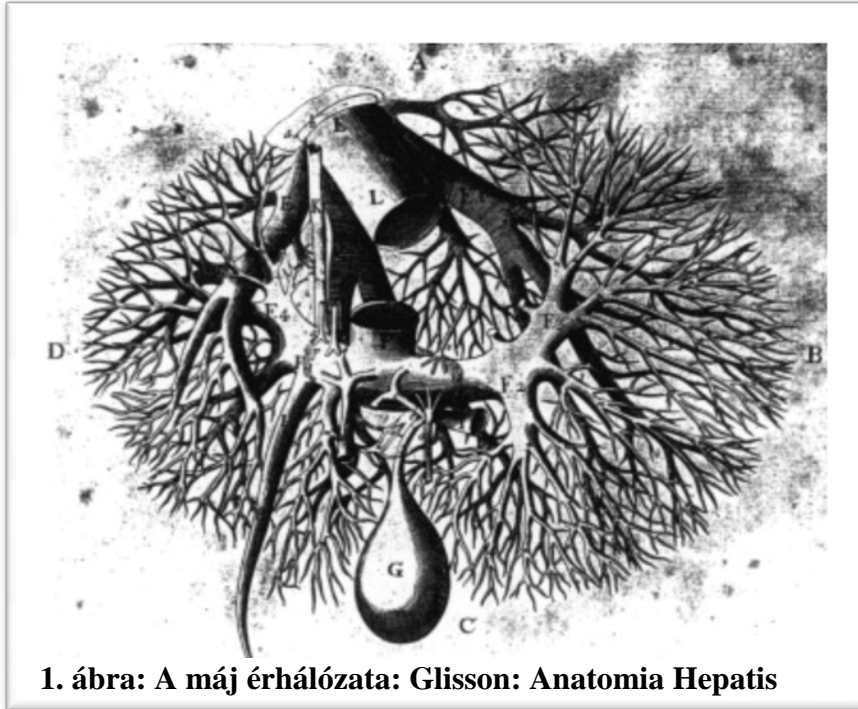
A malignus májtumorok többségénél a radikális reszekció az egyedüli hosszútávú túlélési esélyt nyújtó kezelési lehetőség. Bár Lortat-Jacob 1952-es első dokumentált tumor miatt végzett anatómiai jobb oldali hemihepatectomiája (1) óta a mortalitás drámaian csökkent, még a 70-es években is 15-20%-os halálozásról számoltak be (2). Ezen mortalitási adatok legalább 20%-ért az intra-, és posztoperatív vérzés volt felelős. A halálozáshoz minden bizonnyal hozzájárult a műtét alatti ischaemiás károsodás, mely vérzés esetén még kifejezettebb. A korai időszakban ezt a kérdést nem vizsgálták. Legalább ekkora jelentőségű az a tény, hogy az -ekkor még fel nem ismert- ischaemiás májkárosodás okozta műtéti kockázat miatt kiterjesztett reszekcióra nem, vagy csak korlátozott mértékben került sor.

Az utóbbi évtizedben –részben a sebészeti technika fejlődése, a csökkenő műtéti vérzés, illetve modern anesztézia miatt - a műtét utáni kórházi halálozás 5% alá esett. A viszonylag alacsony mortalitási adatok ellenére is szükséges törekedni az eredmények javítására, különös tekintettel a betegek növekvő életkorára, a reszekció kiterjesztésére, a különböző okokból károsodott (neoadjuváns chemoterápia okozta—steatohepatitis-CASH, obesitas-zsírmáj, aethylismus-cirrhosis) májakon is végzett műtétekre. A postreszekciós májelégtelenséget a reszekció után megmaradó máj mennyisége, minősége, illetve intraoperatív paraméterek, úgy mint vérzés mennyisége, valamint egyes aneszteziológiai eljárások (folyadékgyensúly fenntartása, CVP, Epidural analgesia) befolyásolja. Ma már egyértelmű evidenciák szólnak arról, hogy a perioperatív transzfúzió fokozza a tumor recidíva esélyét és így rontja a beteg hosszútávú túlélését is (3,4).

Sebészi szempontból a maradék máj megítélése, illetve a műtéti vérvesztés csökkentése fontos.

Utóbbi megvalósítására a XX. század elejétől vannak törekvések.

Az anekdotikus májreszekciók után az első lejegyzett tervezett májműtétet Langenbuch végezte 1888-ban. (5) A sebészek hamar megtanultak félni a máj vérzékenységétől. Elliot szerint (6) a máj annyira málékony és annyi véredény fut benne -ahogy azt Glisson jegyzeteiben (7) is látta (1. ábra)- hogy azt lehetetlen varni, így annak nagy sebeit ellátni képtelenség.



1. ábra: A máj érhalózata: Glisson: Anatomia Hepatis

Kousnetzoff és Pensky (8) azonban műtétek során a reszekciós vonaltól viszonylag távol a májba helyezett ligaturával a vérzés intenzitásának jelentős csökkenését észlelték. Az ő munkásságukat tanulmányozva Garre (9) kijelentette, hogy - ellentétben az addigi elképzelésekkel- a májban lévő erek éppúgy varrhatók

és lekötethetők, mint a szervezetben máshol lévő erek bármelyike. Ezt az eljárást napjainkban is alkalmazzuk, némileg módosított formában, mely során a máj pediculussait intraparenchymalisan kötjük le (10). További, talán ma már csak történelmi jelentőségű vérzéscsillapító módszerek a Garre által is alkalmazott májat összeszorító elasztikus fogó, vagy a szintén általa leírt lyukas lemez, melynek nyílásán keresztül a máj reszekciós felszínét öltetni lehetett, miközben a felszín többi részére kompressziót lehetett gyakorolni, de a mai napig is használjuk –főképp májtrauma kapcsán- a máj „becsomagolását, melynek alkalmazását szintén Garre javasolta.

A májreszekciók tervezhetősége és a vérvesztés elkerülése céljából a máj vérellátásának átmeneti, még a parenchyma átvágás előtti megszüntetése bizonyult célravezetőnek. A vérzés mennyisége ugyan jelentősen csökkent, a májreszekciók elvégezhetőkké váltak, de újabb problémával kellett szembenézni.

3.1. A "moderalt" ischaemia-reperfúzió klinikai alkalmazásának előzményei



2. ábra: H. Pringle ; Báron Jónás

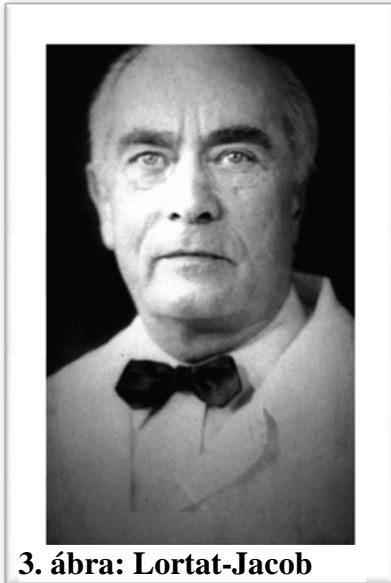
A máj „inflow” kirekesztésével történő vérzéscsillapítását Báron Jónás (2. ábra) 1876-ban magyar nyelven (11), majd 1908-ban Pringle (2. ábra) írta le (12). Utóbbi szerző publikációjában szereplő mind a 8 beteg meghalt műtét közben, vagy röviddel a műtét után.

Eredetileg Pringle folyamatos, legalább 1 órás kirekesztéseket alkalmazott, manapság azonban az ún. Pringle-manővert intermittálóan alkalmazzuk, általában 15 perc ischaemia után 5 perc reperfúzió történik.

„Later it occurred to me that if the portal vein had been compressed in the anterior boundary of the foramen of Winslow the hemorrhage might have been so far temporarily arrested as to permit a thorough treatment of the torn vessels.”- J.H. Pringle

Tulajdonképpen Wendell 1911-ben volt az első, aki a máj jobb lebenyét sikeresen távolította el hilusi képletek lekötésével (13), majd 1952-ben Lortat-Jacob (3. ábra) valós anatómiai májreszekciót végzett előzetes vaszkuláris kontroll után (1).

Később felismerték –először myocardiumon (14, 15)- hogy bármely szerv vérellátásának rövidebb-hosszabb idejű megszüntetése után a keringés helyreállítása a hypoxia okozta károsítást fokozza. Ezt ischaemia-reperfúziós (I-R) károsodásnak nevezzük. A felismerés után jelentős hazai (16-29) és nemzetközi (30, 31, 32) kutatások foglalkoztak az I-R pathomechanizmusának vizsgálatával, illetve az általa okozott károsodás csökkentésével.



3. ábra: Lortat-Jacob

A szív ischaemia tolerancia vizsgálataiban Murry és munkatársai korszakalkotó felfedezést tettek. 1986-ban publikálták tapasztalataikat, miszerint rövid ischaemiás epizódok alkalmazásával a myocardium toleránsabbá tehető egy hosszabb ischaemiás állapottal szemben (33). Az ilyen előkezelést ischaemias preconditionálásnak (IP) nevezték el. Hatását később nem csak szíven, hanem májon, vesén, vázizmon, bélén és a központi idegrendszeren is vizsgálták. Az IP tervezhető ischaemias állapot létrehozása előtt tűnik alkalmazhatónak. Ilyen tervezhető vértelen állapotot leggyakrabban vaszkuláris kirekesztés és transzplantáció során hozunk létre.

Az operálandó szervet tartósan vértelenség állapotába helyező, egyik leggyakrabban alkalmazott sebészi beavatkozás a májreszekció.

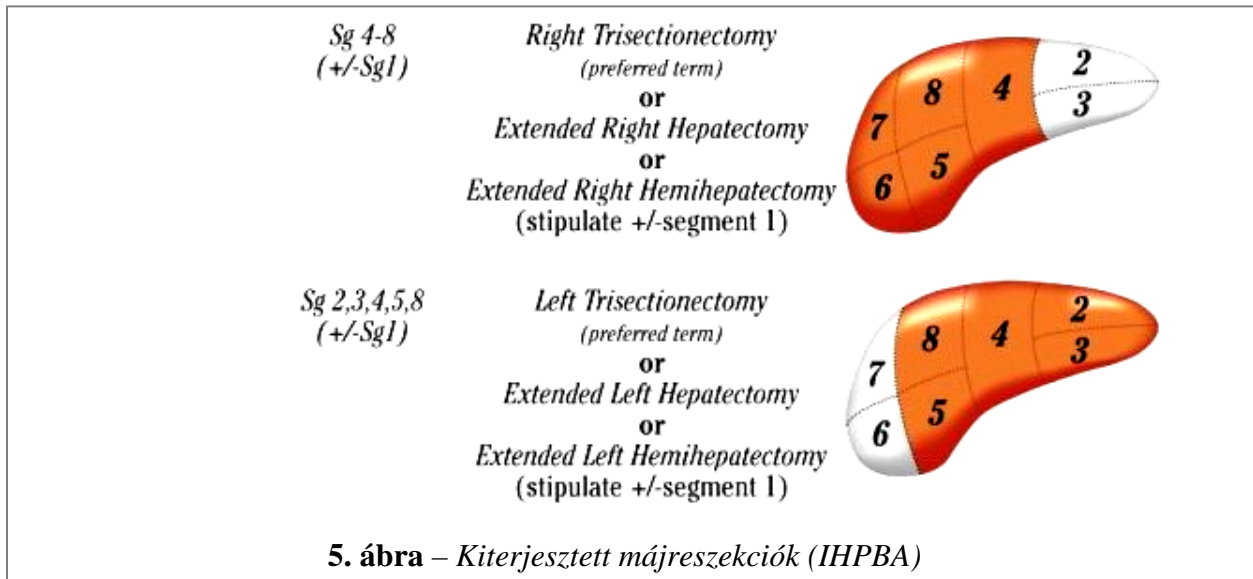
3.2. A májreszekció műtéti alapjai

3.2.1. Májreszekciók típusai – Nomenklatura

A májreszekciók két fő csoportja az un. típusos, anatómiai szegmenthatárokat tiszteletben tartó, illetve az un. atípusos, mely nem korlátozott lebeny, illetve szegmenthatárookra. Több mint tíz évvel ezelőtt az IHPBA (International-Hepato-Pancreato-Biliary Association) egységesítette a májreszekciók nomenklatúráját (34). Erre azért volt szükség, mert korábban nem létezett konszenzus a reszekciók elnevezését illetően.

4. ábra – Májreszekciók összefoglalása IHPBA klasszifikációja alapján

	Segment	Appropriate terminology for the resection
First-order division anatomy and resections	Right hemiliver (Sg 5–8) Left hemiliver (Sg 2–4)	Right hepatectomy Left hepatectomy
Second-order division anatomy and resections	Right anterior section (Sg 5, 8) Right posterior section (Sg 6, 7) Left medial section (Sg 4) Left lateral section (Sg 2, 3)	Right anterior sectionectomy Right posterior sectionectomy Left medial sectionectomy Left lateral sectionectomy
Third-order division anatomy and resections	Any one segment from 1–9	Segmentectomy
Resection of three sections	Any two contiguous segments not defined above Sg 4–8 (± Sg 1) Sg 2, 3, 4, 5, 8 (± Sg 1)	Bisegmentectomy Right trisectionectomy Left trisectionectomy

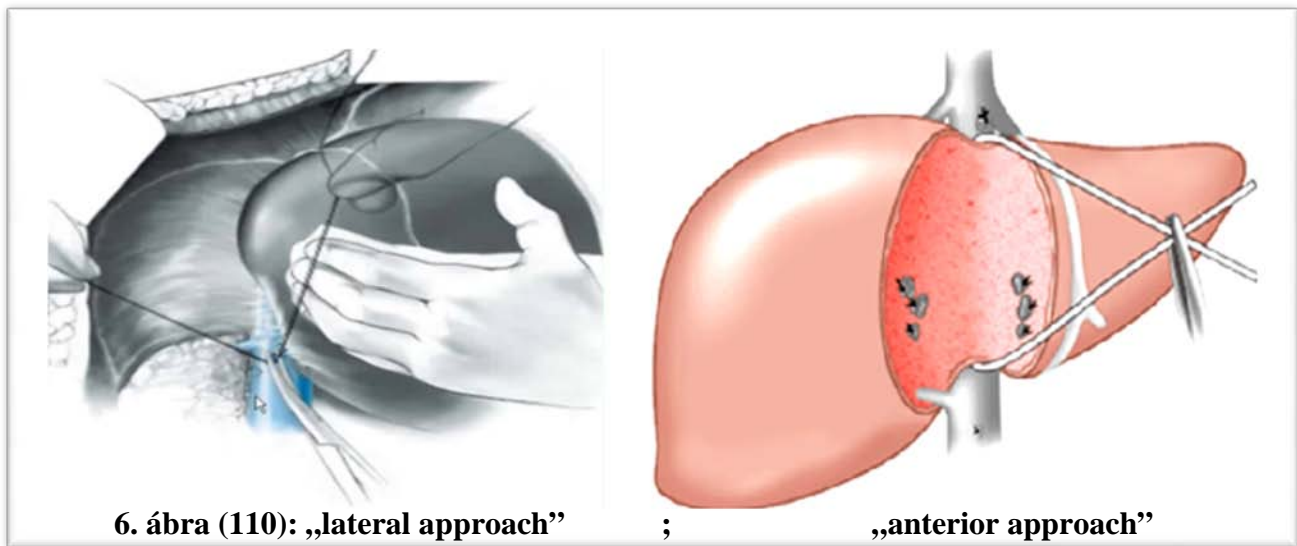


Bár talán a leginkább elfogadott nevezéktan (4, 5. ábra) a fenti, mégis újra és újra merül fel igény annak ilyen-olyan módosítására, így véglegesnek semmiképp sem tekinthető.

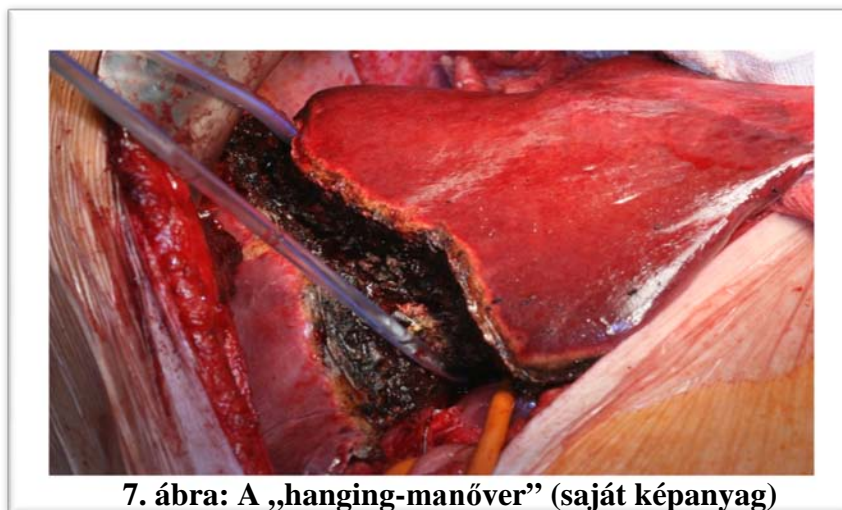
3.2.2. A lateralis és az elülső megközelítés (lateral, vagy anterior approach)

Többféle metszéstől lehet jó feltárást biztosítani májreszekciókhoz. Leggyakrabban subcostalis metszésen keresztül jutunk a hasüregbe.

Explorativ laparotomiát követően két lehetőségünk van a máj megközelítésére, a hagyományos un. lateralis megközelítés (6. ábra), illetve az újabb un. anterior approach (35) (6. ábra), vagyis elülső megközelítés.

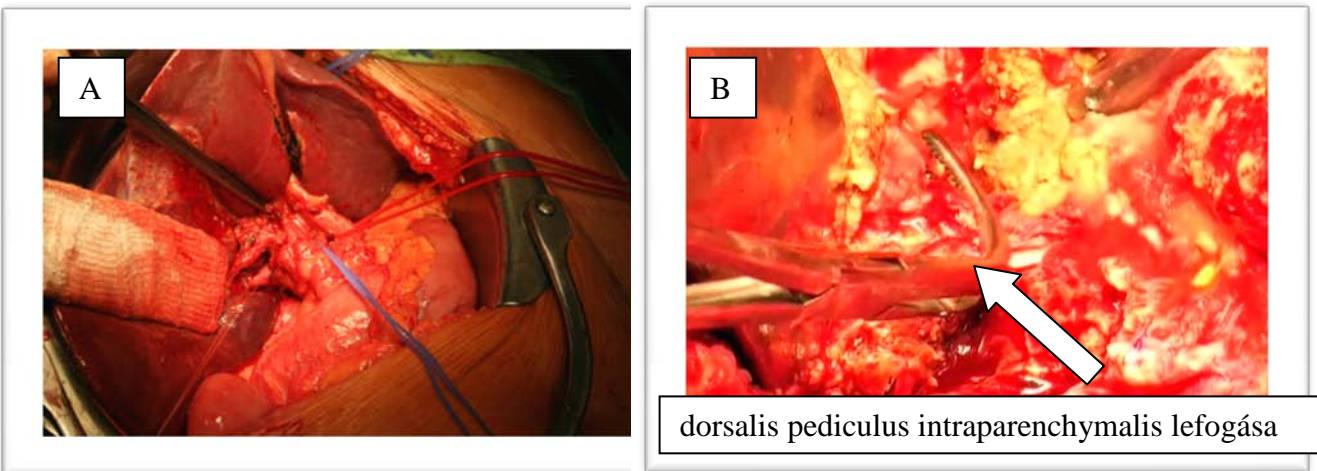


Utóbbit onkológiai szempontból jobb módszerek tartják (35), elvégzésekor az un. hanging-manőver (7. ábra) nagy segítség (36).

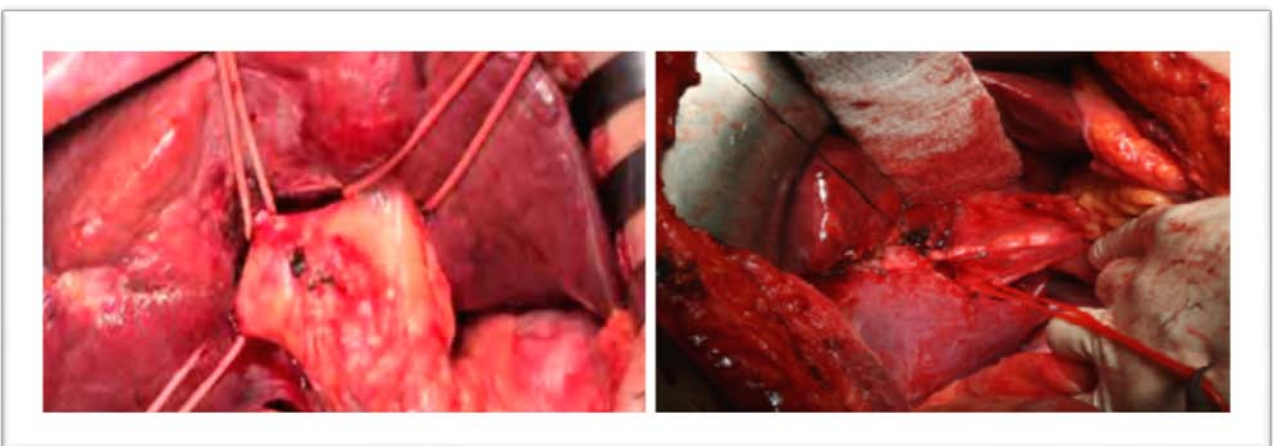


3.2.3. Az erek megközelítése

A májsebészek többsége használ valamiféle kirekesztést a parenchyma átvágásakor. Az anatómiai jobb, vagy bal lebeny eltávolításakor a reszekálendő lebeny afferens és efferens ereit le kell kötni és átvágni. Előbbiek megközelíthetők extra- (1, 42, 43, 44), illetve intrahepatikusan (37, 38) (8, 9, 10. *ábra*). A reszekálendő májlebens olykor a Rex Cantlie vonal (39,40,41) (10. *ábra*), vagy a ligamentum falciforme hepatis által meghatározható. Az eltávolítandó lebeny efferenciáját anatómiai reszekciók során általában extrahepatikusan kötjük le és vágjuk át. Az erek különféle kirekesztési formáit később részletezem, használatuk a megfelelő reszekciótól függően változhat (43,44).



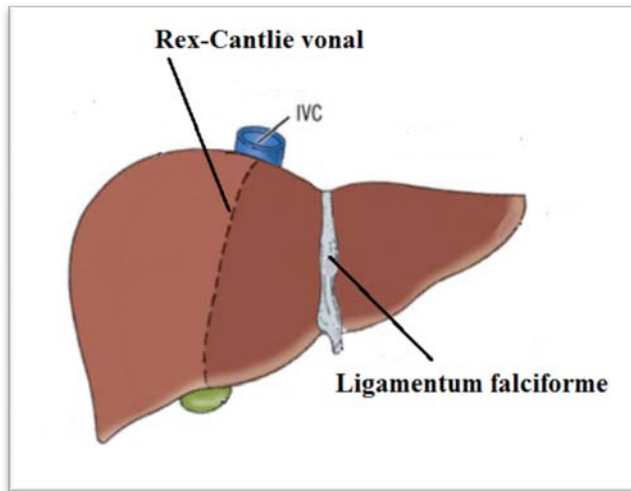
8. *ábra*: Az erek extra- (A), és intrahepatikus (B) ellátása (saját képanyag)



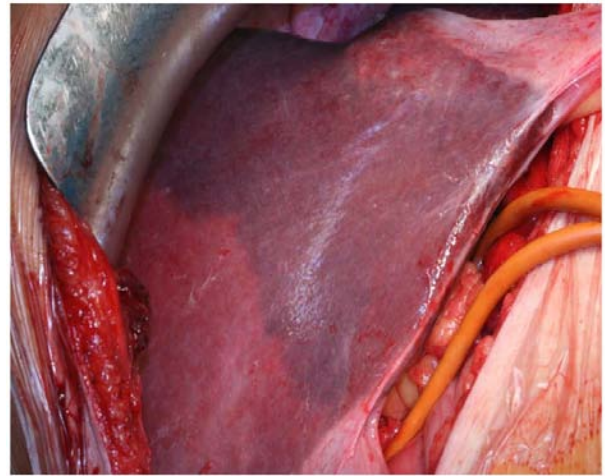
9. *ábra*: Glissonean pedicle approach (extrahepatikus extraligamentalis ellátás) (saját képanyag)

3.2.4. Parenchyma transzsekcio

Ha a transzsekcio előtt az eltávolítandó lebeny arteria hepatica és vena portae ágát lekötjük (akár pedicular approach során, akár extrahepatikusan) akkor a lebenyhatár és ennek megfelelően a reszekciós vonal kirajzolódik (11. ábra). Egyes, főképp a hilustól távol eső, szegmentek reszekciója esetén elülső megközelítésből végzett intrahepatikus kirekesztés, esetleg intrahepatikus ballon kirekesztés segítségével rajzolhatjuk, ki a reszekciós vonalat.



10. ábra: Rex-Cantlie vonal



11. ábra: Transzsekciónal (saját képanyag)

Non anatomicus reszekciónál erre nyilvánvalóan nincs lehetőség.

Amennyiben a transzsekcio előtt a lebeny, illetve a szegment vérellátását szelektíven nem szüntetjük meg, akkor egy anatómiai (ligamentum falciforme-jobb oldali trisegmentectomia), illetve egy "virtualis" vonalat (Rex-Cantlie vonal-hepatolobectomiák) követhetünk (10 ábra). A Glisson tok átvágása általában elektrokauterrel történik, a májparenchyma szétválasztása különféle módszerekkel lehetséges Pean-zúzás, CUSA, stb.(113-124)). A transzsekciónal keresztező, 1-2 mm-es ér és epeutakat electrocoagulatioval, a nagyobbakat lekötéssel, öltéssel, illetve egyéb készülékkel (un. vascular sealing systems) lehet ellátni (45, 46). Egy ideális májreszekció során kirekesztés nélkül lehetne vérvesztés mentesen operálni (44). Ha kirekesztés nélkül reszekálunk, akkor többnyire a transzsekciónal idő hosszabb lesz. Amennyiben a vérvesztés eléri a 20ml/kg-ot akkor valamilyen kirekesztést kell alkalmazni (45).

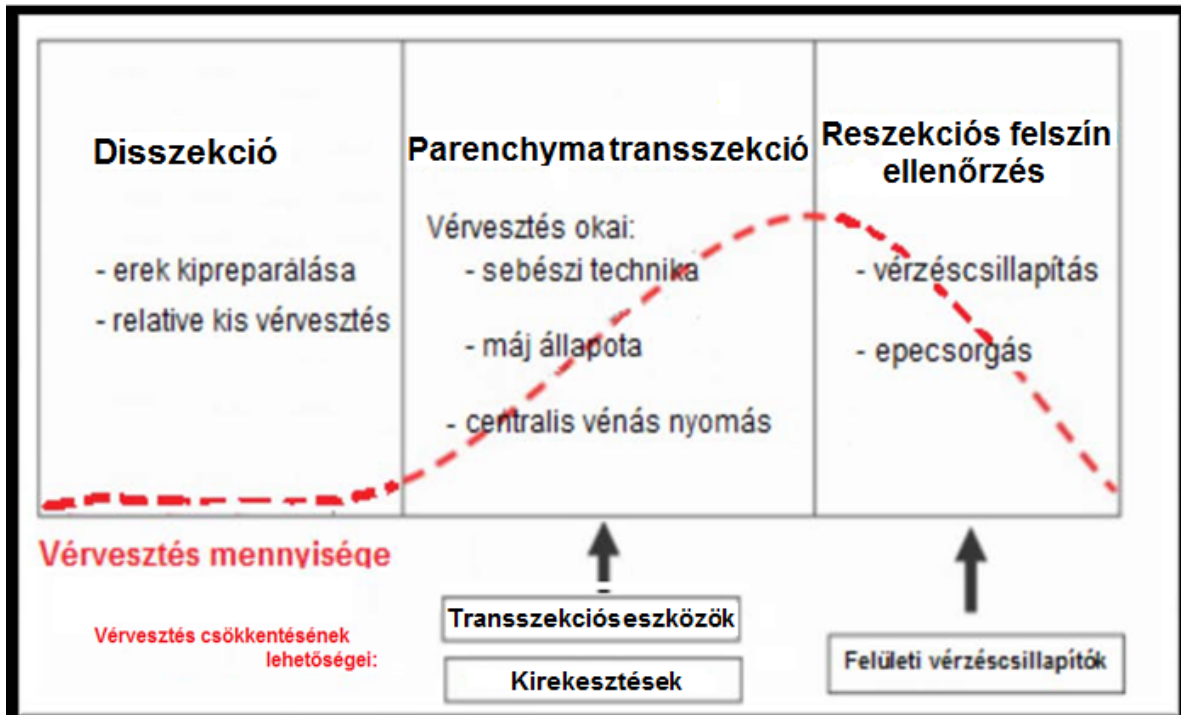
3.3. A májkárosodás műtéti okai

Májreszekciók során a májat két fő károsító hatás éri. Részben maga a sebészi reszekció (vérzés, különféle kirekesztések), illetve aneszteziológiai károsító hatást is megfigyelhetünk. Az aneszteziológiai károsító hatást részben egyes narkotikumok, illetve szisztémás és/vagy splanchnikus keringésváltozás okozza. Az egyes anesztetikumok májkárosító hatásának kifejtése nem tartozik a disszertáció témájába, azonban a máj hemodinamika műtét alatti változása okozta károsodás, illetve kivédésének lehetősége röviden ismertetésre kerül.

3.3.1. Sebészi károsítás

3.3.1.1. Vérzés

A műtét több periodusában kell vérvesztéssel számolni, így a máj mobilizálása, illetve a máj átvágása során (12. ábra). A reszekciós felszín vérzéscsillapítása a posztoperatív szövődmények csökkentése (posztoperatív vérzés, hematoma, tályog) miatt elengedhetetlen. A vérvesztés minimalizálása alapvető fontosságú, hiszen a vérvesztés maga a máj, a vesék keringését rontja, májelégtelenség, illetve veseelégtelenség alakulhat ki, a morbiditás és mortalitás független befolyásoló tényezője. Újabb adatok szerint amennyiben a vérvesztés miatt transfúzió is szükségessé válik, úgy a beteg hosszú távú túlélése is romlik, valószínűleg a generalizált immundiszfunkciós zavar miatt (56, 57).



12. ábra: A májreszekció alatti vérvesztés okai, illetve mennyisége (piros szaggatott vonal) (110)

3.3.1.2. Kirekesztés

Ahogy azt a fentiek során láthattuk a legnagyobb vérvesztésre a parenchyma átvágás során van esély. A műtét ezen periodusában alkalmazható a máj vérellátásának átmeneti megszüntetése (un. kirekesztés), melynek formáit az alábbiakban részletezem. A kirekesztéssel tehát csökkenthető a jelentős morbiditás és mortalitás fokozódást jelentő intraoperatív vérvesztés, azonban ischaemia-reperfúziós károsodást okoz.

3.4. Műteti májkárosodás kivédésének lehetőségei

3.4.1. Aneszteziológiai károsítás kivédése

A máj hemodinamikai stabilitásának biztosítása, a vérzés valószínűségének csökkentése (alacsony CVP biztosítása), valamint a transfúzió mennyiségének csökkentése (akut normovolaemias hemodilúció segítségével) a legfontosabb aneszteziológiai feladatok májreszekciók során.

3.4.1.1. Máj hemodinamika

A máj áramlását a beteg arteriális vérnyomása, vér szén-dioxid szintje, az intravasalis folyadék mennyisége, illetve a pozitív nyomású lélegeztetés, a kilégzés végi pozitív nyomás, a regionális anesztézia (pl. epiduralis érzéstelenítés-EDA) és pár volatilis anesztetikum is befolyásolja (47, 48, 49) és a gépi lélegeztetés maga is 16%-os májáramlás csökkenéssel jár (50). Az epiduralis érzéstelenítés (a meglehetősen szenzitív ICG-clearance vizsgálat szerint is) 25-35%-al csökkenti a májáramlást konstans cardiac output mellett is (51, 52). Ráadásul az EDA vérnyomás csökkenést okoz, melynek kompenzálására norepinephrint (esetleg származékát), illetve folyadéktöltést alkalmaznak. Előbbi további májáramlás csökkenést, utóbbi az alacsony CVP mellett végzett májreszekciót (ld. alább) teszi lehetetlenné (53). Több tanulmány szerint az epiduralis érzéstelenítés fokozza a transfúzió valószínűségét (58-62).

Ennek oka valószínűleg az EDA okozta sympaticolysis, mely simaizom relaxációt, így vénás kapacitancia növekedést okoz, melynek relatív hypotensio a következménye. Alacsony CVP reszekció mellett ez a további hypotensio a transfúziós küszöböt csökkenti, így a véradás valószínűsége csökken (63).

Fentiek miatt a nagyobb májsebészeti centrumokban kiterjesztett májreszekciók esetén nem használnak epiduralis érzéstelenítést, inkább az un. „patient controlled analgesia”-t részesítik előnyben morphiszármazékok adásával, természetesen a beteg társbetegségeinek és nem utolsósorban a maradék májszövet funkciójának figyelembevételével. Többben viszont az intra-, és posztoperatív időszakban is a műtéti terület helyi érzéstelenítőkkel történő infiltrálását végzik, mivel ez nem befolyásolja a hemodinamikát.

3.4.1.2. Centralis vénás nyomás, folyadékbevitel

A megfelelő, de nem eltúlzott folyadékbevitel alapvető fontosságú májreszekció során. Ennek megvalósítása a sebész, illetve az anesztezia közti szoros együttműködést igényli. A 0-5 Hgmm közötti CVP a parenchyma árvágása alatt elegendő szív töltőnyomást, így perctérfogatot, illetve szerv perfúziót biztosít, de a reszekciós felszínről és a vena hepaticából történő vénás visszafolyást is minimalizálja (63).

Korábban a várható jelentősebb vérvesztés miatt több szerző (64, 65) a preoperatív folyadékterápiát, eu-, vagy akár hypervolaemia elérését tartotta célravezetőnek.

Manapság inkább az az álláspont hódított teret, hogy mind a vena hepaticaknál, illetve a vena cavanál történő preparálás közben, mind a parenchyma átvágásakor az alacsony CVP előnyösebb. Előbbi esetén a nagyvénák túltöltöttsége falfeszülést okoz, így minimalis sérülésnél is jelentős vérzés, a fal továbbszakadása várható. Utóbbi esetén a reszekciós felszínből a vérzés igazoltan jelentősebb magas centralis vénás nyomás mellett végzett reszekcióknál (66, 67, 68). Fentiek alapján több tanulmány is igazolta, hogy alacsony CVP mellett elvégzett májreszekciók kisebb morbiditással járnak (67, 68).

3.4.1.3. Akut normovolaemiás hemodilutio (ANH)

Az alacsony CVP biztosítása mellett az akut normovolaemias hemodilutio a másik lehetőség vörösvértest veszteség elkerülése érdekében. Amennyiben “hígított vért” veszít a beteg, úgy a jelentős morbiditási aránynövekedést okozó transzfúzió mennyisége csökkenthető. A preoperatív időszakban a betegtől annyi vért vesznek, hogy elérje a 80mg/l hemoglobin szintet, majd kristalloid és albumin infúziókkal érik el az euvolaemiát (69, 70). Prospektív, randomizált, kontrollált tanulmányok igazolták, hogy az eljárás biztonságos és használatával elkerülhető az allogén transzfúzió (71, 72), hiszen szükség esetén a beteg saját vére adható vissza, mely mind morbiditás, mint hosszútávú túlélés tekintetében jobb, mint az allogén vér adása (57). Allogén transzfúzió lehetőleg csak excesszív vérvesztés okozta hemodinamikai instabilitás esetén végzendő. A korábban transzfúziós határnak tekintett 10mg/l hemoglobin, vagy 30%-os hematokrit ma már nem érvényes.

3.4.2. A sebészi károsítás kivédése

A vérzés az elsődleges és legfontosabb sebészi károsító hatás. Mivel a legtöbb vérzés a transszekció alatt történik, (73) ezért több módszert alakítottak ki, hogy a parenchyma átvágása alatt a vérzést csökkentsék. A máj vérellátásának átmeneti megszüntetése (kirekesztés), modern transszekciós eszközök alkalmazása, illetve a reszekciós felszín alapos vérzéscsillapítása a vérvesztés csökkenésének lehetőségei. A leghatékonyabb módszer ezek közül a máj kirekesztése, de alkalmazásának ára van, hiszen ischaemia-reperfúziós károsodást okoz. Utóbbi csökkentésére egy újabb módszert dolgoztak ki: az ischaemias preconditionálást (IP).

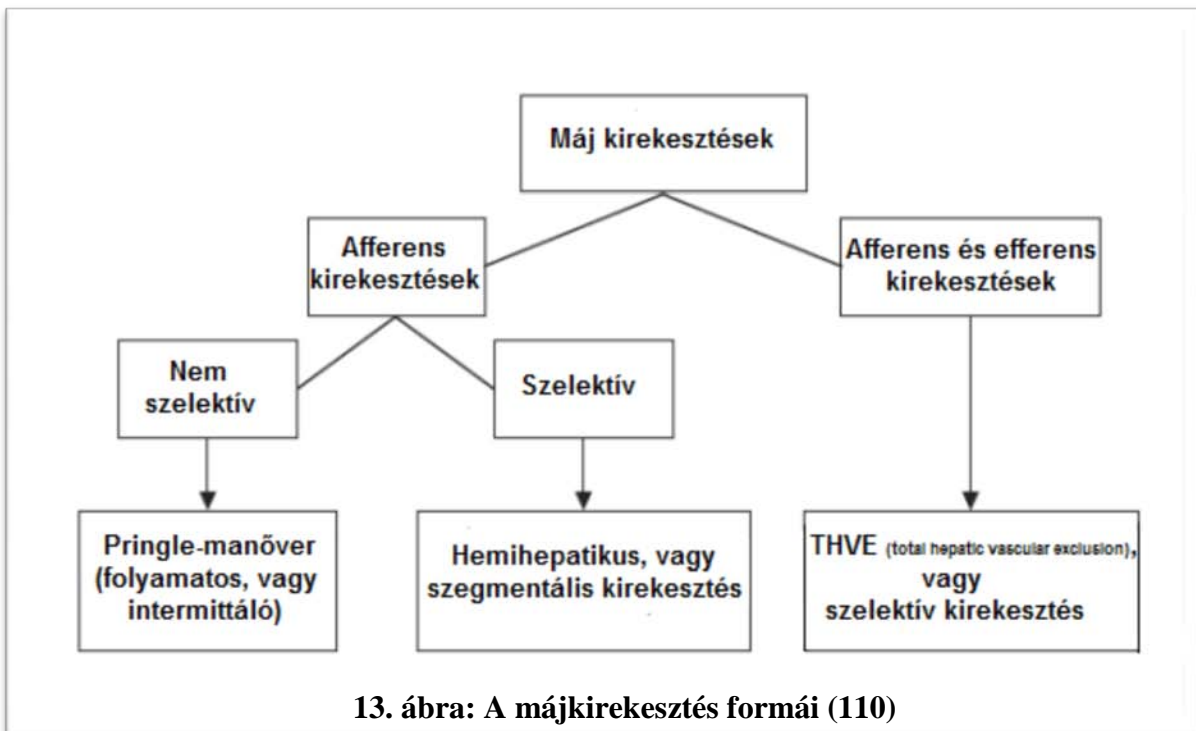
3.4.2.1. KIREKESZTÉSEK

A máj kirekesztése a vérzés megelőzésének leghatékonyabb eszköze. A human máj ischaemia toleranciája pontosan nem ismert, de egyes szerzők 60 perces folyamatos afferens kirekesztésről is beszámoltak (74, 75).

A kirekesztések több fajtáját dolgozták ki a vérvesztés minimalizálása, illetve maga a kirekesztés okozta I-R károsodás csökkentésére (13. ábra). Kirekeszthetjük a máj afferentációját (arteria hepatica, vena portae) nem szelektíven (Pringle/Báron-manőver), vagy szelektíven, amikor az eltávolítandó lebeny-szegment vérellátását szüntetjük meg. Az afferens kirekesztést a máj efferentációjának (vena hepaticák) időleges elzárásával is kombinálhatjuk.

A kirekesztés lehet folyamatos, vagy intermittáló. Előbbi esetén a transzekció teljes idejére megszüntetjük a máj vérellátását, utóbbi esetén bizonyos hosszúságú vértelen időszakot (a kirekesztés feloldása után) reperfüzió követ.

Azt, hogy melyik kirekesztés típust választjuk, befolyásolja az eltávolítandó elváltozás-specimen mérete, lokalizációja, a májparenchyma állapota (cirrhosis, zsírmáj), a sebész preferenciája és egyes nem várt intraoperatív események (pl. nagyér sérülés).



A kirekesztés típusát legjobb már a műtét előtt eldönteni és azt az aneszteziológussal megbeszélni, hiszen például vena cava kirekesztés mellőzése esetén folyadék megszorítást, cava

kirekesztés esetén folyadék töltést kell alkalmazni. Az egyes kirekesztés formák előnyeit-hátrányait a **II. táblázat** mutatja be.

3.4.2.1.1. AFFERENS KIREKESZTÉSEK

A máj afferens kirekesztése a leggyakrabban alkalmazott okklúziós módszer. Attól függően, hogy a teljes máj, vagy csak az eltávolítandó lebény, esetleg szegmentum vérellátását szüntetjük meg átmenetileg, megkülönböztetünk teljes, vagy részleges afferens kirekesztést.

3.4.2.1.1.1. Teljes (nem szelektív) afferens kirekesztés (Báron-féle műfogás, vagy Pringle-manőver)

Teljes folyamatos afferens kirekesztés esetén a reszekció után megmaradó máj is ischaemia-reperfúziós károsodást szenved, így létrehozták a portális triász intermittáló kirekesztését, mely a Cochrane adatbázis szerint kevesebb I-R károsodást okoz, mint a folyamatos kirekesztés, különösen károsodott parenchyma esetén, így ezt a módszert tekinthetjük az afferens kirekesztések „gold standard”-jének (76).

3.4.2.1.1.1.1. Folyamatos, teljes afferens kirekesztés (continuos occlusion)

A folyamatos afferens kirekesztés során a máj afferens vérellátását nem eresztjük fel időszakosan, hanem a parenchyma átvágás teljes időtartama alatt megszüntetve marad. Előnye a jó vérzés kontroll (bár a vena hepaticák felőli vérzést nyilván nem szünteti meg), hátránya a maradék májszövet jelentős I-R károsodása, illetve a vena portae elzárása miatt kialakuló splanchnikus pangás. Utóbbi béloedemát okoz, mely posztoperatív bélmotilitási zavarban, illetve egyes szerzők szerint az esetleges szinkron bélreszekciók esetén anastomosis gyógyulási zavarban nyilvánulhat meg (77, 78). Hosszabb folyamatos kirekesztés után egyes szerzők pancreatitisről (79, 80), sőt a megtartott arteria lienalis keringés melletti vena lienalis pangás következtében léprupturáról (81) is beszámoltak már.

A folyamatos afferens kirekesztés alacsony CVP mellett elvileg jól alkalmazható lenne (hiszen ilyenkor a vena hepaticák felől nem várható jelentős vérzés), azonban a jelentős I-R károsodás miatt a módszert szinte teljesen kiszorította az intermittáló kirekesztés.

3.4.2.1.1.1.2. *Intermittáló teljes afferens kirekesztés (intermittent pedicle clamping-IPC)*

Ha a teljes afferens kirekesztést bizonyos időszakonként megszüntetjük, akkor csökkenthetjük a maradék májszövet I-R károsodását, illetve a splanchnikus pangást, amit egy folyamatos kirekesztés okozna. A gyakorlatban 10-20 perces ischaemia után 5-10 perces reperfúziót alkalmazunk. Az ischaemia és a reperfúzió hosszát befolyásolhatja a sebész preferenciája, a transzsekcio hossza, illetve a máj állapota (82). Hagyományosan 15 perc kirekesztést 5 perc reperfúzió követ (83, 84, 85, 86), de egy prospektív, randomizált, kontrollált vizsgálat szerint nincs különbség a 15+5 perces és a 30+5 perces I-R periodusok okozta posztoperatív morbiditási eredmények között (87). Ezzel a módszerrel akár 3 órás kirekesztéseket is el lehet érni, jelentős májkárosodás, vagy béloedema nélkül (88), így rendkívül komplex reszekciók is elvégezhetőek. Az intermittáló teljes afferens kirekesztés a leggyakrabban alkalmazott kirekesztési módszerre vált mind májreszekciók, mind élő donoros májtranszplantációk (89, 90) során, mivel technikailag egyszerű, hatékonyan csökkenti a vérvesztést és még a károsodott máj parenchyma is jól tolerálja (82). Utóbbi mellett 1 órás össz kirekesztési időt is leírtak már, jelentős májkárosodás nélkül (87). Annak ellenére, hogy két randomizált kontrollált prospektív vizsgálat is igazolta, hogy nagyobb a parenchyma átvágás alatti vérvesztés az intermittáló kirekesztés esetén, a műtét alatti teljes vérvesztés mennyisége nem volt szignifikánsan magasabb (83, 84).

3.4.2.1.1.1.3. *Ischaemias preconditionálás*

A későbbiekben részletezett eljárás során rövid kirekesztés utáni rövid reperfúziót alkalmaznak az ezt követő hosszabb ischaemia, illetve az azt követő reperfúzió együttes károsító hatásának csökkentésére. Leggyakrabban 10 perc ischaemia után 10 perc reperfúzió következik (14. ábra) (91, 92), majd egészséges máj esetén legalább 30 perc folyamatos kirekesztés szükséges, hogy a preconditionálás az I-R károsodást csökkentő hatását kifejteni legyen képes (93). A módszernek a szisztémás keringés reperfúzió utáni stabilitásának megtartásában (94), illetve távoli szervekre is van protektív hatása. Egyes tanulmányok viszont az IP protektív hatását nem észlelték (95). Az ellentmondást feloldani látszik az, hogy a máj energetikai állapota alapvetően befolyásolja az IP hatását, így meglehetősen nehéz ilyen téren is homogén, összehasonlítható betegcsoportokat létrehozni.



14. ábra: Ischaemias preconditionálás (IP + I-R) vs. intermittáló afferens kirekesztés (IPC)

3.4.2.1.1.2. Szelektív (egyik lebenyt érintő) afferens kirekesztések

A reszekálandó lebeny, vagy szegment afferentációjának átmeneti megszüntetését jelenti.

3.4.2.1.1.2.1. Hemihepatikus, vagy szegmentális kirekesztés

Előnye, hogy a reszekciós vonal egyértelműen kirajzolódik, a maradék májszövet nem szenved el I-R károsodást, nem lesz splanchnikus pangás (96). Károsodott májparenchyma esetén kifejezetten előnyös a használata (97). Hátránya, hogy igazán jól csak a jobb, illetve bal lebeny anatómiai reszekciója során alkalmazható, illetve hogy a lebenyek között gyakran meglévő kollaterálisok az ilyen típusú kirekesztés alatt keringenek, melyeken keresztül akár jelentős vérzés is bekövetkezhet. A lebeny vena hepatica ágának kirekesztésével a vérzés kontroll még kifejezettebb lehet (98). Az intermittáló afferens kirekesztéshez képest a hemihepatikus kirekesztés sokkal ritkábban alkalmazott módszer a technikailag igényesebb, bonyolultabb, nagyobb preparatív jártasságot igénylő volta miatt. Egy prospektív kontrollált vizsgálatban a vérvesztés mennyisége hasonló volt az intermittáló afferens kirekesztéshez képest, azonban a májlaesio mértéke (különösen cirrhoticus betegeknél) a szelektív afferens kirekesztés esetén kisebbnek bizonyult (99).

3.4.2.1.2. AFFERENS ÉS EFFERENS KIREKESZTÉSEK (in-, and outflow occlusion)

Két formáját különböztetjük meg, a teljes májkirekesztést (total hepatic vascular exclusion), illetve ennek a módszernek egy módosított formáját, amikor a vena cava áramlást

megtartva az afferens kirekesztés mellett az efferenciából „csak” a vena hepaticákat rekesztjük ki.

3.4.2.1.2.1. Total Hepatic Vascular Exclusion (THVE)

THVE során a májat teljesen kirekesztjük a keringésből. Alkalmazására csak ritkán kerül sor, főképp a vena cava infiltráló tumorok, illetve nagyon magas és nem csökkenthető CVP esetén (pl.: tricuspidalis billentyű elégtelenség) kényszerülünk erre a meglehetősen májkárosító módszerre (100, 101, 102). A módszert rosszul tolerálják a károsodott májparenchymával bíró betegek, illetve alkalmazásakor számítanunk kell jelentős keringési labilitásra (75). Amennyiben egészséges májparenchymájú, jó keringésű betegnél mégis alkalmazzuk, úgy a máj és a vena cava teljes mobilizálása után a kirekesztés sorrendje az alábbi legyen: 1.) ligamentum hepatoduodenale, 2.) infrahepaticus vena cava, 3.) suprahepaticus vena cava. A kirekesztést 1 óránál tovább nem ajánlatos alkalmazni, a reperfúzió sorrendje a kirekesztés fordítottja legyen, különösen figyelve a suprahepaticus vena cava felengedésénél olykor észlelhető légemboliára. A kirekesztési módszer egyik rettegett szövődménye a jelentős venas pangás, mely akkor jelentkezik, ha az afferens keringés kirekesztése nem teljes (pl. anatómiai variációk).

A módszer finomítására az alábbi módszert alkalmazhatjuk, valamelyest kevesebb szövődmény lehetőséggel.

3.4.2.1.2.2. THVE a vena cava áramlás megőrzésével

Az infrahepatikus anatomia megismerésével, illetve a sebészi technikák fejlődésével a vena hepaticák jól megközelíthetők. Az afferenciát kirekesztése után a kireparált vena hepaticák folyamatos, vagy intermittáló kirekesztését alkalmazzuk.

Hátránya, hogy csak akkor végezhető, ha a tumor nem érinti a vena hepaticákat, illetve hogy az anatómiai variációk gyakorisága miatt azok preparálása olykor meglehetősen nehéz (103, 104). A lobus caudatus irányából visszavérzés elképzelhető, hiszen azok nincsenek kontroll alatt ezen módszer alkalmazásakor. A módszer akár hypothermiás perfúzióval (4-8 liter, 4° C-os UW-oldat vena portae keresztül) is kombinálható (105, 106), így több, mint 60 perces teljes kirekesztés is tolerálható volt, mely során cava reszekció és cava anastomosis is készült.

3.4.2.1.2. EGYÉB KIREKESZTÉSEK

3.4.2.1.2.1. Teljes afferens kirekesztés infrahepaticus vena cava kirekesztéssel

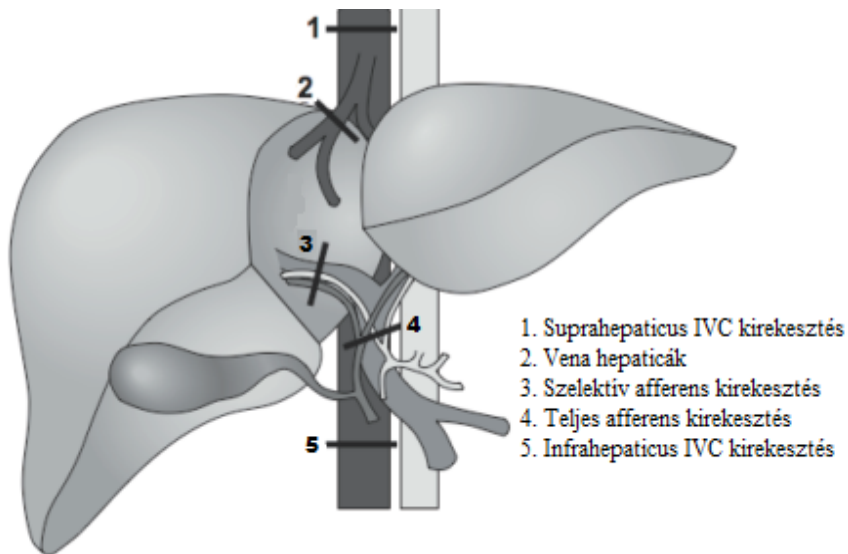
A módszert a magas CVP csökkentésére alkalmazható (107, 108). Ez az egyszerű eljárás mintegy 4 víz cm-rel (2,96 Hgmm) képes csökkenteni a CVP-t, nincs hatása az arterias középnyomásra, illetve a posztoperatív veseműködésre (108), így alkalmazása javasolható, amennyiben nem sikerült alacsony CVP-t biztosítani a parenchyma transzekcióhoz.

3.4.2.1.2.2. Szelektív afferens kirekesztés teljes vena cava kirekesztéssel, vena hepatica áramlás megőrzésével.

Ha a tumor infiltrálja a vena cavat és a lobus caudatusból indul ki, de legalább az egyik vena hepatica érintetlen, akkor a daganatos lebeny szelektív afferens kirekesztése után az infrahepaticus, majd a suprahepaticus vena cava kerül kirekesztésre. Utóbbi a vena hepaticák szintje alatt történik, így a kirekesztő kissé ferde felhelyezésével az egyik vena hepatica áramlás, és így az infra- és suprahepaticus vena cava között a "máj shuntön" keresztül az összeköttetés megmarad (109).

3.4.2.1.3. Kirekesztések összefoglalva

A 15. ábra mutatja a különféle kirekesztéseket, melyek főbb ismérveit az **I. és a II. táblázat**



foglalja össze (110).

A hemodinamikai változások elsősorban a kirekesztés típusától és hosszától függenek. Ezen kívül befolyásolja az anesztezia módja, az esetleges vérzés intenzitása és a vérvesztés mennyisége.

15. ábra: A májkirekesztések elvileg lehetséges helyei (110)

Az afferens kirekesztések hemodinamikailag jobban tolerálhatók, ha azonban vena cava kirekesztéssel kombináljuk, akkor már hemodinamikai következményekkel kell számolni (111).

Táblázat I. – Hemodinamikai változások a különböző kirekesztés formák során (110)

Kirekesztés típusok	Portális nyomás	V.cava nyomás	Art. pulmonalis nyomás	Cardiac Index	Arterias középnyomás
<i>Afferens kirekesztések</i>	Jelentős emelkedés	Nincs változás	Enyhe csökkenés	Enyhe csökkenés	Moderált emelkedés
<i>THVE</i>	Jelentős emelkedés	Enyhe emelkedés	Moderált emelkedés	Moderált csökkenés	Jelentős emelkedés
<i>THVE a vena cava áramlás megőrzésével</i>	Jelentős emelkedés	Nincs változás	Moderált emelkedés	Enyhe csökkenés	Moderált emelkedés

Fentiek miatt az afferens kirekesztés jól tolerálható, és nem igényel különösebb aneszteziológiai beavatkozást. A kirekesztés megszüntetésekor a vérnyomás a normál szintre, vagy még egy kicsit magasabbra is emelkedik. Ennek ellenére ismert megfigyelés, hogy a kirekesztés ciklusszámának növekedésével (főképp 1 órás össz-kirekesztési idő után) a kirekesztés megszüntetésekor már inkább hypotensio jelentkezik. Ennek oka valószínűleg -a későbbiekben részletezett- reperfüziós szindróma. Emiatt javasolható, hogy amennyiben a össz ischaemia eléri az 1 órát, úgy egyre hosszabb reperfüziót szükséges beiktatni (81).

Táblázat II. - A különféle kirekesztés típusok összehasonlítása technikai nehézség, hemodinamikai tolerálhatóság, vérzéskontroll szerint (110).

Kirekesztés típusok	Technikai nehézség	Hemodinamikai tolerálhatóság	Májkimélés	Vérzés megelőzés	Ellenjavallat	Szövődmény lehetőség(ek)
<i>Nincs kirekesztés</i>	—	Igen	Igen	Nem	—	TRAFO-t igénylő vérzés
<i>Intermittáló teljes afferens kirekesztés</i>	Kevés	Igen	Közepes	Közepes	—	—
<i>Folyamatos, teljes afferens kirek.</i>	Kevés	Igen	Nem	Közepes	Károsodott májparenchyma	Splanchnicus pangás

Kirekesztés típusok	Technikai nehézség	Hemodinamikai tolerálhatóság	Májkímélés	Vérzés megelőzés	Ellenjavallat	Szövődmény lehetőség(ek)
<i>Teljes afferens + infrahep. IVC kirekesztés</i>	Kevés	Közepes	Közepes	Közepes	Alacsony CVP	—
<i>Szelektív afferens kirekesztés</i>	Közepes	Igen	Igen	Igen-Közepes	Pediculus infiltrált (tumor)	—
<i>THVE</i>	Közepes	Gyakran nem	Nem	Igen	Károsodott májparenchyma szivbetegség	Splanchnicus pangás; Vese elégtelenség
<i>Intermittáló THVE, v.cava áramlás megőrzésével</i>	Nagyon	Közepes	Közepes	Igen	v. cava közeli tumorok	—

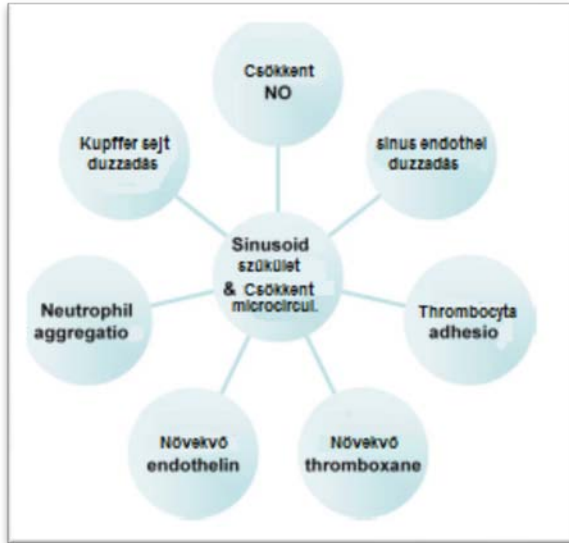
A kirekesztések mellett a különféle parenchyma transzsekcíós eszközök (125-131) segíthetnek a vérvesztés csökkentésében. Ezeket a disszertáció nem tárgyalja.

3.5. Az ischaemia-reperfúziós májkárosodás kórélettani alapjai

A májparenchyma átvágásakor a vérzés veszélye nagy, mely a morbiditási és mortalitási, illetve a hosszútávú túlélési eredményeket is rontja. A vérzés megelőzésének legjobb módszere a máj keringésének átmeneti megszüntetése, azaz a kirekesztés. A kirekesztés, illetve annak megszüntetése ischaemia-reperfúziós károsodást okoz. A károsodás az összes aerob metabolizmust folytató sejtet-szövetet érinti, mivel ezek a sejtek mitokondriumaikban oxidatív foszforilációt alkalmaznak metaboizmusuk fenntartásához (132).

Az I-R alatt végbemenő változások a máj keringésére, illetve szinte minden egyes sejtjére hatással van. A folyamat kaskádszerű, a sejtek önmagukat és más sejteket is aktiválnak főképp citokineken keresztül. A sejt-károsodás mind az ischaemia, mind a reperfúzió alatt zajlik, a keringésváltozásokkal együtt ezen inzultusok a sejtek nekrozisához, és/vagy apoptózisához vezetnek.

3.5.1. Májkeringés változásai I-R során



16. ábra: A máj microcirculatio csökkenésének I-R utáni pathomechanizmusa multifactorialis. (175)

Az ischaemia alatt nincs energiapótlás. A glikogénraktárak kimerülnek, a hepatocyták, Kupffer sejtek, endothelsejtek fokozatos ATP hiánya alakul ki. Utóbbi miatt a plazma membrán Na/K ATP-áz pumpa károsodik, mely miatt felhalmozódik intracellularisan a Na, mely vizet von maga után, így intracellularis oedema, sejtduzzadás alakul ki. A sinus endothel és a Kupffer sejtek duzzadása, illetve a csökkent vasodilatátor (NO) és az emelkedett vasoconstrictor (endothelin, thromboxan A2) szint a máj sinusok fokozatos szűkülését okozza.

A folyamat nem pusztán sejtbiológiai, hanem keringésdinamikai összefüggéseiben is értelmezendő. Az ischaemiát szenvedett parenchyma ugyanis a reszekciót követően értelemszerűen újra visszakerül a keringésbe. A sinusoidalis áramlás hemodinamikai viszonyai két okból alapvetően megváltoznak:

- az ischaemia hatására megnövekedett a sinusoidalis keringési ellenállás
- a reszekció utáni (30-50-70%-al) kisebb májtömegben a teljes splanchnicus vértérfogat áramlik át

A fenti két körülményből fakadóan a sinusoidalis nyomás jelentős emelkedése várható.

Az ischaemiát követő reperfüzió alatt a falduzzanat és vasoconstrictio okozta lumen szűkülés miatt létrejövő keringészavart ráadásul a sinusok belsejében lévő leukocyták fokozott adhesioja és aggregatioja (leukocytá dugó) és a trombociták összecsapódása is súlyosbítja (16. ábra). Ezek következménye az ún. “no reflow” jelenség (133, 134).

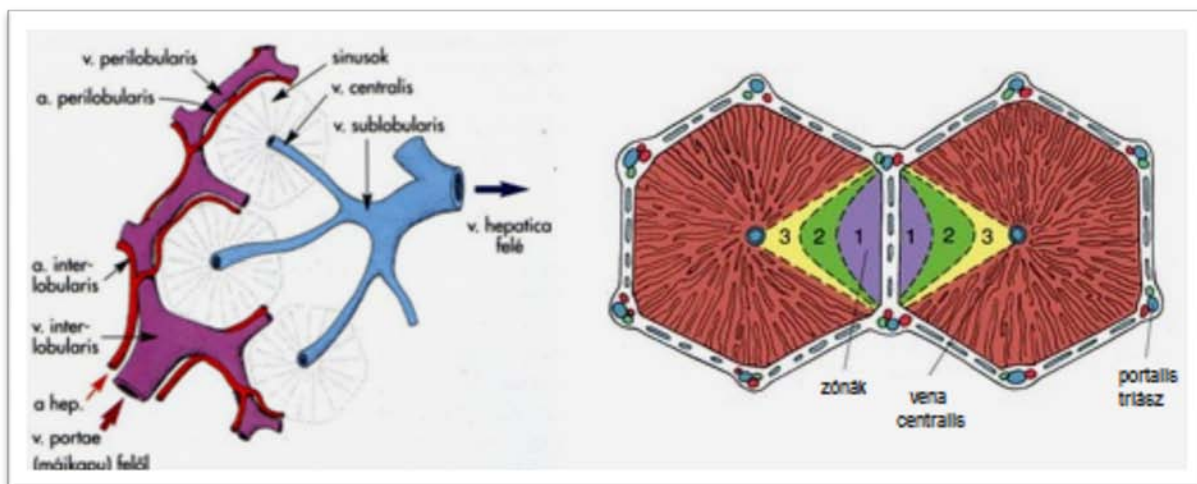
A NO szerepe

A nitrogen-monoxidnak különös jelentősége van a máj I-R károsodásában, a máj keringésváltozásában, illetve az oxidatív stresszben (ld. később). Szerepe van a neutrofil adhézió és a trombocita aggregáció csökkentésében, illetve az Ito sejtek relaxációjában (135).

A reperfüzió alatti ET és NO egyensúly felborulása az egyik fő oka a mikrocirkulációs zavarnak (136). Az ischaemia alatt az intracellularis NADPH és oxigén szint csökkenés (melyek az NO szintéziséhez szükségesek) argináz szintézisét eredményezik. Utóbbi miatt az NO szintje jelentősen csökken (137, 138). A reperfüzió kezdetekor a NO szint csökken, az ET szint emelkedik, így vasoconstrictio alakul ki, tovább rontva a máj mikrokeringését.

Mind állatkísérletek, mid human vizsgálatok során jól megfigyelhető, hogy a máj reperfüziója nem egyenletes, hanem ún. foltos reperfüziót észlelünk. Ennek oka a májacinus (17. ábra), mint funkcionális egység vérellátása.

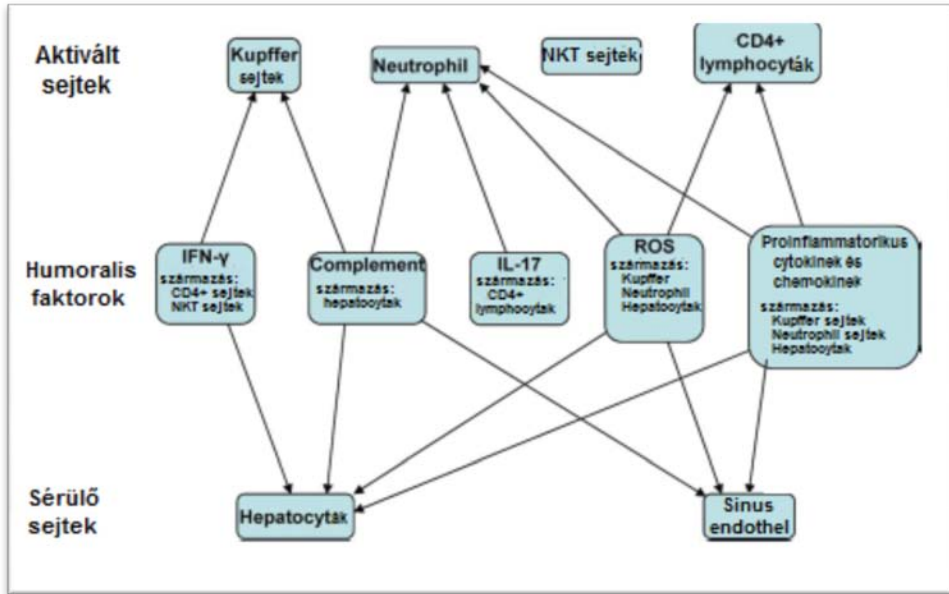
A májacinus az a. perilobularis (a. hepatica ága), és a v. perilobularis (v. portae ága) ellátási területe. A rombusz alakú lebenyke kisebbik átlójában húzódik ez a két kis ér, és rendre minden második csúcsát a v. centralis illetve a Glisson-triász alkotja. Funkcionális szempontból így a májlebenyékében három zónát különböztethetünk meg, amelyek elektronmikroszkópos, és kóréletteni megfigyelések alapján különböznek egymástól. A lebenyket a friss vér az a. és v. perilobularisok felől éri el, ennek megfelelően a májsejtek oxigén- és tápanyag ellátottsága az erektől távolodva fokozatosan csökken (17. ábra).



17. ábra: Rappaport-féle májacinusok (110)

Az I. zóna sejtjei jutnak a legnagyobb tápanyag- és oxigénkoncentrációjú vérhez, ők rendelkeznek a legjobb vérellátással, sejtjeinek anyagcséréje ezért a zónák sejtjei közül a legélénkebb. A sejtek enzimmösszetételét vizsgálva dominálnak az oxidatív anyagcsere, és a glükoneogenezis enzimek. Étkezés után ebben a zónában szaporodik fel leggyorsabban a glikogén, ugyanakkor a cukor leadása ebből a zónából történik utoljára. Oxigénmentes állapotban ezen zóna sejtjei pusztulnak el legkésőbb, és regenerálódnak a leggyorsabban, ugyanakkor toxikus károsodáskor (gyógyszerek, mérgek, baktériumtoxinok) e zóna sejtjeinek pusztulása a legszembetűnőbb. A III. zóna a v. centralishoz közeli májsejtekből áll, amelyek tápanyagban és oxigénben jóval szegényebb vérhez jutnak, mivel a vért a májacinus centrálisan elhelyezkedő sejtjei már részlegesen kimerítették. A III. zóna vérellátása a legrosszabb. Ennek megfelelően a glikolízis és a glükoneogenezis enzimek az uralkodók a sejtek enzimprofiljában. Szubsztrát túlkínálat esetében, ebben a zónában is igen nagy mennyiségű glikogén halmozódhat fel. Ischaemia esetén a III. zóna sejtjei pusztulnak el leghamarabb, és regenerációs képességük is a legalacsonyabb. A II. zóna sejtjei az I. és III. zóna közötti átmenetnek felelnek meg. A zonális felosztás jól egybeesik a májlebenyke sejt szerkezeti, és biokémiai felépítésével. Jól ismert, hogy az egyes zónák másként, és más-más sorrendben reagálnak a tápanyaghiányra, ischaemiás károsodásra és a toxikus károsodásokra. Emellett a zónákat alkotó sejtek enzimmösszetétele is jól korrelál a zonális felosztással. A máj vérellátásának megszakítása során tehát a Rappaport-féle májacinus III. zónájában található sejtek károsodnak leginkább, illetve az I. zóna sejtjeinek regenerációs képessége a legjobb. A III. zóna sejtjeinek gyors károsodása miatt kialakuló duzzanat miatt itt a leglassabb a reperfüzió, így ezen területek miatt észlelhető a máj foltossága.

A máj sejtjei a károsodásban különböző módon vesznek részt, egymás, sőt önmagukat is serkentik, illetve gátolják (18. ábra). Ezen sejtek és az általuk termelt humoralis résztvevők hatására alakul ki a hepatociták és a sinus endothel sejtek I-R károsodása.



18. ábra: I-R károsodás sejtes résztvevői (175)

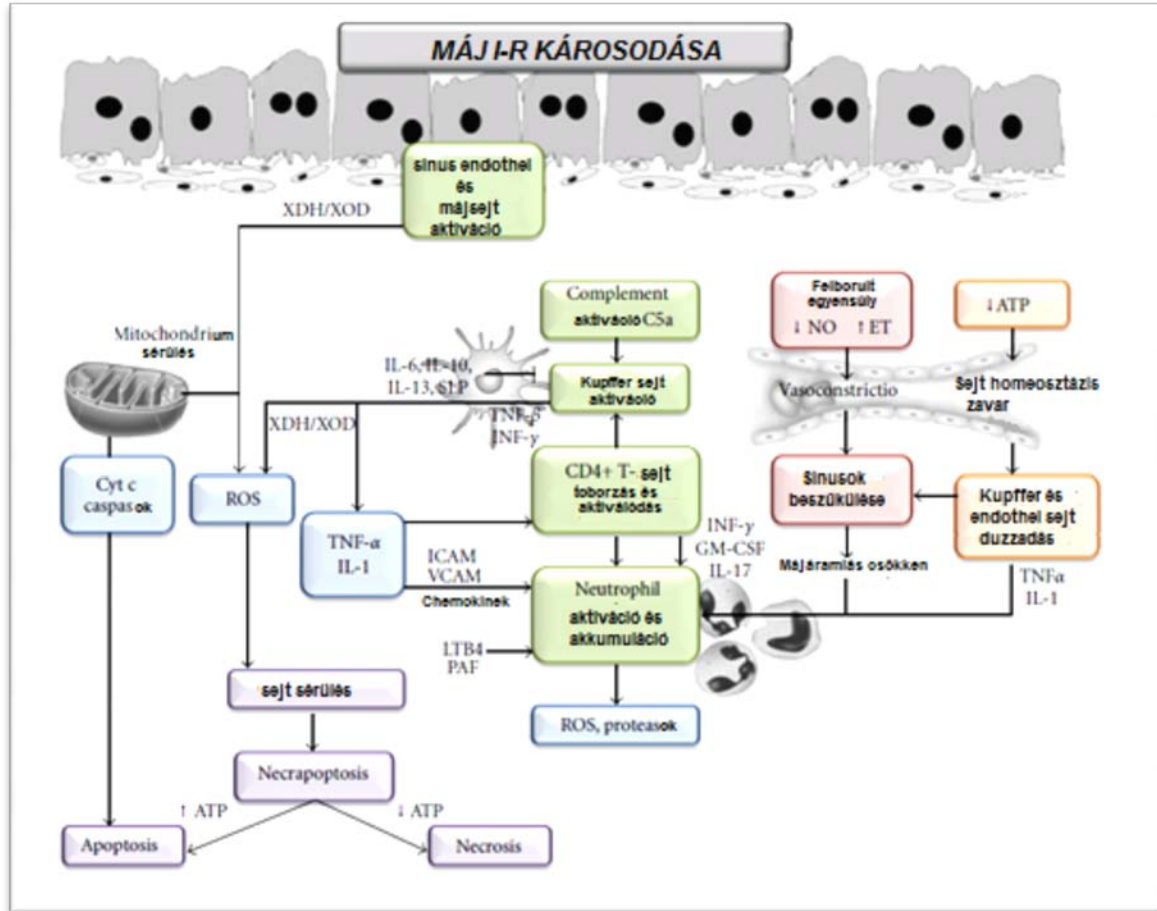
3.5.2. Az I-R károsodás sejtes résztvevői (18, 19. ábra)

3.5.2.1. Kupffer sejtek

A Kupffer sejtek a májban lévő makrofágok. Ischaemia-reperfúzió során a complement rendszer aktiválja a Kupffer sejteket (139, 140). Az aktivált Kupffer sejtek citokineket (TNF- α , IL-1, IL-6), szabadgyököket és más faktorokat szabadítanak fel, melyek tovább súlyosbítják az I-R károsodást. Már az ischaemia alatt is képesek a hepatocitákat károsítani, a reperfúzió alatt a folyamat súlyosbodik azáltal is, hogy citokineken keresztül neutrofileket aktivál.

A Kupffer sejtek hatása akár 24 órán keresztül is észlelhető, kezdetben direkt károsító hatásuk által (reperfúzió első 30 percében), majd később egyre inkább az egyéb sejtek aktiválása által (neutrofil aktiváció 30. perctől). Hat órán túl már szinte csak az indirekt hatása észlelhető (141). Az I-R során 6 órán keresztül a sejtkárosodás végső effektoraként szereplő szabadgyökök fő termelője a Kupffer sejt, ezután már a neutrofilek által termelt radikálisok károsítanak (142, 143, 144, 145)

A trombocita aktiváló faktor (platelet activating factor-PAF) egyik fő forrása szintén a Kupffer sejt. PAF hatására a trombociták aktiválódnak és aggregálódnak, növekszik az ér permeabilitás, illetve további neutrofil aktivációt idéz elő (146, 147)



19. ábra: A máj I-R károsodásakor lejátszódó folyamatok röviden (148)

3.5.2.2. Neutrofil granulociták

A Kupffer sejtek által termelt kemoattraktáns anyagok-citokinek hatására aktivált neutrofilek játszó az I-R károsodás késői fázisában a főszerepet. Ugyanazokat a citokineket termelik, mint a Kupffer sejtek, de sokkal nagyobb mennyiségben, így a kiterjedt károsodásért, illetve a folyamat generalizálódásáért felelősek (149).

A neutrofilek a sinusok falához tapadnak, majd a migráció folyamata során a Disse térbe vándorolnak a sinus endothel sejtek közötti réseken (a rések a korai endothel károsodás miatt már nagyobbak). A margináció (kitapadás) során a neutrofilek a sinus endothel sejtekhez kötődnek (150). A neutrofilek L-selectin és b2-integrin molekulái a sinus endothel és a májsejtek intercellularis adhesios molekuláihoz (ICAM-1) és vascularis adhézios molekuláihoz (VCAM-1)

kötődnek (151). A sinus endothel sejtek közötti rések további “nyitását” az ICAM-1 intracellularis adhézios molekula és a CD11b/CD18 integrinek segítik. A Kupffer sejtek, illetve maguk a neutrofilek által termelt TNF- α , IL-1, and interferon- γ stimulálják az ICAM-1 expresszióját a hepatocytákon, sinus endothel sejteken, így a folyamat “öngerjesztővé” válik.

A Disse térbe belépve a neutrofilek proteázokat (katepszin-G, granulocita-elasztáz) és szabadgyököket (szuperoxid-, és hydroxyl-gyökök) termelnek, így okozva májnekrózist (152, 153).

3.5.2.3. *CD4 lymphocyták*

A T-lymphocyták közül a CD4+ limfociták az ischaemia-reperfúziós károsodás késői fázisában játszanak szerepet. Az aktivált CD4 sejtek a sinus endothel sejteket aktiválják, amelyek így a sejtfelszíni adhézios molekulákat expresszálják és a trombocyták kitapadását fokozzák (154, 155).

Egy órával a reperfúzió elindulása után a CD4+ sejtek a sinus endothel sejtek közötti nyílásokon keresztül bejutnak a Disse térbe, itt kemokineket termelnek a neutrofilek számára (156). Ezek mellett a CD4+ sejtek IFN- γ -t termelnek, mellyel a Kupffer sejteket készítetik TNF- α és IL-1 termelésre.

3.5.2.4. *NKT sejtek*

Az NKT sejtek toborzása és aktiválása a CD4 lymphocytákhoz hasonlóan a reperfúzió fázisában valósul meg.

Az aktivált NKT sejtek direkt károsítják a májsejteket, illetve csakúgy, mint az összes többi sejt további sejteket, főképp Kupffer sejteket aktiválnak IFN- γ termelésén keresztül (156, 157, 158).

A leukocitákkal együtt az I-R károsodás késői fázisában létrejövő (a későbbiekben részletezett) lokális immunválasz résztvevője.

3.5.2.5. *Hepatocyták és sinus endothel sejtek*

Ugyan a májsejtek és a sinus endothel sejtek az I-R károsodás elszenvedői, mégis a folyamatban jelentős szerepet játszanak. A korai fázisban sérült sejtek egyes molekula mintázatokat alakítanak ki, melyek immun célpontként szerepelnek (un. danger-associated molecular patterns- DAMPs). Ezek vagy a nekrotikus sejtekből, vagy a sérült extracellularis

matrixból passzívan szabadulnak ki, vagy aktívan szekretálódnak az I-R stresszen áteső, vagy a sérült sejtekből. A DAMP-ok a saját-idegen felismerő rendszer részét képezik. Ilyen I-R során szabaddá váló DAMP-ok a nukleáris transzkripciós faktor “high mobility group box-1”-e (HMGB-1), a cytoplasma Ca²⁺ regulator S100, a sejt matrixot felépítő hyaluronsav, a hűgysav, az ATP és maga a DNS (159, 160, 161, 162, 163).

Az I-R károsodás során a DAMP-ok a toll like receptorokhoz (TLR) és a “receptor for advanced glycation end products”- RAGE-hez kötődve váltanak ki immunválaszt (ld. sejt-károsodás mechanizmusa)

3.5.3. Az I-R károsodás jelvivő molekulái

3.5.3.1. Komplement rendszer

A rendszernek legalább 30 solubilis és membránhoz kötött tagja van. A komplement kaszkád 3 ismert útvonalon aktiválódhat; a klasszikus, az alternatív és a mannóz kötő lektin útvonalon. Az I-R károsodásban mindhárom útvonal részt vesz (164). Aktiválódásuk után a komplement rendszer direkt károsító hatással (plazma membránban lizáló komplex képzés), vagy neutrofil és Kupffer sejt aktivációval károsítja a májsejteket (165, 133).

A komplement rendszer felelős a távoli szervi hatásokért is, melyben a C1 és a C5a komplementek felelősek (140, 166, 167).

3.5.3.2. Citokinek

A citokinek pro-, és antiinflammatorikus szerepet is játszhatnak. Rengeteg citokint azonosítottak már az I-R károsodás pathomechanizmusában, azonban jelen összefoglalóban csak a legfontosabbakat emelem ki.

TNF- α az elsődleges proinflammatorikus citokin az I-R kaszkádban. A Kupffer sejtek termelik, autokrin és parakrin hatása is ismert. Az I-R távoli szerveken okozott hatásának fő mediátora (168). Egy sor pro-, és antiinflammatorikus molekula stimulálja, vagy gátolja a TNF- α expresszióját (**III. táblázat**). A citokin a májsejtek felszínén lévő TNF- α receptorhoz (TNF-R) kötődik, minek következtében a kemokin epithelialis aktiváló protein-78 (ENA-78) és szabadgyökök szabadulnak fel, valamint a nukleáris factor kappa B (NF κ B) a mitogen aktivált protein kinase (MAPK), a c-Jun N-terminal kináz aktiválódik (169). A TNF- α ráadásul fokozza

egyres adhesios molekulák termelődését (ICAM-1, VCAM-1, P-selektin), így promotálva a neutrofilek sinus endothelhez történő kitapadását. A szabadgyökök és a JNK pedig direkt májsejt károsító hatással is bír.

Ezeken kívül a fontosabb citokineket a **III. táblázatban** foglaltam össze.

Táblázat III. Az I-R pathomechanizmusában résztvevő cytokinek		
Cytokin	származás	Hatása a májon
Hepatocyte growth factor (HGF)	Nem parenchymális májsejtek, főképp Kupffer sejtek	I-R károsodást oszokit + proliferatív hatás
IFN- γ	T-lymphocyták, NKT sejtek, hepatocyták	Dózisfüggő hatás: 1. <u>fiziol. dózis:</u> I-R káros. fokozza 2. <u>farmakol. dózis:</u> I-R káros. oszokit
IL-1 β	Kupffer sejtek	I-R károsod. fokozza
IL-6	Kupffer sejtek	I-R károsodást oszokit + proliferatív hatás
IL-10	Kupffer sejtek, T-lymphocyták	I-R károsodást oszokit + proliferatív hatás
IL-12 és IL-23	Hepatocyták Kupffer sejtek	
IL-13	Kupffer sejtek, T-lymphocyták	I-R károsodást oszokit + proliferatív hatás
IL-18	Kupffer sejtek	I-R károsod. fokozza
VEGF	Kupffer sejtek T-Lymphocyták Sinus endothel sejt Hepatocyták	Kézős hatás: 1. <u>Endogén termelés:</u> I-R károsod. fokozza 2. <u>Exogén bevétel:</u> I-R károsod. oszokit

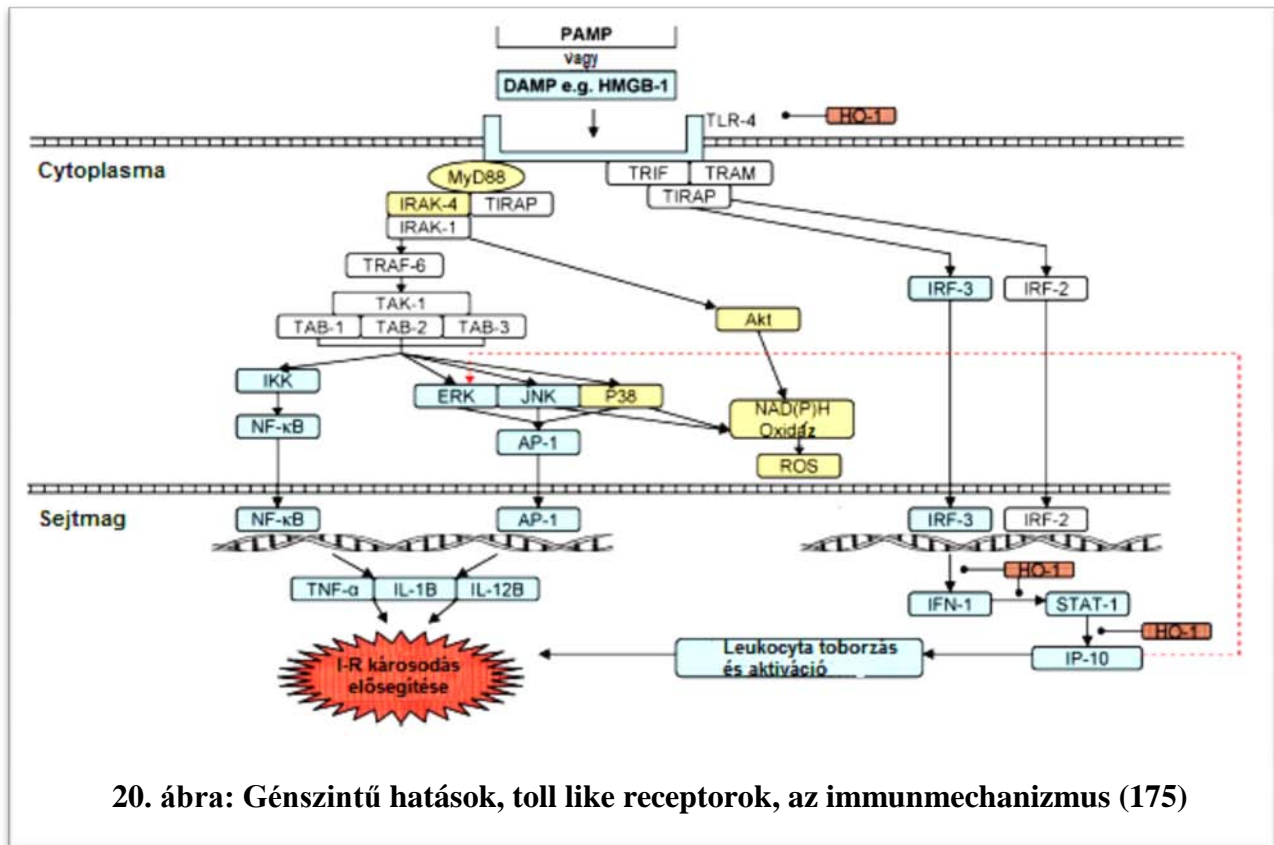
3.5.4. Az immunmechanizmus

A máj összes sejtje képes “autoimmun” válaszreakciót kiváltani. Az I-R károsodásban fontos szerepet játszanak a toll- like receptorok és egyéb transmembrán receptorok, melyek az immunsejtek (neutrofil, NK sejtek) károsítását vonják maguk után. Ahogy az összes emlős sejt, úgy a májsejtek is bizonyos mértékű inzultust-károsodást követően un. veszély molekula mintázatokat (Danger-associated molecular patterns - DAMPs) termelnek, vagy szabadulnak fel

a már széteső sejtekből. Ezek a főképp fehérje mintázatok a specifikus mintázatot felismerni képes receptorokhoz kötődnek. Kétféle ilyen receptort ismerünk; a toll like receptorokat (TLR), illetve az un. receptor for advanced glycation end products (RAGE) –ot. A mechanizmus merőben új szemléletet jelent, jelenleg az I-R károsodás kutatásában előtérbe került, hiszen az immunmechanizmus ismerete későbbiekben akár terápiás következményekkel is járhat.

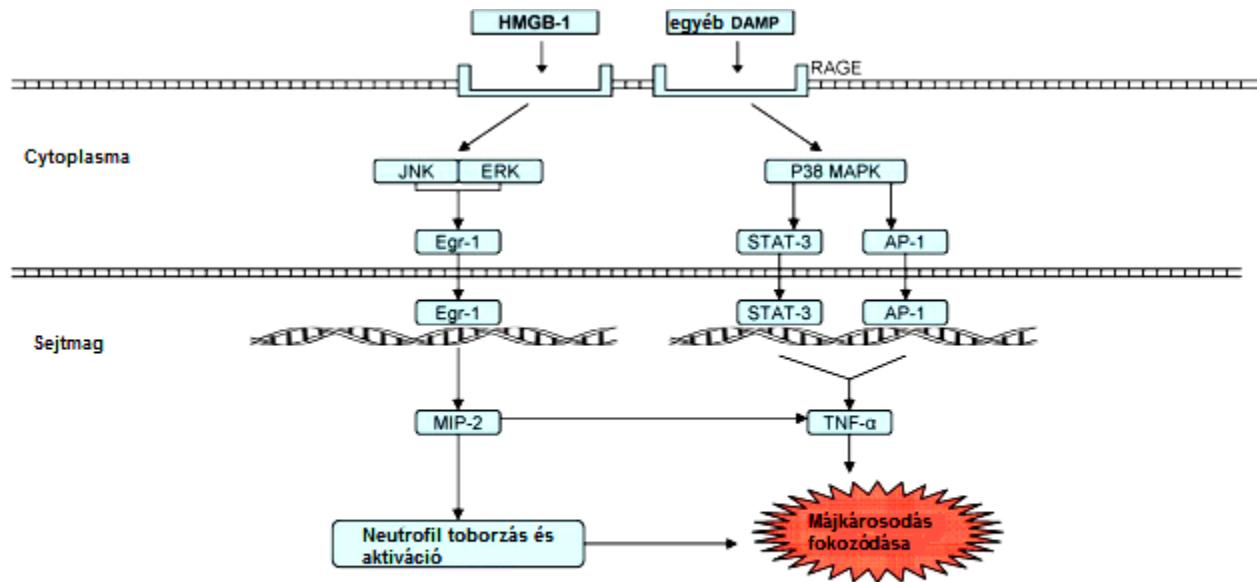
3.5.4.1. Toll like receptorok (TLR)

A TLR-ok egy bonyolult kaszkádon keresztül aktiválják az immunrendszert, miután a veszély molekulák (DAMP) megjelennek. Tizenegy TLR típust ismerünk eddig, melyek közül a TLR-4 a legjobban ismert és talán a legfontosabb toll like receptor az I-R pathomechanizmusában (20. ábra). A többi TLR ehhez hasonló útvonalon keresztül hat. Bármely TLR hatására a proinflammatorikus citokinek, kemokinek expresszója fokozódik (170, 171, 172).



3.5.4.2. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)

A receptor főképp a dendritikus sejteken, illetve kisebb mértékben a Kupffer sejteken expresszálódik, hatása kevésbé ismert, de végsősoron a TLR-hez hasonló mechanizmussal proinflammatorikus citokinek expresszióját fokozza, így neutrofil Kupffer és egyéb immun sejtek (NK sejtek) aktiválódását okozza (21. ábra). (173, 174)



21. ábra: A RAGE hatására a máj I-R károsodása fokozódik (175)

3.5.5. A sinusoidalis endothel és hepatocita károsodás

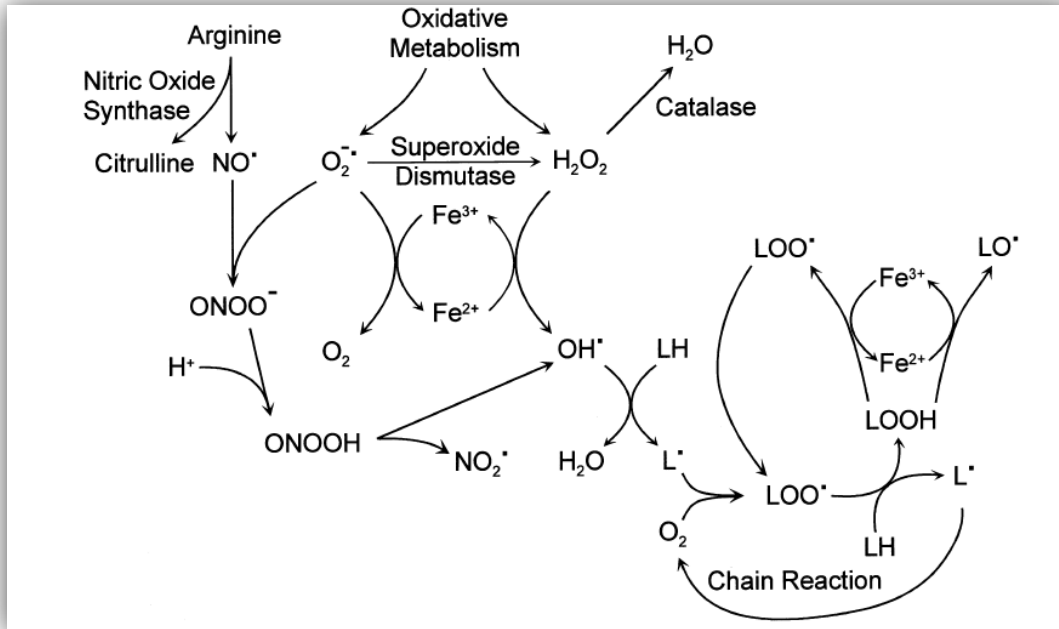
A sejthalál a membránok integritásának elvesztésekor, illetve az “energiatermelő szerkezet” a mitokondrium pusztulásakor következnek be.

Ezek haláláért a szabadgyökök, a membránok deszintegrálódásáért specifikus porusok (mitochondrial permeability transition pores-MPT), illetve a sejtek következményes ionháztartás felborulása felelősek (175), így ők az I-R károsodás “végső” effektorai.

3.5.5.1. Szabadgyökök

Az I-R alatt a szabadgyökök legfőbb forrásai a xantin oxidáz, a mitochodriális légzési lánc és a NADPH oxidáz rendszerek (176, 177, 178).

A legtöbb szabadgyök szuperoxid gyök (O_2^-), hidrogén-peroxid (H_2O_2), hipoklórsav ($HClO$), vagy hidroxil gyök ($\cdot OH$). Utóbbi a szuperoxid gyök és a hidrogén-peroxid fém katalizátor (vas, réz) melletti kölcsönhatásából származik (Fenton reakció). (22. ábra)



22. ábra: A Fenton reakció (179)

A nitrogen tartalmú szabadgyökök a nitrogén monoxid (NO), a nitrogén-dioxid (NO_2), a dinitrogen trioxid (N_2O_3) és a peroxinitrit ($ONOO^-$). Utóbbiak az NO szuperoxid gyökkel történő reakciója következtében jön létre (178, 179, 180).

Mind az oxigén, mind a nitrogén eredetű szabadgyökök nekrozist és apoptózist is okozhatnak.

Az oxigén eredetű szabadgyökök a membrán lipideket károsítják (lipid peroxidáció), különösen a többszörösen telítetlen zsírsavakat. Ez az ionháztartás zavarához, sejt duzzadáshoz és sejthalálhoz vezet. A károsodás a sejt minden membránját érinti, nemcsak magát a sejtmembránt, de az intracelluláris membránokat is, mint a mitokondrium, vagy a sejtmag. A mitokondriumokon belül még a légzési lánc enzim komplexeinek károsításáért is felelős. Utóbbi miatt az ATP termelés károsodik, illetve cytochrom C felszabadulást eredményez a cytosolba, mely az apoptózist triggereli (132, 181).

A sejtmagon belül a DNS oxidatív károsodása következik be, így a fehérje transzkripció és transláció megszűnik. Az oxigén eredetű szabadgyökök aktiválják a redox folyamatokra érzékeny transzkripciós faktorokat, mint az NFkB és az AP-1 (182, 169). Az NFkB aktiválása

proinflammatorikus citokinek (TNF- α , IL-1, stb.) termelését vonja maga után, az AP-1 a májsejtek apoptózist segíti elő a cytochrom C és caspase-3 aktiválás miatt (169, 183). Egy újabb felfedezés szerint ráadásul a szabadgyökök saját termelődésüket is elősegítik. Ez az MPT megnyílása után következik be, így a mitokondrium membránpotenciálja elvész, így a légzési lánc leáll, tehát újabb szabadgyökök keletkezhetnek, melyek újabb és újabb mitokondriumokat, illetve sejtmembránokat tehetnek tönkre.

3.5.5.2. Szabadgyökök eliminációjáért felelős mechanizmusok: az antioxidáns rendszer

Enzimatis út:

A mitokondriumokban és microsómákban megtalálható szuperoxid-dizmutáz (SOD) a szuperoxidanionok semlegesítését végzi: $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. (184). A keletkező H_2O_2 -ből Fe^{2+} jelenlétében OH^{\bullet} gyökök keletkezhetnek, mely gyökök ellen közvetlen enzimes védekezés nincs, a szervezet úgy védekezik a hidroxilgyökök ellen, hogy prekursorát, a hidrogén-peroxidot eliminálja.

Az említett H_2O_2 eliminálásában játszik szerepet a peroxiszómák 40%-át adó, haem-tartalmú enzim, a kataláz is: $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$

A H_2O_2 -ot, és a lipidperoxidokat a peroxidáz enzim vízzé redukálja. A szelén tartalmú glutation-peroxidáz esetében az elektron/hidrogén donor a glutation, mely a sejtek redox-státuszában szulfhidril pufferként viselkedik. A glutation két formában van jelen a sejtekben, a redukált tiol formában (GSH) és az oxidált formában (GSSG), amely egy diszulfid-kötéssel összekapcsolt két tripeptidből áll. A GSSG-t a glutation reduktáz redukálja GSH-vá. GSH/GSSG arány a sejtekben több mint 500.

Nem enzimatis út:

Számos endogen molekuláról igazolták már, hogy antioxidáns hatással bír, ezek közül a legfontosabbak:

- E-vitamin: A lipidperoxidáció gátlómolekulája. 1 molekula E-vitamin kb. 1000 lipidmolekulát képes megvédeni a lipidperoxidációban (185).
- C-vitamin: lánctörő antioxidáns. A C-vitamin az E-vitamin ko-antioxidánsa.
- A mitokondriális ubikinon (koenzim-Q, Co-Q) redukált formája (az ubikinol) fontos antioxidáns (186, 187).

- Flavonoidok: pl. silymarin, mely kiváló antioxidáns hatású, növeli a lymphocyták SOD aktivitását (188).

- Glutation (GSH): A máj igen fontos a GSH szintézisben, ahol egy komplex, ciszteint, glutamátot és glicint is, mint köztiterméket, magába foglaló bioszintetikus út ér véget.

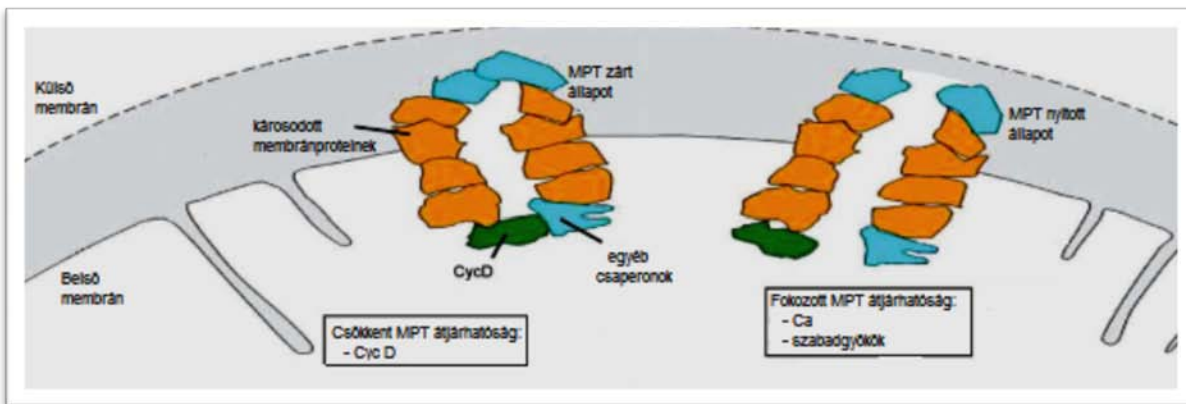
- Glutamin (Gln): A glutamin protektív hatása a csökkent szabadgyök-produkción keresztül valósul meg. A májban a glutamin, a GSH bioszintézisében esszenciális fontosságú.

3.5.5.3. Porusok (Mitochondrial permeability transition - MPT)

A mitokondrium kettős membránnal rendelkezik. I-R károsodás hatására a belső membrán átteresztőbbé válik, mely a mitokondrium depolarizációjához, az oxidatív foszforiláció szétkapcsolódásához, a mitokondrium duzzadásához vezet. Ezek az apoptosist indukáló cytochrom C felszabadulásához vezetnek. A mitokondrium membrán permeabilitás változásai az ún. MPT-k (mitochondrial permeability transition) (189).

Az MPT során a mitokondriumokon porusok alakulnak ki a belső membránon, majd megnyílnak, így okozva a depolarizációt és a mitokondrium halálát.

A legújabb feltételezések szerint az MPT-k a szabadgyökök károsító hatása miatt átalakult mitokondrium membrán fehérjéiből alakulnak át hidrofil belsővel (tehát átteresztő) rendelkező csatornákká (175, 190). (23. ábra) Egyes csaperonok (pl. Cyc D) az MPT-k átjárhatóságát csökkentik, így óvják a mitokondriumot. Intracellularis Ca felhalmozódás, illetve szabadgyökök hatására viszont az MPT-k kinyílnak.



23. ábra: A mitokondriális pórusok szerepe (175)

3.5.5.4. Ionháztartás felborulása

Amennyiben excesszív ionháztartásbeli zavarok (Ca, Na, H) jönnek létre az I-R károsodás során, akkor bekövetkezik a sejthalál.

A calcium főképp 3 sejtkomponensben található; a cytosolban, a mitokondriumokban és az endoplazmatikus retikulumokban (ER). I-R hatására calcium halmozódik fel a cytosolban és a mitokondriális matrixban. Előbbi a sejten kívülről (plazmamembránon keresztül belépő) és az endoplazmatikus retikulumokból származik. A csatornák aktiválódása nem ismert pontosan (191, 192), bár egyértelmű, hogy a szabadgyökök pár nem szelektív Ca-csatornát (tranziens receptor potenciál-TRP) aktiválni képesek.

Ugyanakkor maga a hideg ischaemia gátolja a plazma membrán és az ER Ca ATP-áz működését, így a Ca extracelluláris térbe történő kipumpálása is sérül. A cytosol és a mitokondrium Ca szint emelkedése (utóbbi a Ca uniporter miatt) a mitokondriális transzmembrán potenciál csökken így az ATP termelés leáll, mely a sejt energetikai ellehetetlenüléséhez, majd halálához vezet.

A natrium (Na) és hidrogen (H⁺) ionok szintén fontos szerepet játszanak az I-R károsodás során. Az ischaemia alatti anaerob folyamatok miatt intracelluláris acidosis alakul ki. Ennek kompenzálására aktiválódik a Na/H és a Na/HCO₃ exchanger. Hatásukra H⁺ pumpálódik az extracelluláris térbe, mellyel párhuzamosan Na transzportálódik a sejtbe. Utóbbi vizet von maga után, így sejtoedéma alakul ki (193, 194, 195), majd a sejt ion és folyadék homeosztázisa megszűnik.

3.5.5.5. Nekrózis és apoptózis ischaemia-reperfúziós károsodások kapcsán

3.5.5.5.1. Nekrózis

Az ischaemiában megjelenő hypoxia eredményeként a szövetekben csökken a mitokondriumok által termelt ATP szint. Ez a sejtek és a mitokondrium duzzadásához, gömbölyűvé válásához, az endoplazmatikus retikulum dilatációjához, majd végül a plazmamembrán protrúzióból létrejött ún. „bleb”-ek kialakulásához vezet (196, 197). A „bleb”-ek megjelenése egyértelműen az ATP hiány következtében kialakult megváltozott sejt volumen és a cytoskeleton architektúrájának felborulásából fakad. A szabadgyökök és az MPT-k hatására a membránok a Ca és egyes anionok számára (ld. később) átjárhatóvá válnak, majd a membránok

desintegrálódnak. Ennek következtében a sejt elemek az extracelluláris térbe lépnek ki, így gyulladásoos válaszelenség indul, mely már nekrozist jelent.

3.5.5.5.2. Apoptóziis

Az apoptóziis klasszikus jelei: a sejt zsugorodása, a sejtmag kondenzálódása, a kromatin marginalizációja, a mag és a citoplazma apoptotikus testecskékben (apoptotic body) való fragmentációja, melyeket a környező sejtek phagocytálnak. A degradálódot sejtet a környező phagocytosisra alkalmas sejtek távolítják el, következményes gyulladás nélkül. Az apoptóziis jelensége inkább izolált sejteket érint, ritkábban egyes véletlenszerű sejtcsoportokat, de egyértelműen nem összefüggő területeket, mint a nekrozisban. Az apoptóziis mechanizmusában a két legfontosabb jelátviteli út ismert: (A) külső, ún. halálligand- halálreceptor út, valamint a (B) belső, ún. mitokondriális út.

Előbbi esetén egyes citokinek (TNF- α , Fas ligand) ~~indít~~ be a folyamat működésében kulcsszerepet játszó aktivációs komplex működését, mely különféle kaszpázokat tartalmaz. Utóbbi esetén a mitokondriumok membránján a korábban említett MPT-k alakulnak ki, így okozva azok depolarizációját.

3.5.5.5.3. Nekrozis, vagy apoptóziis?

Ha a májsejtek mitokondriumainak membránján MPT-k jelennek meg, akkor azok a mitokondriumok depolarizálódnak és tovább már nem működnek. Ha ezen diszfunkcionáló mitokondriumok száma alacsony, akkor a májsejt képes ezeket eltávolítani az ún. mitophagia során (198). A mitophagia során a mitokondriumok autofagoszómákba szekvesztrálódnak és így szállítódnak a lysosomákba. Ez a sejt számára rendkívül fontos, mivel a károsodott mitokondrium jelentős ATP fogyasztó, illetve szabadgyök forrás (199). Ha az MPT-vel rendelkező mitokondriumok száma nő, de a sejt ATP háztartása viszonylag állandó marad, akkor apoptóziis alakul ki. Ha a mitokondriumok többsége érintett, akkor a sejt ATP forrása teljesen kimerül, így az energiaigényes apoptóziis már nem lehetséges, tehát nekrozis alakul ki (189, 200). Összefoglalva tehát a sejt mitophagiával igyekszik elkerülni a sejtthálát. Ha azonban a sejtthálál nem elkerülhető, akkor inkább az apoptóziisra törekszik (mely energiaigényes, de nem alakul ki a veszélyes és generalizálódotra képes gyulladásoos válaszelreakció). Ha a károsító hatás nagy és a

sejt mitokondriumainak akkora mennyisége károsodik, hogy nem marad ATP az apoptózishoz, akkor bekövetkezik a sejtnekrózis.

3.5.6. Genetikai változások-hosszútávú hatás (HIF1, NFkB)

Az ischaemia-reperfúzió okozta stressz különféle gének átírását is elindítja. Ezek a folyamat generalizálódását, illetve elhúzódását okozzák. A génátírást koordináló transzkripciósfaktoroknak így jelentős szerepe van a folyamatban (201, 202)

3.5.6.1. Hypoxia jelpálya, a HIF-1 szerepe

Hypoxia hatására a sejtben fellépő számos biológiai válasz jön létre, részben O₂-szenzitív gének is átíródnak. Ezek szerepe egyrészt a tumorbiológiában és onkológiában fontos angiogenesis serkentés (VEGF = vascular endothel growth factor), másrészt a metabolikus adaptálódás az oxigénmentes állapothoz. Jelen kontextusban az utóbbi hatás ismerete fontos. Hypoxia hatására beinduló transzdukciós kaszkád eredményeként egy transzkripciósfaktor („a folyamatok végső közös pontja”), a HIF-1 (hypoxia inducible factor) aktiválódik, és a DNS számos részén elhelyezkedő HRE (hypoxia responsible element) promoter régiókhoz kötődik, indukálva ezáltal az O₂-szenzitív gének transzkripcióját. A HIF-1 egy dimer szerkezetű molekula, melynek HIF-1 β része konstitutívan jelen van a sejtben, míg a HIF-1 α egy oxigénhiányra indukálódó protein aszparagin-, és prolin-hidroxilázok hatására (203). A hypoxiás sejtben, a HIF-1 α aktív dimert képez a HIF-1 β -val és az így kialakuló dimer bejut a sejtmagba és indukálja az O₂-szenzitív gének átírását. Ezt a transzkripciósfaktort először a hypoxia hatásra fokozódó erythropoetin termeléssel (204), valamint a daganatokban kimutatható VEGF expresszióval (205) kapcsolatban írták le. Ma már ismert, hogy target génjei közé tartoznak egyes glikolitikus enzimek (pl. LDH-A), a GLUT-2 glukóz-transzporter, az angiogenesisben szerepet játszó VEGF, iNOS génje, valamint az apoptózisban szerepet játszó p53. Látható tehát, hogy ez a jelpálya is több irányba viheti tovább a sejt sorsát (206, 207).

3.5.6.2. NFkB (Nuklearis factor kappa B) szerepe

A transzkripciósfaktor aktiválódási mechanizmusa nem pontosan ismert, de feltételezhető, hogy a Kupffer sejtek által termelt szabadgyökök aktiválják az NFkB DNS kötését

(208, 209, 210). A DNS kötés a korábban említett toll like receptor 4-en (TLR-4) és a myeloid differenciációs factor 88-on (My88) keresztül valósul meg (211, 212, 213).

Az NFkB aktiválódása proinflammatorikus citokinek termelését vonja maga után, mely a folyamat generalizálódást, illetve elhúzódását okozza.

Feltételezik, hogy egyes apoptózist befolyásoló gén átírásban is van szerepe, így apoptotikus sejthalált okoz (214, 215).

3.5.7. Az I-R távoli szervi hatása

Az ischaemia-reperfúziós károsodás immunválaszt indíthat el. A folyamat generalizálódhat, szisztémás gyulladásos válaszreakció (SIRS) formájában. Elsősorban a tüdő és a vese lehet érintett. minél hosszabb az ischaemia, annál valószínűbb a későbbi távoli szervkárosodás (216). A májban lévő sejtek által termelt citokinek és szabadgyökök nem elegendők a távoli szervi hatáshoz szükséges jelátvitelre, illetve sejtkárosításra, ehhez már génátírás módosulás is szükséges (217).

3.5.8. Az irreverzibilis károsodás fogalma és klinikai jelentősége

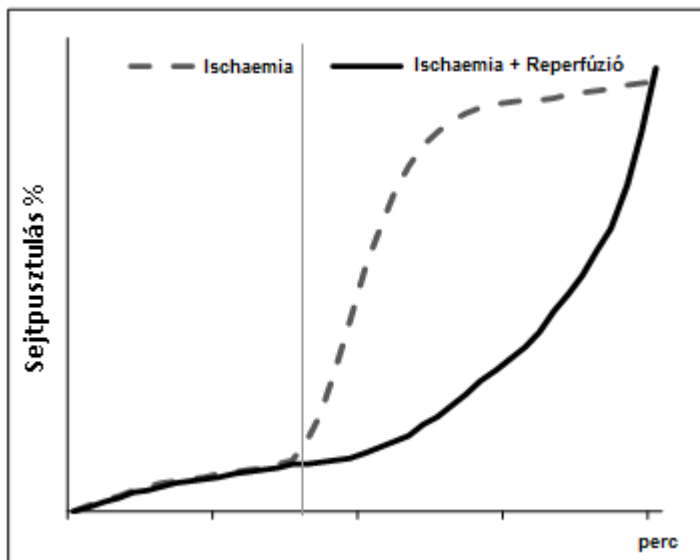
Az irreverzibilis károsodás tehát akkor következik be, amikor a májsejtekben lévő mitokondriumok károsodnak. A fentiek során kifejtettek szerint sejtek közül először a III. zóna károsodik. Amint az I. zóna sejteinek membránjai és mitokondrium membránjai is dezintegrálódnak, a folyamat visszafordíthatatlanná válik.

A folyamat klinikai jelentősége abban az ischaemias időben rejlik, ami után a reperfúzió még a szöveti oxigenizációt helyreállítja és az I-R károsító hatása még nem dominál.

3.5.9. Az I-R dinamikája

Vizsgálatok alapján egyértelművé vált, hogy szövet-típustól és szerkezettől függően más-más dinamikával, de általánosságban hasonló időbeli lefolyással jön létre sejtpusztulás. Különbség van azonban a pusztán ischaemiás és az ischaemia-reperfúziós körülmények okozta sejtpusztulások dinamikája közt. A kezdeti azonos mérvű sejtpusztulás, egy szövetenként változó hosszúságú idő után exponenciális növekedést mutat. Ugyanezen rendszerben a reperfúziós periódus, az oxidatív és nitrózativ stressz következtében ugrásszerű sejtpusztulást eredményez,

majd ezt követően, a védelmi rendszerek jótékony aktivációjának eredményeként egy platófázist ér el (24. ábra).



24. ábra: A sejtpusztulás dinamikája a máj I-R károsodása során

Az I-R károsodás tehát a különböző fázisaiban eltérő fokú, de eltérő mechanizmusok is észlelhetők. Ezeket a folyamatokat a korábbiakban részleteztem, itt csak időbeli lefolyásukat emelem ki. (IV. táblázat).

Táblázat IV: A máj I-R károsodásának fázisai

Ischaemia/anoxia

Necrosis 30 perc után 7,4 pH-nál
ATP depléció dependens
Glikolízis , glycin és alacsony pH védelme
foszfolipáz és proteáz aktiváció

Reperfusios károsodás

Korai fázis

Necrosis a reperfúzió utáni 1 órán belül
MPT
Kupffer sejt aktiváció
Szabadgyök képződés
Mikrocirkulációs zavarok

Intermedier fázis

Kupffer sejt mediát necrosis és apoptosis 6
órával a reperf.után
Kupffer sejtek szabadgyököket, citokineket
és chemokineket szabadítanak fel
TNF-alfa mediált tüdő sérülés
Kupffer sejt mediált neutrofil margináció
T-helper sejt aktiváció
Mikrocirkulációs zavarok

Késői fázis

Neutrofilek által mediált necrosis 24 óra után
Neutrofilek átlépnek az endothelen,
aktiválódnak, szabadgyök, elasztáz és
katepszin felszabadul
Mikrocirkulációs zavar

A korai fázisban a pH dependens mitokodrium diszfunkció a reperfúzió bekövetkezte után percekkel hepatocellularis nekrozishoz vezet, illetve kissé hosszabb idő múlva apoptózis jelentkezik. A Kupffer sejtek citokin, kemokin és szabadgyök termelése jellemzi a korai időszakot, egészen a reperfúzió kezdete utáni 6. óráig. A neutrofilek már 30 perctől „színre lépnek”, de főszerepet csak a késői fázisban játszanak, ekkor már szabadgyök és proteáz termelésük miatt a sejtkárosodás elindul.

Az ischaemia hossza meghatározza azt is, hogy a három fázis (korai, intermedier késői) közül melyik lesz a domináns. Hosszú ischaemia után az intermedier fázis folyamatai

hangsúlyosak, így a Kupffer sejtek jelentős TNF- α és egyéb citokin, illetve kemokin termelése miatt ilyenkor van a legnagyobb esély a távoli szervi, vagy akár többszervi károsodásra (218).

3.6. Az ischaemia-reperfúziós károsodást befolyásoló tényezők

Az ischaemia-reperfúziós károsodást alapvetően 3 tényező befolyásolja; az ischaemia hossza, az ischaemia hőmérséklete (meleg, vagy hideg ischaemia), illetve a máj állapota (általában az ATP ellátottsága) (219).

3.6.1. Az ischaemia hossza

Úgy tűnik, hogy 60 perc meleg ischaemia után a májsejt károsodás reverzibilis, az oxigén ellátás helyreállítását követően az ATP termelés normalizálódik. Állatkísérletekben egyértelmű, hogy 120-180 perc ischaemia már irreverzibilis, a „point of no return” valahol 90 perc körül van (220, 221).

Májtranszplantáció során a hideg ischaemias idő növekedése a graft diszfunkció valószínűségét fokozza (222, 223). 24 órás hideg ischaemia után a májsejtek kiterjedt, multifokális koagulációs nekrozisát láthatjuk extenzív neutrofil invázióval és bevérzésekkel (224).

3.6.2. Az ischaemia “hőmérséklete”: hideg-meleg ischaemia különbségek

A transzplantációk indulása óta tudjuk, hogy az ischaemia hőmérsékletének csökkentésével (a szerv hideg perfúziójával-prezervációjával) a szerv ischaemia tűrő képessége (és ezzel az I-R károsodás foka) csökkenthető. Az I-R károsodás elszenvedői a hepatocyták és a sinus endothel sejtek. Ez a két sejtípus különféleképpen reagál az ischaemia hőmérsékletére. A hepatocyták jóval érzékenyebbek a meleg ischaemiára, mint a sinus endothel sejtek, míg utóbbiak rosszul tolerálják a hideg ischaemiát. Míg a májsejtek akár 48 óra hideg prezerváció utáni reperfúziót követően is életképesek maradhatnak, addig a sinus endothel sejtek legalább 40%-a elpusztul (225).

Általánosságban tehát elmondható, hogy májreszekciók során alkalmazott meleg ischaemia-reperfúzió során inkább hepatocita károsodással kell számolnunk, míg májtranszplantációk esetén sinus endothel sejtek pusztulása a valószínűbb.

3.6.3. A máj állapota

3.6.3.1. Tápláltsági állapot

Több állatkísérletes és human tanulmány is igazolta, hogy a glycolysishez szükséges szubsztrátok mennyisége alapvetően befolyásolja az I-R utáni károsodás fokát, hiszen ez meghatározza, hogy az ischaemia-reperfúzió alatt milyen a “kiindulási” ATP szint (226, 227, 228).

Éhezés hatására az I-R károsodás felerősödik, mivel az ATP mennyiség hamarabb elfogy, miután az oxidatív foszforiláció gátolt és a glikogénnek kell biztosítani a máj energetikáját (229).

Ráadásul az éhezés a szöveti antioxidáns védelmet is felboríthatja, mivel felgyorsítja a xantin-dehidrogenáz xantin-oxidázzá alakulását a hypoxia fázisa alatt. Ez mitokondrium károsodást von maga után, melynek foka szintén magasabb éhezést követően, míg a máj antioxidánsok mennyisége csökken (230, 231, 232).

3.6.3.2. A beteg életkora

Több kor függő folyamatot azonosítottak már az I-R károsodás mechanizmusában (233, 234, 235, 236).

Meleg májischemia alatt az idősebb egereknél a fiatalabb egerekhez képest fokozottabb neutrofil aktivációt, intracellularis szabadgyök mennyiséget és csökkent mitokondrium működést igazoltak. Ennek megfelelően az I-R károsodás jelentősebb volt náluk.

3.6.3.3. Zsírmáj

Több hipotézis magyarázza a zsírmáj I-R károsodással szemben észlelt csökkent toleranciáját. A rosszabb mikrokeringés mellett (mely reperfúzió során játszhat szerepet) (237, 238, 239), a májsejtek alacsonyabb antioxidáns kapacitása miatti gyengébb szabadgyökökkel szembeni ellenálló képessége lehet az ok (240, 241).

Ezt támasztaná alá több olyan vizsgálat is, melyben zsírmájú állatoknál antioxidánsokat adagolva az I-R károsodás a normál májú állatokéhoz vált hasonlóvá (242).

Továbbá ismert tény, hogy a zsírmáj glikogén tartalma és így ATP ellátottsága rosszabb, mint a normál májszöveté (243).

Normál májszövet esetén meleg ischaemia-reperfúzió során apoptózis figyelhető meg. Zsírtej esetén a károsodás többnyire nekrozis, mivel kevesebb a zsírtej kaspáz termelése (244).

Ráadásul a különböző eredetű zsírtejek esetén egyes mechanizmusok eltérőek lehetnek. Alkoholos eredetű zsírtejnél a neutrofil aktiváció és a TNF- α termelés fokozott, ez a kemoterápia asszociált steatohepatitisnél (CASH) nem észlelhető (245, 246).

Cirrhoticus betegeknél fenti folyamatokról egyelőre nincs adat. A legsúlyosabban károsodott májszövetű betegek I-R károsodásának vizsgálata különleges fontossággal bír.

3.7. Az I-R károsodás csökkentésének módszerei

3.7.1. Ischaemias preconditionálás (IP)

Ha az IR eseményt átmeneti ischaemiás periodus előzi meg, az IR károsodás mértéke jelentősen csökken, növelhető akár a tolerálható ischaemia ideje. Ezt a folyamatot ischaemiás preconditionálásnak nevezzük.

Murry myocardiumon igazolta az ischaemias preconditionálás protektív hatását (33). Röviddel ezt követően májon is megkezdtek IP hatásosságának, illetve pathomechanizmusának vizsgálatát (247, 248).

3.7.1.1. Az IP pathomechanizmusa

Az ischaemias preconditionálás hatása rendkívül gyors, hiszen mintegy 10 perc alatt az alábbi folyamatok, akár transzkripciós módosulások is megtörténnek (247, 248). Maga a protektív folyamat több sejt interakciója során valósul meg, az eljárás ráadásul több helyen is beavatkozik az ischaemia-reperfúziós károsodás patomechanizmusába, melyeket az alábbiakban részletezek.

3.7.1.1.1. Citokin termelés

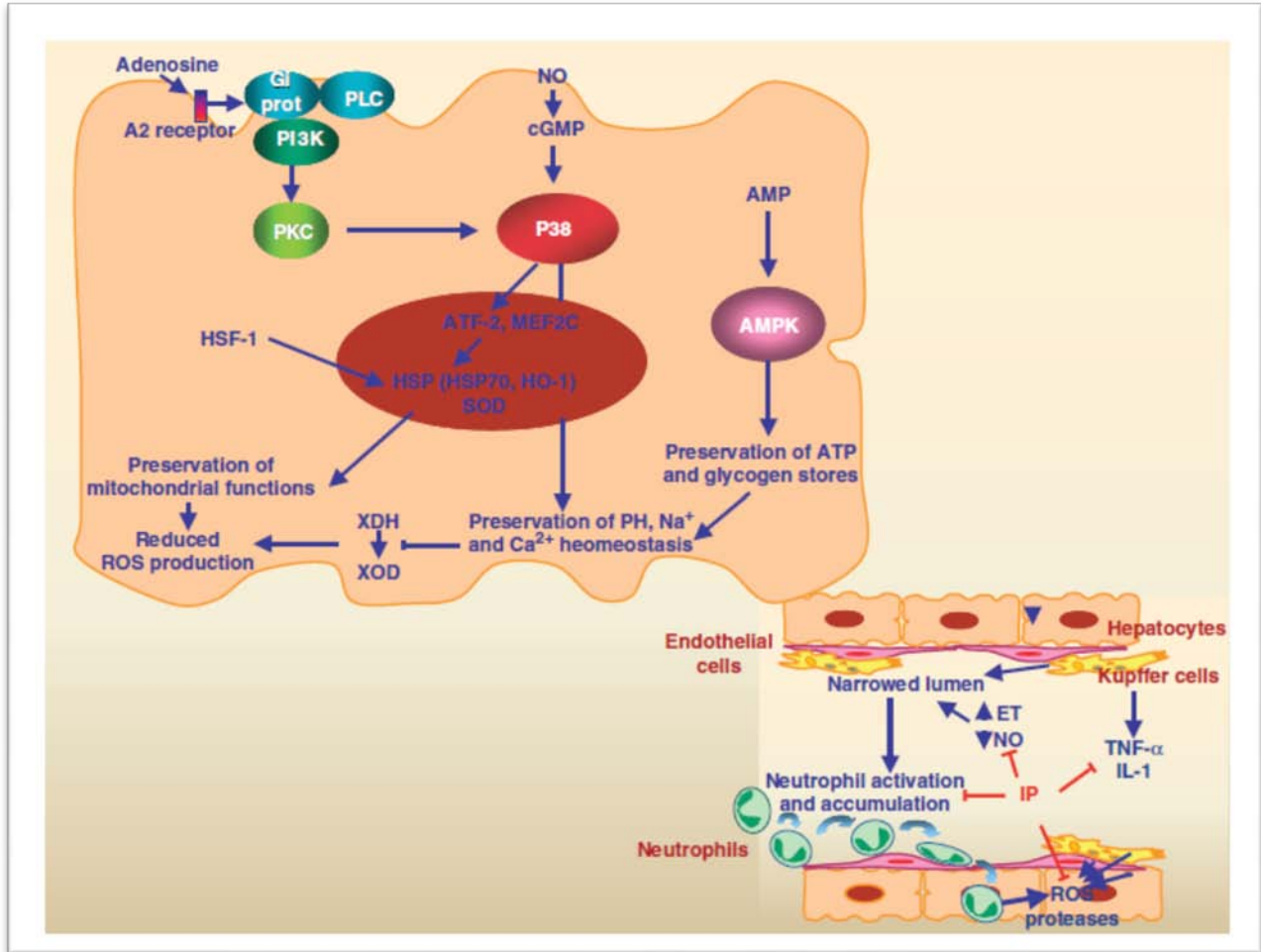
A citokinek felelősek az I-R károsodás folyamatának generalizálódásáért, hiszen hírvivő molekulák lévén a sejtközötti interakciókat szabályozza. Az IP csökkenti mind a neutrofilek, mind a Kupffer sejtek aktivációját és proinflammatorikus citokin termelését (249, 247, 248, 250).

3.7.1.1.2. Sejtenergetika-ATP prezerváció

Ischaemia-reperfúzió okozta károsodás végén ATP hiány lép fel, mely következményes sejthalált okoz. Az ATP megőrzése alapvető védelmi rendszer, melyet az IP adenosinon keresztül valósít meg.

Az adenosinnak 3 receptorát ismerjük. Az A1 és az A3 receptorok aktiválása gátló G proteineket stimulál, mely blokkolja az adenil-cikláz enzimet, így a 3`5`ciklikus AMP szintje csökken. Az adenosine A2 receptor szintén gátló G proteineket, illetve foszfolipáz C (PLC) és foszfatidilinositol 3-kinázt (PI3K) aktivál, mely aktiválja a protein kináz C-t (PKC), illetve a p38-at. Utóbbiak adenil-ciklázt aktiválnak, így a cAMP szint tovább emelkedik (251). Ezek következtében további kaszkádok aktiválódnak (25. ábra), mely végén olyan mechanizmusok indulnak el, melyek a sejt energia metabolizmusának, mitokondrium funkciójának, pH és ion homeosztázisának fenntartását segítik (202, 252, 253).

Előzőek mellett IP hatására fokozódik a heat shock transcription factor (HSF1) működése, így a heat shock protein (HSP27, HSP70, and HO-1) szintézis fokozódik, melyek a mitokondriumok membránpotenciáljának, így ATP termelésének megőrzésében fontos szerepet töltek be (254, 255).



25. ábra: Mechanizmusok, melyekben az IP kifejti védő hatását (219)

3.7.1.1.3. Ionhomeosztázis megőrzése

Az ion homeosztázis fontosságát jelzi, hogy mind a preconditionálás hatására korai és a késői fázisban is történnek lépések megőrzésére, illetve helyreállítására (256, 257). A korai fázisban a Na/H exchanger gátlása révén, a késői fázisban a HIF-1 mediant carbonic anhydrase IX (CAIX) révén HCO_3^- termelődik és transzportálódik a sejtbe, így neutralizálva a savas pH-t és elkerülve a Na beáramlást (258, 207).

A PKC aktiváció eredményeként a foszforilált K_{ATP} csatornák megnyílnak. A K_{ATP} csatornák nyitásával nő a K^+ kiáramlás, így az akciós potenciál ideje lecsökken, ennek következtében csökken a feszültség-függő Ca^{2+} csatornákon beáramló Ca^{2+} mennyisége (259, 260). Az alacsonyabb intracelluláris Ca^{2+} szint csökkentheti az ischaemiás károsodást

3.7.1.1.4. Oxidatív stressz

Mint korábban említettem az IP csökkenti a neutrofil aktiválódást így azok szabadgyök termelése is kevesebb lesz. Ezen kívül antioxidánsok termelése (pl. SOD, HSP-k) is fokozódik preconditionálás hatására (202, 261).

Ezen kívül IP hatására csökken a xantin mennyisége, mivel a preconditionálás következtében a xantin dehidrogenáz xantin oxidázzá történő átalakulást gátolja. A NFkB-n és a p38MAPK-n keresztül pedig protektív gének expresszióját fokozza, így antioxidánsok termelődése fokozódik (262).

3.7.1.1.5. Mikrokeringés

Az ischaemias preconditionálás a vasoconstrictor molekulák (endothelin) hatását gátolja, így a szöveti mikrokeringés javul (263). Az adenosin szintjének emelkedése pedig vasodilatációhoz vezet.

A NO kulcsszerepet játszik az IP iniciálásában, illetve mint mediátor szerepel a folyamatban. A NO, mint potens vasodilatátor, hatását mind sinusoidalis, mind presinusoidalis szinten kifejti. Peralta szerint a NO-nak az endothelinen történő gátlása okozna preconditionáló hatást (264). Kimutatható, hogy az IP hatására megnövekedett mikrocirkuláció és intracelluláris oxigénhasznosítás háttérében a megnövekedett NO szint áll (265).

3.7.1.1.6. Apoptózis gátlás

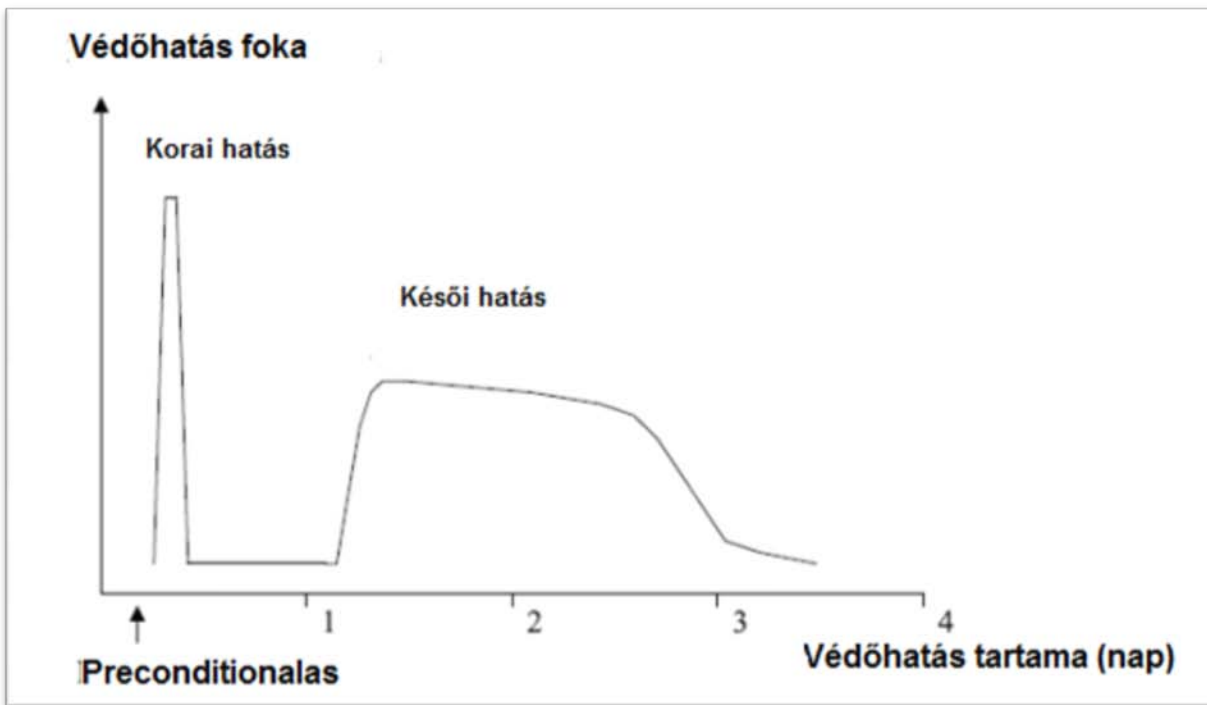
Nemcsak a májsejtek, de a sinus endothel sejtek apoptózisát is gátolja az ischaemias preconditionálás (202). Egy fontos anti-apoptoticus folyamat, a PKB/Akt fokozódását figyelték meg, mely a kaszpáz aktivációt csökkentette (266, 267).

Az ischaemiás preconditionálás és az apoptózis összefüggése nem egyértelmű. Tények alapján elmondható, hogy a NO csökkenti az apoptózist az endothelsejtekben (268).

Kísérleti modellben, parciális májischemia előtt alkalmazott IP gátolta az apoptózis kialakulását hepatocytákban és sinusoidalis endothelsejtekben. A jelenséget a kaszpáz-3 inaktivációjával hozták összefüggésbe (269). A kapcsolat az IP és a kaszpázok csökkent aktivitása közt csupán spekulatív. Kimutatták, hogy a NO kaszpáz gátló hatással rendelkezik in vitro. Ezen elképzelés szerint (270). Az NO antiapoptotikus hatása a megnövekedett cGMP szinttel, a Bcl-2 upregulációjával, illetve fokozott HSPs termeléssel lenne kapcsolatban (271). Fentiek alapján vélhetően a májban az IP antiapoptotikus hatása NO mediált.

3.7.1.2. Az IP dinamikája

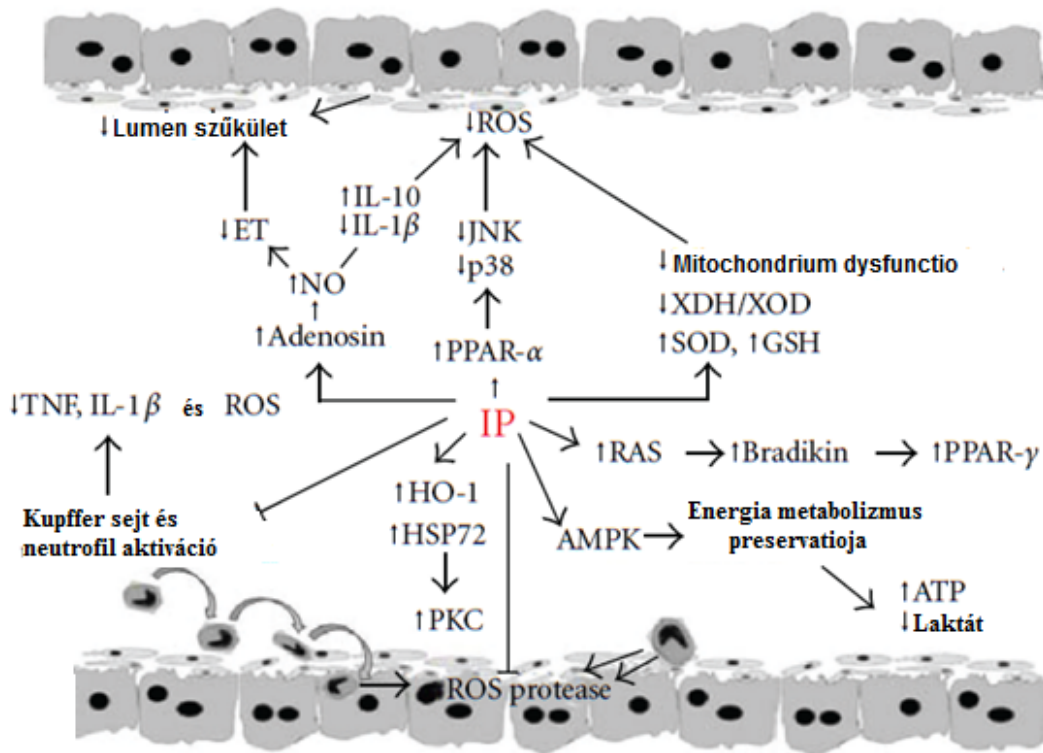
A preconditionálás protektív hatásának eléréséhez olyan megfelelő hosszúságú ischaemia-reperfúzió szükséges, mely a korábban részletezett folyamatokat már elindítja. Ez legalább 3-5 perces ischaemiát, majd azt követő minimum 5 perc reperfúziót jelent (33). Már egy ciklus ischaemia-reperfúzió is elég a protektív hatás eléréséhez. A preconditionálás rövid ischaemiaja után amennyiben legfeljebb 60 perc reperfúzió következik, úgy a jótékony hatás még tapasztalható. Ha a köztes időintervallum meghaladja az 1-4 órát, a protektív hatás már nem alakul ki. Ha az IP és az azt követő ischaemia közötti időt 24-29 órára növeljük, azt tapasztaljuk, hogy az ischaemiás károsodás ismét csökken (272). Ez az ún. késői preconditionálás, vagy „second window of protection” (26. ábra).



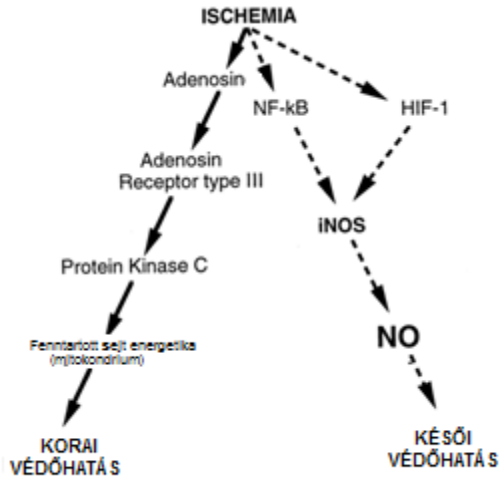
26. ábra: A preconditionálás kétfázisos védőhatása (273)

Ekkorra az adaptáció már a génátírás modulálásán keresztül alakul ki. A korai preconditionálással szemben a preconditionálásnak ez a formája alacsonyabb szintű védelmet

nyújt, de hatása elhúzódó. A késői preconditionálás (26. ábra) triggerei az első ischaemia hatására aktiválódnak. Főképp génszinten fejt ki hatását. Mediátorai az újonnan expresszáldó fehérjék, melyek az elkövetkező 24-72 órában nyújtanak védelmet (273). Az IP késői hatásai eredményeként javul a postischaemiás sinusoidális perfúzió, az epeelválasztás, valamint csökken a leukocytá infiltráció, illetve az aminoszteráz felszabadulás. A késői preconditionálás szorosan összefügg a hőshockfehérjékkel (273). A HSP27 és HSP70 fontosak, mert kötődnek cytochróm c-hez, ezáltal megelőzik a kaszpáz aktivációt. Az egyik HSP, a hem-oxigenáz (HSP32) up-regulációja csökkenti az NF- κ B és HIF-1 aktivációját, így anti-inflammatoricus és antiapoptotikus hatású (27, 28. ábra).



27. ábra: Az IP hatásai



28. ábra: Az IP korai és késői hatásai

Ahogy azt korábban említettem az ischaemia-reperfúzió okozta stressz különféle gének átírását is elindítja. Ezek a folyamat generalizálódását, illetve elhúzódását okozzák. A génátírást koordináló transzkripciós faktoroknak így jelentős szerepe van a folyamatban (274, 202). Az alábbi transzkripciós faktorok játszik a fő szerepet az IP késői fázisában.

Nuklearis factor- κ B:

Az NF- κ B a gyulladáshoz szükséges géneket szabályozza (275). Kísérletes máj I-R modellben az ischaemias preconditionálás az NF- κ B aktivitást különféleképp módosítja (276, 277).

Az NF κ B aktivitás csökkenése figyelhető meg hepatocitákban, míg nem parenchymalis sejtekben az IP-nek ilyen hatása nincs. A csökkent transzkripciós faktor szint miatt a proinflammatorikus citokinek szintje csökken.

Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1):

Preconditionálás hatására HIF1- α aktiválódás figyelhető meg, mely hatására a hypoxia ellensúlyozását célzó fehérjék (GLUT2 és iNOS) átírása kezdődik (278). Kimutatható azonban, hogy nem a preconditionálás rövid idejű ischaemiaja okozza aktiválódását, hanem az adenosin receptor, illetve egyéb nem hypoxia dependens stimulusok (citokinek, PKC) (279).

Mivel transzkripciós módosulásokat is maga után von, így egyértelmű, hogy nemcsak a korai, hanem (főképp) a késői protektív hatás közé sorolható az IP HIF1- α aktiválása (280, 281).

3.7.2. Ischaemias postconditionálás

Az ischaemias preconditionálással ellentétben, ahol a kondicionaló stimulust a tervezett ischaemia előtt alkalmazzuk a postconditionalas során a rövid, akár repetitív ischaemia-reperfúziót az ischaemia után alkalmazzuk (282). Ahogy a preconditionálásnál is megfigyelhető, postconditionalas során is az adenosine és az NO játszik főszerepet. Ráadásul az IP-hez hasonlóan a postconditionalasnál is megfigyelhető távoli szervi hatás. Ezek a megállapítások azonban állatmodellekre igazak, jelenleg ugyanis nincs randomizált kontrollált human tanulmány a postconditionalas hatásának vizsgálatáról (283, 284, 285, 286, 287, 288).

3.7.3. Ischaemias perconditionalas (remote preconditioning)

Bármely szerven kiváltott rövid ischaemia-reperfúziós ciklus(ok), azaz IP, egy másik szerven protektív hatást képes kifejteni a másik szerven alkalmazott ischaemiával szemben. Állatkísérletek során leggyakrabban alsó végtagi rövid I-R ciklusokat alkalmaztak általában máj, vagy szív ischaemia-reperfúzió kivédésére. A folyamat pathomechanizmusa hasonló a preconditionálás lokális hatásához, humoralis faktorok játszanak szerepet a korai fázisban a későiben viszont már a géntszkripciós termékek dominálnak (289).

3.7.4. Kémiai (farmakológiai) preconditionálás módszerek

A kémiai (farmakológiai) preconditionálás hatásosságát állatmodelleken számtalan alkalommal, számtalan vegyülettel vizsgálták (V. táblázat). Human eredmények azonban szerények. Lang és munkatársai NO-t adagoltak májtranszplantáción átesett betegeknek a transzplantáció előtt, és a májfunkció gyorsabb normalizálódását észlelték (290).

Ismertebb eredmény a Sevoflurane inhalációs anaestheticum preconditionáló hatása. Egy tanulmányban a máj afferens kirekesztése előtt az addig alkalmazott intravenas anaestheticumot Sevoflurane-ra cserélték. Az így előkezelt csoportban alacsonyabb volt a posztoperatív

maximalis transzamináz szint, illetve kevesebb volt a súlyos posztoperatív szövődmények aránya (291).

Tekintettel arra, hogy a szabadgyökök az egyik legfontosabb májkárosítók az I-R során lejátszódó gyulladási folyamat alatt, az antioxidánsok és szteroidok alkalmazása plauzibilisnek tűnik. A metil prednison és egyes antioxidánsok használata főképp állatkísérletek során váltotta be a hozzájuk fűzött reményeket, human vizsgálat során azonban csak transzamináz szint csökkenést lehetett elérni használatukkal, klinikai haszon nélkül (292, 293, 294, 295, 296, 297).

Pharmacological therapy				
Liver transplantation and warm hepatic ischemia				
Drug	Specie	Experimental model	Ischemic time	Effect
Chlorpromazine (Ca2+ channel antagonist)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ ATP, ↓ mitochondrial dysfunction and alterations in lipid metabolism
Tauroursodeoxy-cholate	Rat	Liver transplantation Warm ischemia + hepatectomy	8 h 1 h	↓ Endoplasmic reticulum stress
Cbz-Val-Phe methyl ester (calpain inhibitor)	Rat	Liver transplantation	24, 40 h	↓ Calpain activation and SEC apoptotic
Tocopherol (antioxidant)	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	5 h 45, 90 min	↓ Lipid peroxidation, ↓ SEC damage and microcirculatory disturbances
Glutathione (antioxidant)	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	60, 90 min 24 h	↓ Microcirculatory disturbances, ↓ detoxification of ROS,
SOD (antioxidant)	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	45 min and 1 h	↓ Microcirculatory disturbances and leukocyte accumulation
Allopurinol (XOD inhibitor)	Rat, Mice	Liver transplantation Warm ischemia	8, 16 h 30, 60 min	↓ Oxidative stress
Bucillamine (antioxidant)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ Oxidative stress
AMPK activators	Rat	Warm ischemia	90 min	↑ NO, and ATP
Adenosine	Rat	Warm ischemia	90 min	↑ NO
N-acetylcysteine (glutathione precursor)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ Microcirculatory disturbances
L-arginine (NO precursor)	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	18 h 45 min	↑ ATP, ↑ NO, ↓ neutrophil accumulation
Spermine NONOate (NO donor)	Rat	Warm ischemia	60, 90 min	↓ IL-1α and oxidative stress
FK 409 (NO donor)	Rat	Liver transplantation	80 min	↓ SEC damage, ↓ IL-1 ↑ HSP, and IL-10
EHNA (adenosine deaminase inhibitor)	Rat	Liver transplantation	24, 44 h	↑ Interstitial adenosine, ↓ leukocytes rolling and microcirculatory disturbances
CGS-21680 (adenosine A2 receptor agonist)	Rat	Liver transplantation	30 h	↓ SEC killing, ↓ cAMP
Anti-TNF antiserum	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	6, 24 h 90 min	↓ TNF and leukocyte accumulation
FR167653 (IL-1β and TNFα suppressor)	Rat	Liver transplantation	48 h	↓ TNF and IL-1α and Kupffer cell activation
IL-10	Rat	Warm ischemia	60 min	↓ IL-1 and oxidative stress
Anti-ICAM-1	Rat	Liver transplantation Warm ischemia	24 h 1 h	↓ Adherence of leukocytes in postsinusoidal venules
PSGL-1 (P-selectin blocker)	Rat	Liver transplantation	6 h	↓ Neutrophil infiltration, ↓ INFγ, TNFα and iNOS
CS1 peptides (FN-α4β1 interaction blocker)	Rat	Liver transplantation	4 h	↓ Neutrophil and lymphocyte T infiltration, ↓ TNFα and iNOS
sCRI (complement inhibitor)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ Microcirculatory disturbances, ↓ leukocyte adhesion
Sodium ozagrel (thromboxane synthase inhibitor)	Pig	Liver transplantation	8 h	↓ ET-1
Glycine (Kupfer cell modulator)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ TNFα and neutrophil accumulation
GdCl ₃ (Kupffer cell blocker)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ TNFα and neutrophil accumulation,
Z-DEVD-FMK (caspase 3 and 7 inhibitor)	Rat	Liver transplantation	16 h	↓ Apoptosis, ↑ microvascular perfusion and Bcl-2
Cobalt-protoporphyrin IX (HO-1 inducer)	Rat	Liver transplantation	6 h	↓ T-cell and macrophages infiltration
ANP (vasodilating peptide)	Rat	Liver transplantation	24 h	↓ Apoptosis, ↑ PI3K/Akt
Hemin (HO-1 inducer)	Rat	Liver transplantation	6 h	↓ Bcl-2
Cerulenin (fatty acid synthase inhibitor)	Mice	Warm ischemia Liver transplantation	15 min 80 min	↓ UCP2, ↑ ATP
Doxorubicin (heat shock proteins inducer)	Rat	Liver transplantation	48 h	↓ TNFα, MIP-2 and NFκB
Catalase and derivatives	Mice	Warm ischemia	30 min	↓ Oxidative stress
Rosiglitazone (PPAR-α agonist)	Rat	Warm ischemia	30, 60, 90 min	↑ Autophagy, ↓ cytokines
Apocynin (NAPH oxidase inhibitor)	Mice	Warm ischemia	30 min	↓ Oxidative stress
TBC-1269 (PAN selectin)	Mice	Warm ischemia	90 min	↓ Inflammatory response, ↓ ERK 1/2
Melatonin (hormone)	Rat	Warm ischemia	40 min	↓ IKK and JNK pathways
Ascorbate (ROS scavenger)	Rat	Warm ischemia	30 min	↓ Apoptosis
FK506 (Immunosuppressant)	Rat	Warm ischemia	60, 90 min	↓ TNF
Gabexate mesilate (Protease inhibitor)	Rat	Warm ischemia	60 min	↓ Leukocyte activation, ↓ TNFα
OP-2507 (Analogue of prostacyclin)	Rat	Warm ischemia	60 min	↓ Microcirculatory disturbances
WY-14643 (PPAR-α agonist)	Rat	Warm ischemia	60 min	↓ Inflammatory cytokines, ↓ oxidative stress
α-Lipoic acid (Antioxidant)	Rat	Warm ischemia	90 min	↓ Apoptosis, ↑ liver regeneration
Sirolimus (Immunosuppressant)	Rat	Warm ischemia + hepatectomy	60 min	↓ Linfoytes
IL-1ra (IL-1 receptor antagonist)	Rat	Warm ischemia + hepatectomy	90 min	↓ TNF and oxidative stress
FK 3311 (Cox-2 Inhibitor)	Dog	Warm ischemia	60 min	↓ Cox-2, ↓ neutrophil infiltration

V. táblázat: farmakologiai preconditionálás

4. CÉLKITŰZÉS

4.1. Célkitűzés

A máj afferens kirekesztése okozta I-R károsodás csökkentése ischaemias preconditionálással.

4.1.1. Kérdések

ÁLLATMODELL

1. Hogyan alakul különböző idejű ischaemiás periódusok, illetve ezt megelőző IP után a:
 - mikrocirkuláció;
 - patomorfológiai kép;
 - egyes citokinek (TNF- α) szintje;
 - rutin laborparaméterek, illetve
 - az állatok túlélése?
2. Mely ischaemiás időtartamok előtt alkalmazott IP képes protektív hatást kifejteni?

HUMAN VIZSGÁLAT

3. Van-e különbség a máj afferens kirekesztését követő májlaesio tekintetében az ischaemias preconditionálásban és az intermittáló portális kirekesztésben részesült betegek között
4. Az oxidatív stressz mértéke kisebb-e amennyiben az afferens kirekesztés előtt ischaemias preconditionálást alkalmazunk?
5. Cirrhoticus betegek esetén van-e különbség az IP hatását tekintve?
6. Van-e a vérzés és a transfúzió mennyiségében, valamint a morbiditási és mortalitási adatokban is megnyilvánuló klinikai haszna az ischaemias preconditionálásnak?

4.2. A témaválasztás indoklása

Májreszekciók során a vérvesztés elkerülése alapvető fontosságú mind a szövődmények megelőzése, mind a megfelelő sebészi technika alkalmazhatósága szempontjából. Az egyre elterjedtebb -és az I.sz. Sebészeti Klinikán rendszeresen alkalmazott- kiterjesztett májreszekciók esetén a kérdés kiemelt jelentőségű. A máj ischaemiás károsodásának csökkentése a fentiekből

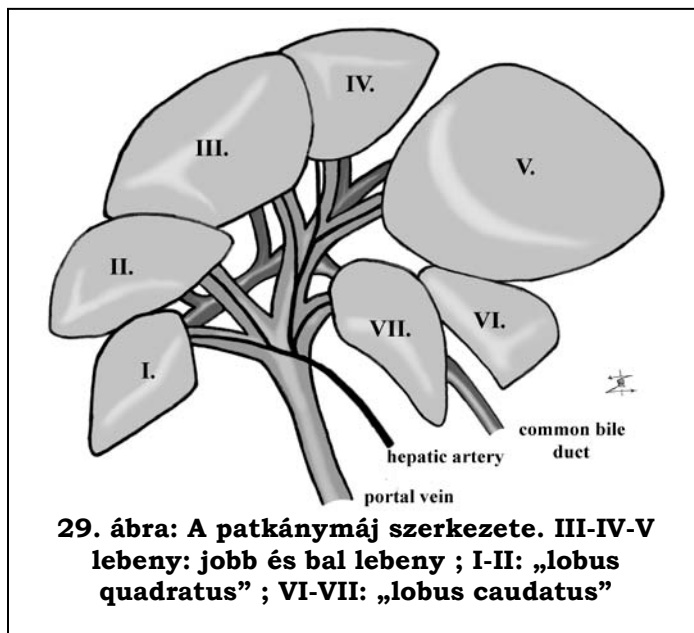
következő alapvető igény. Az efferens rendszer kirekesztésére csak ritkán, egyes a vena cava-t, esetleg a vena hepaticakat infiltráló tumoroknál lehet szükség. A máj afferenciájának elzárása májischémiát okoz, a kirekesztés megszüntetése reperfüziós károsodást von maga után. Májcirrhosis, illetve egyéb okból károsodott májműködés (icterus, chemotherapia, zsírmáj stb.) esetén az IR károsodás csökkentése fokozott követelmény. Az IR hatás kontrollja növeli a reszekálható esetek körét.

5. MÓDSZEREK

Fentiek vizsgálatára a Semmelweis Egyetem I.sz. Sebészeti Klinikáján 1974 és 1979 között végzett kísérletek során Kupcsulik által (16, 17) kidolgozott kisállat modellt, illetve prospektív randomizált tanulmány keretében elvégzett human vizsgálatot alkalmaztunk.

5.1. Állatmodell kísérleti elrendezése, műtéttechnika

A műteket hím Wistar patkányon végeztük, az I. kísérlethez 80 állatot, a II. kísérlethez 30 állatot használtunk. A beavatkozásokat ketamin iv. narcosisban végeztünk. Az állatok vérnyomását az arteria femoralison át folyamatosan regisztráltuk. Engedély szám: 1858/000/2004, Semmelweis Egyetem EÁB.



3.1.1. Az I. kísérlet műteti elrendezése (29. ábra)

Kontroll vérminta vétel majd median laparotomia után a máj VI. lebnyét kontroll szövettani mintavétel céljából eltávolítottuk. Atraumatikus mikroklippel hoztuk létre az I, II, V. lebny ischaemiáját az odavezető szegmentalis bilio-vascularis nyélre helyezett klippel. A kísérleti elrendezés lehetővé tette, hogy a splanchnicus

véráramlás a IV. lebnyen át fenntartható legyen. A teljes splanchnicus stasist a kísérleti állatok nem tolerálják. A különböző csoportokban az ischaemia ideje 30, 45, 60, illetve 90 perc volt. Az áramlást az V. lebnyen lézer Doppler flowmeterrel vizsgáltuk folyamatosan.

Az ischaemiás preconditionálást 1 ciklusban (5 perc ischaemia – 10 perc reperfúzió) hoztuk létre a tervezett ischaemiát megelőzően. A prolongált ischaemia végén az I. lebnyet szövettani vizsgálat céljából eltávolítottuk, majd a kirekesztést megszüntettük. A reperfúzió 30. percében II. lebnyet reszekáltuk hisztológiai feldolgozásra. 30 perc reperfúzió után vénás vérmintát vettünk TNF- α szint meghatározásra. Az állatok így az ép III -IV-VII, valamint az I-R-károsodott V.

lebennyel éltek tovább. Az első postoperatív napon további vérmintát vettünk, majd az állatokat a hetedik postoperatív napon kivéztettük, újabb vérmintákat (seBi, AST, LDH, TNF- α), illetve az I-R károsodott lebenyből szövettani mintát vettünk.

5.1.2. A II. kísérlet műtéti elrendezése

A korábbi kísérlet szerint a fenti elrendezésben 90 perces ischaemia nem tolerálható, a 45 perc után a túlélés 90%, 60 perc után 60%. A 60 perc tehát kritikus ischaemia időnek tekinthető, így ilyen, 60 perces ischaemiás csoportokat hoztunk létre. A csoporton belül áloperált, I-R és IP + I-R alcsoportokat alkottunk (n=30).

I-R = ischaemia-reperfúzió (60 perc ischaemia, majd reperfúzió)

IP+I-R = ischaemias preconditionálás + 60 perc ischaemia, majd reperfúzió

Median laparotomia után az V. májlebenyen LDF-rel folyamatos áramlásmérést végeztünk. Az „IP” csoportban 1 ciklusban [5 perc ischaemia – 10 perc reperfúzió] ischaemiás preconditionálást után a III., IV., V. lebenyek bilio-vascularis nyelére atraumatikus mikroklippeket helyeztünk 60 percre. A májban így – a szerv közel 2/3-t érintő – szegmentalis ischaemiát hoztunk létre. A 60 perc ischaemia után az I., II., VI., VII. lebenyek reszekciója után a mikroklippeket eltávolítottuk, így a benntmaradó májlebenyek vérellátása helyreállt. 60 percig LDF-rel vizsgáltuk az V. lebeny reperfúzió alatti mikrocirkulációját. Ezt követően zártuk a hasüreget, majd az ischaemia utáni 6. órában mindhárom I-R károsodott lebenyből szövettani mintát vettünk, illetve a máj maradék részéből homogenizátumot készítettünk. Végül az állatokat exsanguinaltuk, a vérmintából szérum antioxidáns paramétereket mértünk.

5.2. Human vizsgálatok

5.2.1. A vizsgálat tervezése

Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikán 2004 és 2008 között, egymást követően jelentkező, 160 májreszekción átesett beteget vontuk be még a műtét előtt prospektív randomizált vizsgálatunkba, akiknél több, mint 2 májszegmentum eltávolítását terveztük. A betegeket intermittáló portális kirekesztés (IPC), illetve ischaemias preconditionálás (IP+ folyamatos kirekesztés) csoportokba randomizáltuk. A kirekesztés során a vena cava és vena hepatica áramlás megtartott volt. A vizsgálatba 60 cirrhoticus beteget is bevontunk.

Csoportok: Normál máj IPC (A csoport: 50 beteg), normál máj IP (B csoport: 50 beteg), cirrhosis IPC (C csoport: 30 beteg), cirrhosis IP (D csoport: 30 beteg). A preoperatív májfunkciót indocyanide green (ICG) vizsgálattal határoztuk meg.

5.2.2. Sebészi beavatkozás

A vizsgálatot az egyetemi etikai bizottság engedélye (TUKÉB No: 15/2004) szerint végeztük. A betegeket -felvilágosítás és tájékozott beleegyezésük után- a műtőben randomizáltuk a különböző csoportokba. A betegek bármikor visszavonhatták beleegyezésüket a vizsgálat alatt (bár ilyen esemény nem történt). Általános narkózisban jobb oldali subcostalis laparotomiát végeztünk. A reszekálhatóság kimondása után intermittáló portális kirekesztést (IPC: 15 perc ischaemia/5 perc reperfúzió), vagy ischaemias preconditionálást (IP: 10 perc ischaemia/10 perc reperfúzió a folyamatos kirekesztés előtt) alkalmaztunk. A nem cirrhoticus IP csoportban a folyamatos portális kirekesztés ideje legalább 30 percet el kellett érnie, hiszen legalább ilyen hosszúságú ischaemia szükséges a detektálható postoperatív májlaesio kiváltásához normal májszövet esetén. Mivel a cirrhoticus máj jóval érzékenyebb az ischaemia-reperfúziós károsodásra, így ezen csoportban az IP utáni folyamatos kirekesztés elég volt, ha a 20 percet elérte.

A májparenchyma átvágása az ún. Pean-zúzás technikával történt, az epeut és érkepletek ellátása elektrokoagulációval, Ligasure-al (Covidien Ltd, Mansfield, MA), illetve klippekkel történt. Hepato-duodenalis lymphadenectomiát minden esetben végeztünk. A tumor elhelyezkedésének, illetve a máj funkciójának megfelelően különféle reszekciókat végeztünk, de az eltávolított szegmentek száma mindig több volt, mint 2. A reszekált specimen szövettani feldolgozásra került. A cirrhoticus betegek mindegyike Child A, vagy B csoportba tartozott.

5.3. Vizsgálati módszerek

5.3.1. Áramlásmérés laser Doppler flowmeterrel (állatmodell)

A máj mikrocirkulációját laser Doppler flowmeterrel (LDF) vizsgáltuk (MOOR Instruments Ltd. DRT4; kétcsatornás eszköz; $\lambda=632,8$ nm; monokromatikus; 2 mW Helium -Neon Laser). A 0,5 cm átmérőjű felszíni mérőfejet a máj V. szegmentumának mindig azonos területére helyeztük. Az eszköz számítógépes on-line adatrögzítéssel és feldolgozással rögzítette a mérőfej alatti áramlást, a vörösvértest koncentrációt és a hőmérsékletet. A mérések

reprodukálhatóságának céljából néhány standardizáló tényezőt vezettünk be, így biztosítva a különböző befolyásoló tényezők szerepének minimalizálását: (1) hőmérséklet, (2) légzőmozgás, (3) nyomóerő, (4) mérési hely, (5) külső fényerő. Így eredményként hőmérsékletre, vörösvértest koncentrációra és szövetvastagságra korrigált fluxot kaptunk arbitrális skálán (0-1000), mely a máj mikrocirkuláció változásait pontosan jelezte. Mivel az egyes állatok alap májszöveti áramlásértékei eltérőek, ezért a görbék nehezen összehasonlíthatóak. Az összehasonlíthatóság elérése céljából az alábbi matematikai korrekciókat alkalmaztuk. Az áramlási görbe regisztrálása a beavatkozás előtt kezdődött (baseline), majd az ischaemia, illetve a reperfúzió alatt folyamatos volt. Az ischaemia alatti áramlást zajnak vettük (biological zero), és egy új, relatív skála nulla értékeként szerepelt (30. ábra). A kontroll alap mikrocirkulációs értéket (baseline) vettük a relatív skála 100-as értékének:

$$T_{flux} = \frac{flux - bz}{baseline - bz} \times 100 \quad , \text{ ahol}$$

T_{flux} : korrigált áramlási érték;

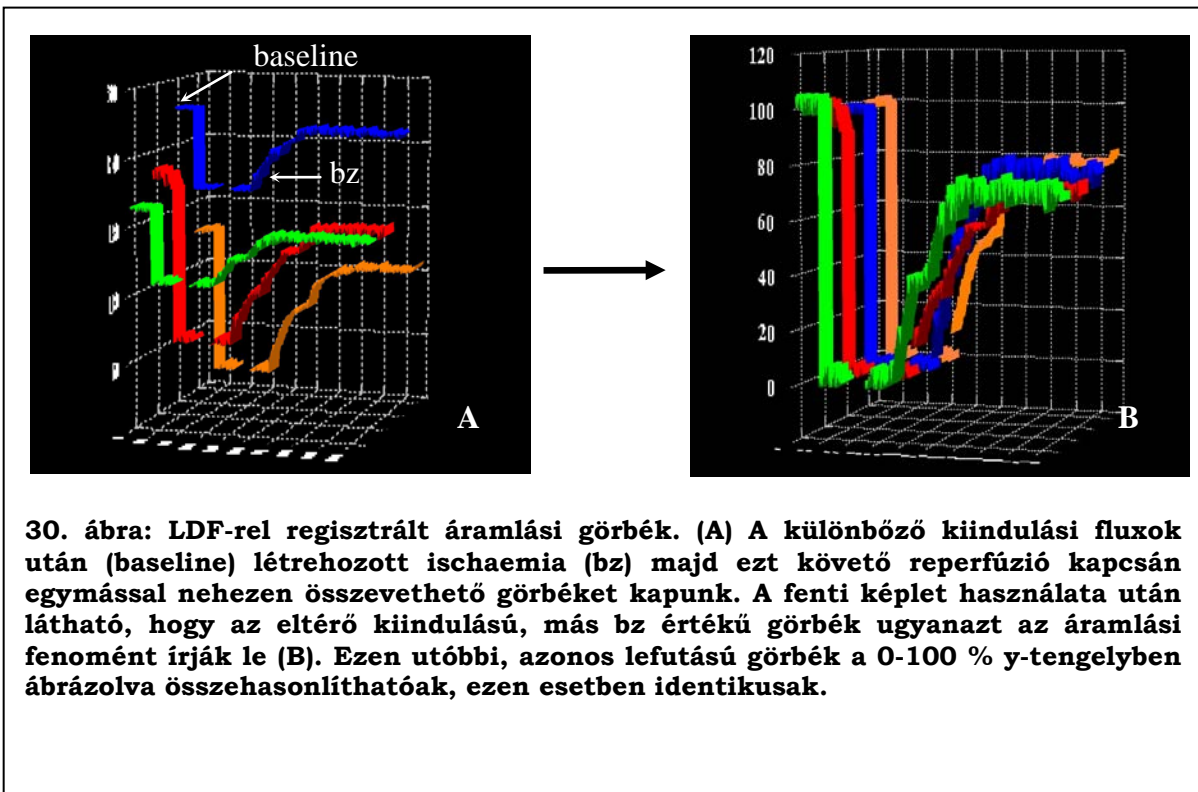
$flux$: mért áramlási érték;

bz : biological zero, az ischaemia alatti áramlás;

$baseline$: normál, kontroll áramlás

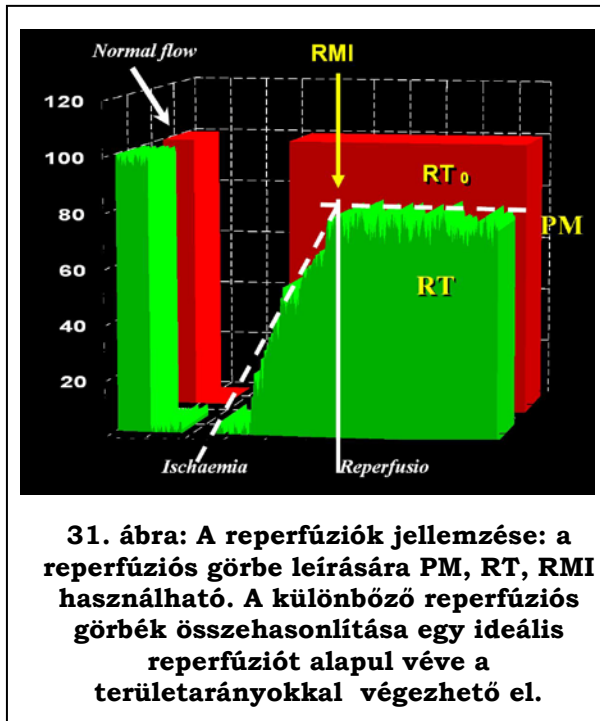
A matematikai korrekciók után különböző egyedeknél regisztrált áramlási görbék összehasonlíthatókká váltak és a jel/zaj aránya is maximálissá vált. A kapott 0-100 %-os skálába illesztett görbéken látható egy kiindulási (baseline) 100%-os kezdeti, alapáramlás, majd nulla százalék körüli, kb. + 5%-os ingadozást mutató ischaemiás periódus. Az ezt követő reperfúzió kvantitatív értékelhetőségének céljából újabb fogalmakat vezettünk be:

1. *Plató maximum (PM)*: A regisztrált áramlási görbe reperfúziós szakaszának összes pontján mért értékek átlagát értjük plató maximumon. Kísérletben, önkényesen a reperfúziós görbék utolsó 5 percében látható stabil áramlási értékek számtani közepét vettük PM értéknek.
2. *Reperfúziós terület (RT)*: A reperfúziós terület kiszámításánál a reperfúzió során detektált áramlási görbe alatti területet számoljuk ki integrálás módszerével.
3. *Reperfúziós Maximális Idő (RMI)*: A reperfúziós görbe karakterének jellemzésére, a mikrocirkuláció ischaemia utáni helyreállásának leírására szolgál a görbe meredeksége. A görbe



felszálló szárára fektetett regressziós egyenes és az önkényesen stabil áramlásúnak leírt (áramlási ingadozás kisebb mind 5%) plató szakasz metszéspontjából kapjuk meg a reperfúzióhoz használt maximális időt.

4. Két görbe összehasonlításához egy újabb, könnyen számolható és használható arányszámot vezettünk be, amit „ K_{RT} ”-val jelöltünk. Az aktuális áramlási görbe reperfúziós területének (RT_x) és egy hipotetikus, ideális áramlási görbe reperfúziós területének (RT_0) arányát számoltuk ki. Hipotetikus, ideális áramlási görbének nevezzük azt a görbét, amikor az ischaemiás periódus után a reperfúziós áramlás azonnal maximális értéket ér el. $K_{RT} = (RT_x / RT_0) \times 100$. (31. ábra)



5.3.2. CT-volumetria

A human vizsgálat során az eredeti CT vizsgálati anyagot, illetve a helyben készült felvételeket a Semmelweis Egyetem Radiológiai klinika CT laboratóriumában értékelték ki. A 0,2 cm-es szeletek planimetriás analízise kézi úton történt, az adatokat a CT készülékbe illesztett software-segítségével számolták ki.

Minden betegnél előzetes vízzel való frakcionált itatás után négyfázisú, iv. kontrasztanyaggal dúsított hasi CT vizsgálat készül. A vizsgálatot MIP (minimum intensity projection), MPR (multi-planar reconstruction), VR (volume rendering) rekonstrukciók segítségével értékeljük. A 3D-rekonstrukciók elkészítéséhez a portális fázisban készült axialis sorozatot használjuk. A máj teljes volumenét (TL-V), a laesiok térfogatát (TV) valamint az FLR volumen meghatározást a Philips munkaadáson megtalálható software segítségével manuális kontúrozás útján végezzük. A v. hepatica és v. portae ágait használjuk tájékozódási pontokként.

A tumormentes májtérfogatot (ntTL-V) a teljes májvolumenből (TL-V) kivont laesiok volumene (TV) útján kapjuk meg.

$$\text{ntTL-V} = \text{TL-V} - \text{TV}$$

A FLR térfogat a laesiomentes májtérfogat százalékos arányát a következő képlettel határozzuk meg:

$$\% \text{FLR-V} = (\text{FLR-V} / \text{ntTL-V}) \times 100\%$$

5.3.3. ICG-mérés

A human vizsgáat során végeztük. Az ICG egy vízoldékony anion, erős infravörös fényt elnyelő és fluoreszkáló anyag. Intravénás beadása után albuminhoz és béta-lipoproteinekhez kötődik a plazmában. Az ATP-szinttől függetlenül az ICG-t más sejtek szelektív módon veszik fel és változatlan formában kiválasztják az epébe egy ATP dependens transzport rendszeren keresztül. Ilyen formán az ICG kiválasztási sebessége a máj ATP illetve energiaszintjét tükrözi. A készítmény optikai adszorpciós csúcsa 805 nm-nél van. Az ICG intravénás adása után csaknem teljes mennyiségében alfa1-lipoproteinekhez kötődik 1-2 másodpercen belül. Ez azt jelenti, hogy mind a perifériás szövetek, mind a vese vagy tüdő felvétel elhanyagolható. Az ICG nem metabolizálódik, nem vesz részt az enterohepatikus recirkulációban. Méréseinknél a LiMON készüléket használtuk. Ez az ICG serum szint folyamatos mérését teszi lehetővé az ujjbegyre helyezett fotometriás érzékelő segítségével. A készülék 805-890 nm között mér. A 805 nm-en mért kapilláris festékdensitást érzékeli, mely az ICG-re specifikus. A testsúlytól függően meghatározott mennyiségű ICG intravénás bólusban történt beadását követően noninvazív módon az alábbi paramétereket mértük:

- ICG retention rate (retenciós ráta) 15 percnél: **R15 (%)**

Dozírozás: 0,1-0,3 mg/kg/testsúly kg. Vizsgálatok során a 0,3 mg/testsúly kg dózist alkalmaztunk.

Az ICG kiválasztást a műtét előtti napon végeztük.

5.3.4. Laboratoriumi vizsgálatok

Az állatokból vett vérminták alvadásgátlását EDTA-val hoztuk létre, 10 percig, szobahőmérsékleten centrifugáltuk (3000 r.p.m.), majd a hemolysismentes, sejtmentes felülúszót,

szérumot elválasztottuk a sejtes elemektől. Kémiai analízisek elvégzéséig a mintákat $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on folyékony nitrogénben tároltuk. 24 órán belül, 2,5-szeresre történt hígítás után spektrofotometrián alapuló, laboratóriumi automatán (Hitachi 747) rutin tesztek felhasználásával elvégeztük a méréseket. A kapott értékeket a hígítási arányból visszszámoltuk. Szérum alanin aminoszferázt (ALT), laktát dehidrogenáz (LDH), szérum bilirubin (seBi) szintet mértünk.

A human vizsgálatok során ugyanazon készüléken és módszerrel végeztük a serum májenzimek (ALT, AST) és bilirubin meghatározását az 1., a 3. és a 7. postoperatív napon.

A TNF- α szintet életképesség -teszt szerint határozzuk meg az I. kísérletben a reperfúzió 30. percében. A biológiailag aktív TNF- α tartalmat WEHI 163 TNF ~~szén~~sejtvonal segítségével határoztuk meg. A sejttenyészetet 10% FCS tartalmú DMEM (Dulbecco által módosított MEM, Sigma) tápfolyadékban tartottuk fenn, majd 24 órás inkubálás után Mossman-Hansen szerint (298, 299) MTT redukciós tesztet végeztünk: a MTT (3-(4,5-dimetiltiazolil)-2,5,-difeniltetrazolium) kék színű formazanná redukálódik a sejtek NADH, NADPH tartalmával arányos mennyiségben. A redukált koenzim tartalom jó közelítéssel vethető össze bioszintetikus aktivitásuk mértékével, ezért a módszer alkalmas életképességük mérésére.

Optikai denzitás mérése: A sejteket 96 lyukú növesztő tálcán a sejtfolyadékban oldott 0,25 mg/ml MTT-vel inkubáltuk 3 órán át 37°C -os CO_2 termosztátban. A sejttanyagot háromszoros térfogatú savas (0,08M HCl) izopropil-alkohollal oldottuk, majd a formazantartalmat 630 nm referencia és 570 nm mérési hullámhosszokon, fotometriás úton mértük. Az egyes adatpontokat 8 párhuzamos mérés átlagaként adtuk meg. A kapott optikai denzitás értékekből az aktív TNF- α tartalmat ismert koncentrációjú TNF- α -val készített kalibrációs sor alapján határoztuk meg, értékét pg/ml-ben adtuk meg.

5.3.5. Szövettani vizsgálatok

Az állatkísérlet során a megfelelő májlebenyek azonos anatómia helyéről, 3 db mintát vettünk. Konvencionális fénymikroszkópos elemzéssel hematoxilyn-eosin festést követően a kiértékelés semikvantitatív módon, táblázatos regisztráció alapján történt, öt, egymást át nem fedő látótérben, az alábbi eltérések figyelembe vételével: (1) *sejtduzzadás*, (2) *sinusoidális pangás*, (3) *vénatágulat*, (4) *szöveti bevérzés*, (5) *gyulladásos sejtek jelenléte*, (6) *nekrózis jelei*. Az elváltozások pontozásra: 0: nincs változás, +: a látótér vagy szöveti struktúra sejtjeinek

kevesebb mint 10%-a érintett, ++: 10-40 %, +++: több mint 50% érintett. A maximálisan adható pontok összege a fenti szempontok alapján 21 pont volt. 7 pont alatt a károsodás mértékét enyhének, 7-14 között közepsúlyosnak, 14 pont felett súlyosnak véleményeztük.

Human alkalmazáskor minden eltávolított specimen szövettani feldolgozásra került. A pathologus nem volt informálva a különféle beavatkozásokról. A cirrhosis megléte, illetve súlyossága a tumormentes sebészi szél vizsgálatával történt.

5.3.6. Oxidatív stressz vizsgálata

Az állatmodell során az oxidatív stressz vizsgálatokat a II. kísérlet során végeztük májhomogenizátumból és szérumból is. A májhomogenizátumok fehérjetartalmát 10 mg/ml-re állítottuk be, 0,15 M KCl-oldattal, Lowry szerint.

5.3.6.1. Össz-scavanger aktivitás mérése luminometriával

Az össz-scavanger aktivitás mérése a májhomogenizátum mintákból történt Heide-Bögl módszere Blázovics-féle módosítással (300). A mérés elve: a luminol szabadgyökök hatására gerjesztett állapotba kerül, és fényt bocsát ki, amelyet luminométerrel (Lumat LB9051; Lumat Bertold, Windbad, Germa) detektálni lehet. A fényintenzitást a gyökfogó vegyületek csökkentik. Az eredményeket Relative Light Unit (RLU) egységben adtuk meg. A fényintenzitás (RLU) arányos a mintában található szabadgyökök koncentrációjával. Az alkalmazott eljárások közül ez a legérzékenyebb a redox-státusz meghatározásában, az antioxidánsok kimutatása nmol nagyságrendben történik.

5.3.6.2. Redukálóképesség meghatározása Oyaizu szerint (301)

A redukálóképesség a szérum és a szövet teljes antioxidáns képességéről informál (antioxidánsok+fehérjék). A minta redukálóképessége aszkorbinsav ekvivalensben (ASE) szerepel. A vizsgálati minta redukálóképessége akkor 1 aszkorbinsav ekvivalens (ASE), ha hatása 1µmol aszkorbinsav redukálóképességével egyenértékű. A kapott érték fordítottan arányos a minta antioxidáns tulajdonságával.

5.3.6.3. Szabad szulfhidril (SH) -csoportok meghatározása Sedlak módszere szerint (303)

A szabad SH-csoportok mennyiségének meghatározása a fehérjékhez kötött antioxidáns paramétereiről informál. Méréseinket spektrofotométerrel végeztük májhomogenizátumból és szérumból, Ellmann reagenssel 512 nm-en.

A human vizsgálat során csak serum vizsgálatokat végeztünk. A serum szabadgyök tartalmára össz-scavenger kapacitás vizsgálattal (Heide-Bögl módszere Blázovics módosításával) következtettünk. A serum antioxidánsok vizsgálata kapcsán a fentiek során leírt *szabad szulfhidril (SH) -csoportok (Sedlak módszere szerint)*, illetve *redukálóképesség meghatározását (Oyaizu szerint)* végeztük. A mérések a műtét előtt, a reperfüzió után 30 perccel és a 7. postoperatív napon végeztük.

5.3.7. *Posztoperatív szövődmények meghatározása*

A human vizsgálat során posztoperatív májelégtelenségként értékeltük, ha a beteg serum total bilirubin szintje 70 μ mol/L felett és/vagy a prothrombin érték 40% alatt volt és/vagy neurologiai jeleket, úgymint asterixist, vagy gyógyszerhatáshoz nem köthető tudatzavart és/vagy ascites (napi drain hozam >500ml) megjelenését észleltük a műtétet követő 7. napig. Amennyiben a serum kreatinin érték 150 μ mol/L felett volt, úgy azt veseelégtelenségként értékeltük. Ezeken kívül minden szövődmény észlelésre került.

5.3.8. *Alkalmazott statisztikai módszerek*

Microsoft Office 2003 Excel, illetve Statisoft Inc. STATISTICA 6.0 for Windows szoftver segítségével történt az adatok grafikus és statisztikai megjelenítése. $P < 0,05$ konfidencia intervallum esetén értékeltük szignifikánsnak az átlagértékek közötti különbségeket. Az eredményeket a mért értékek átlagával és a standard deviáció (\pm S. D.) megadásával fejeztük ki. Statisztikai analízishez Student-féle kétmintás t-próbát, variancia analízishez kétutas és egyutas ANOVA-t, a human vizsgálatok során a diszkrét változók esetén Fisher-tesztet használtunk SPSS 12.0 software-rel (SPSS, Inc., Chicago, IL) alkalmazásával.

6. EREDMÉNYEK

6.1. Állatkísérletek

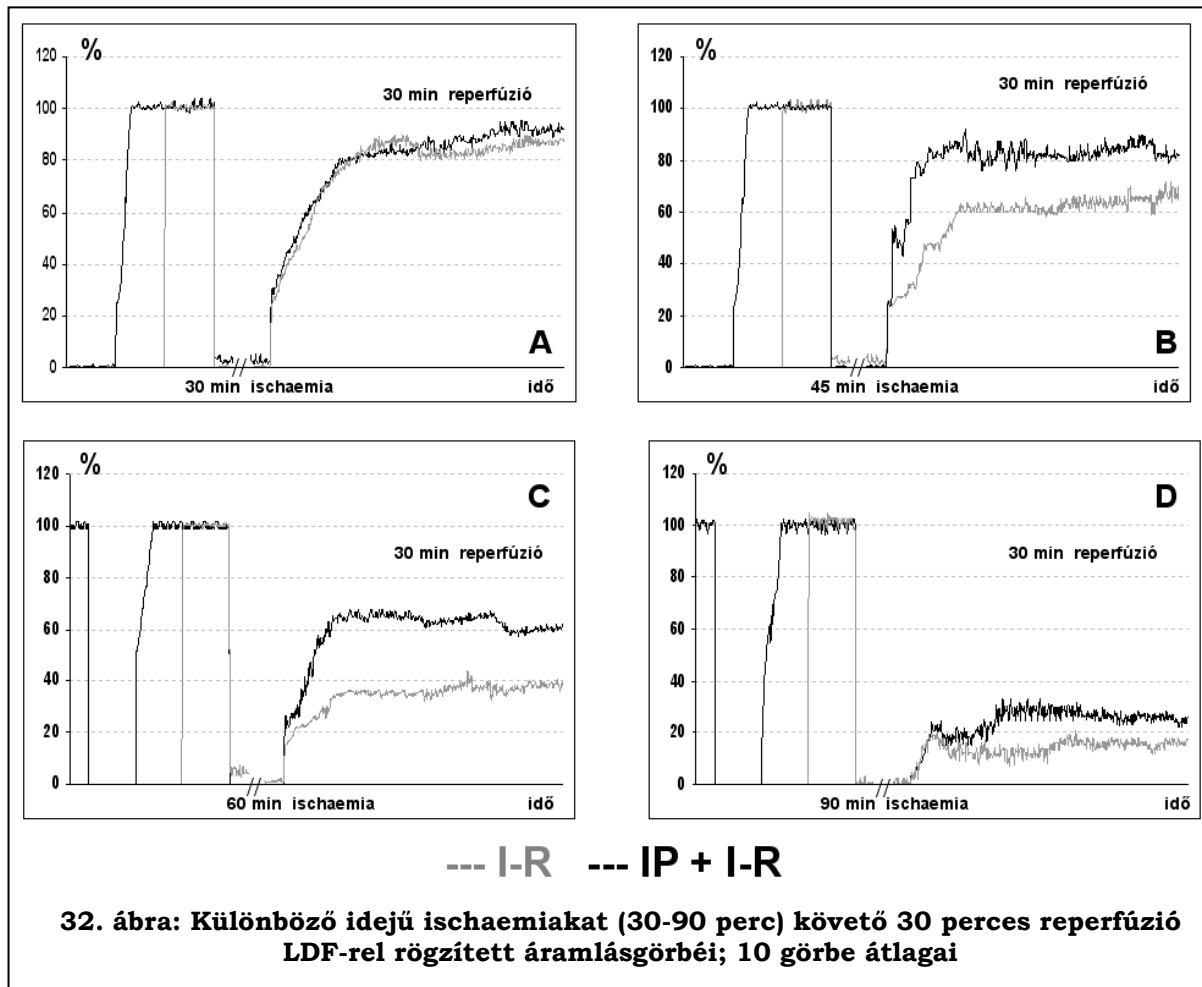
6.1.1. Hemodinamikai paraméterek

Egyik kísérletben sem volt mérhető szignifikáns különbség az állatok pulzusszáma (382 ± 22 /perc), illetve az artériás középnyomás (MAP: 103 ± 15 Hgmm) tekintetében a műtét előtt. Az ischaemia alatt a középnyomás és a pulzusszám is változott, de az összehasonlított csoportokban lévő állatok átlag középnyomás és pulzus értékei között nem volt szignifikáns különbség.

6.1.2. Mikrocirkuláció laser Doppler flowmeterrel

Az állatok individuális áramlási adatain végzett matematikai transzformáció után az egy csoporton belüli ($n=10$) átlagot tüntettük fel (VI. táblázat).

Az ischaemias idő emelésével a PM és RT értékek romlottak, a csoportok között (30 perc vs. 45 perc; 45 perc vs. 60 perc; 60 perc vs. 90 perc) a különbségek szignifikánsak voltak ($p < 0,05$). Az ischaemias preconditionáláson átesett állatok áramlási adatai szignifikánsan jobbak voltak a nem preconditionált állatokéhoz képest, de csak a 45, illetve a 60 perces csoportban ($p < 0,05$). Az áramlási görbék elemzése során kitűnt, hogy az ischaemias idő megnyújtásával a görbe reperfúziós szakasza kezdeti, gyorsan emelkedő részének meredeksége csökken (a görbe plató fázisát később éri el), majd a plató fázisban további lassú emelkedés látható, mígnem a görbe emelkedés megáll a plató maximumon (PM). Minél hosszabb volt az ischaemia, annál lassabban érte el a görbe a PM-ot (Reperfúziós Maximalis Idő-RMI). A preconditionált csoportok reperfúziója meredekebben indult meg, a görbe reperfúziós szakaszának plató fázisát hamarabb érte el, illetve a RMI is rövidebb volt. A 90 perces csoportoknál ezek a jelenségek már alig voltak megfigyelhetők (32. ábra).



Fentiekre az alábbi (a szövettani vizsgálatokkal is igazolt) pathológiai elváltozások adnak magyarázatot:

A reperfúzió kezdetekor a gyors arteriális és portális vér gyors beáramlása a görbe reperfúziós szakaszának kezdeti meredek részének felel meg. Ezt követően egy „lapos”, plató szakasz következik. A hosszabb ischaemias idők után a meredekség csökken, illetve a plató maximuma is kisebb lesz. Ennek oka a sinusoidokhoz kitapadt neutrofilek okozta microcirculatio zavar, mely az ún. „no reflow” jelenséget (makroszkóposan foltos reperfúzió) okozza. A plató szakasz ingadozása melletti lassú emelkedése a no reflow oldódásának köszönhető. 30 perc ischaemia után még alig láthatók ezek a jelenségek, hiszen ez az ischaemias időtartam patkányban még nem elég a neutrofilek kitapadásához. 90 perc ischaemia után viszont a jelentős parenchyma és sinus endothel károsodás már nem teszi lehetővé a microcirculáció helyreállítását.

Plató maximum, Reperfúziós terület, RMIátlag						
Ischaemia hossza	Plató maximum % (PM)		Reperfúziós terület arány (RT) $K_{RT}=(RT_x/RT_0) \times 100$		RMIátlag (perc, mp.)	
	I-R	IP + I-R	I-R	IP + I-R	I-R	IP + I-R
30 perc	90 (±5)	93 (±4)	79 (±6)	82 (±8)	8'25''	8'39''
45 perc	66 (±12)	80 (±15)*	51 (±15)	75 (±12)*	9'23''	6'03'' *
60 perc	38 (±21)	61 (±18)*	31 (±32)	60 (±17)*	9'45''	7'15'' *
90 perc	19 (±13)	28 (±21)	15 (±18)	20 (±14)	6'12''	6'19''

VI. táblázat: PM és RT értékek

* = **Szignifikáns ($p < 0,05$) különbség preconditionált és nem előkezelt csoportok áramlási paramétereit (PM, RT) között.**

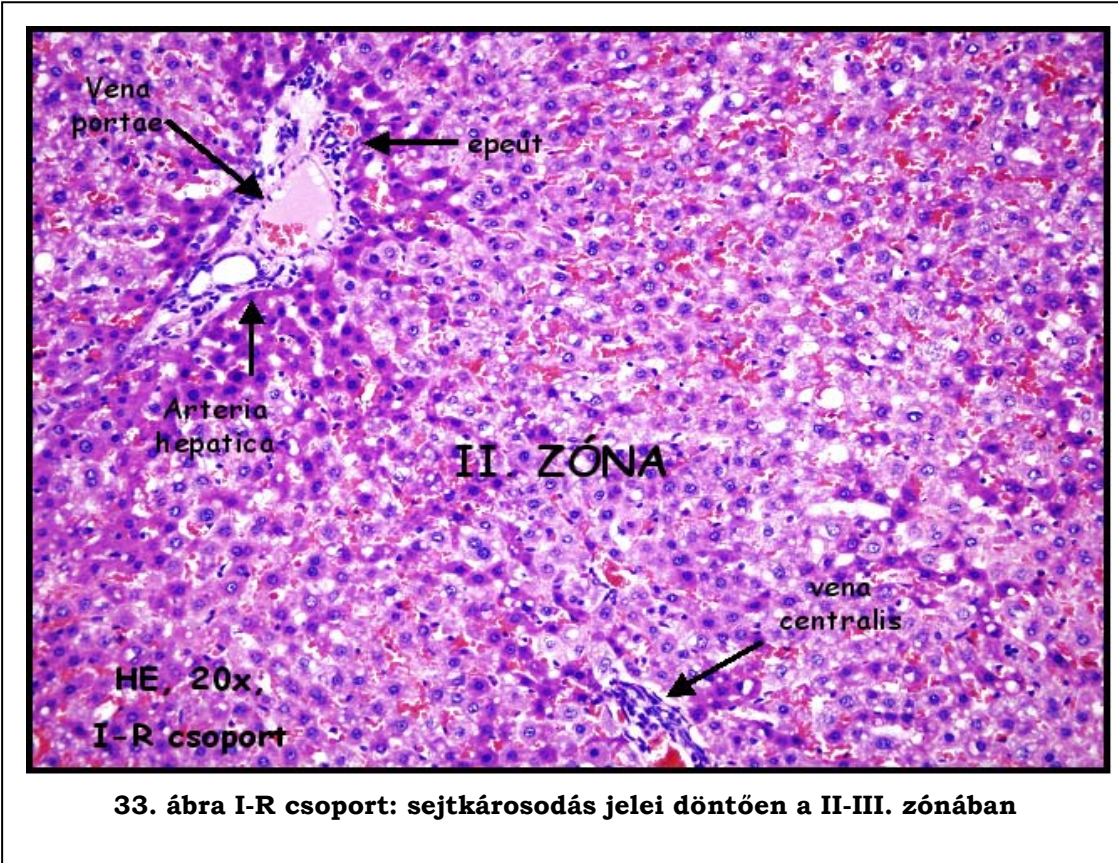
6.1.3. Szöveti feldolgozás

I-R csoportok

Az ischaemia után vett szövettani mintákban a 30 perces kirekesztést követően csupán sinusoidális pangás látható, a károsodás foka enyhe. 45 perc után vacuolisatio már elvétve látható; a laesio közép súlyos. 60 perc ischaemia után a vacuolisatio fokozódott, vénatágulatok alakultak ki, mely súlyos károsodásnak felel meg. 90 perc ischaemia után a fentiek mellett a sejtduzzadás, vacuolisatio, karyolysis, karyorrhesis kifejezett volt, valamint nagy kiterjedésű nekrozis jelent meg (19 pont).

A reperfúzió után vett mintákban 30 perces csoportoknál a károsodás minimális maradt. 45 perc ischaemia után vénatágulatok alakulnak ki, kereksejtes periportális infiltráció jelenik meg, közép súlyos károsodás látható. 60 perc után a fenti jelenségek száma növekedett (20 pont), illetve pericentralis foltos nekrozisok is megjelentek. A 90 perces csoportban a legkifejezettebbek a vénatágulatok, és intenzív vacuolisatio, illetve helyenként bevérzett, összefüggő II-III zónát érintő nekrozis látható (21 pont).

A túlélő állatokból a 7. napon vett mintákban 30 perc ischaemián átesett állatoknál a szövettani kép a normál májszövetnek felelt meg (restitutio ad integrum). A 45 perces csoportban periportális kereksejtes beszűródés volt látható, a 60 perces csoportokban vacuolisatio és egy-egy látótérben, igen kis terjedésű foltos nekrozis már jelen volt (II. zóna) kifejezett periportális kereksejtes beszűródéssel (15 pont). 90 perc ischaemiát túlélő állat nem volt a 7. napon (33. ábra).



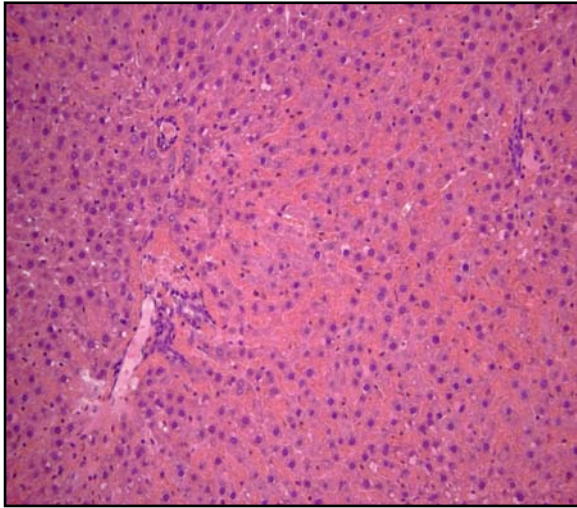
IP + I-R csoportok

Az *ischaemia* és a *reperfúzió* után vett szövettani mintákban a preconditionált állatoknál a 30, 45 és 90 perces mintákat vizsgálva azok nem mutattak jelentős különbséget az I-R csoportokhoz képest, a nekrozisra gyanús sejtek száma 10-15%-kal kisebb. Súlyossági besorolásuk nem tér el a megfelelő I-R csoportoktól.

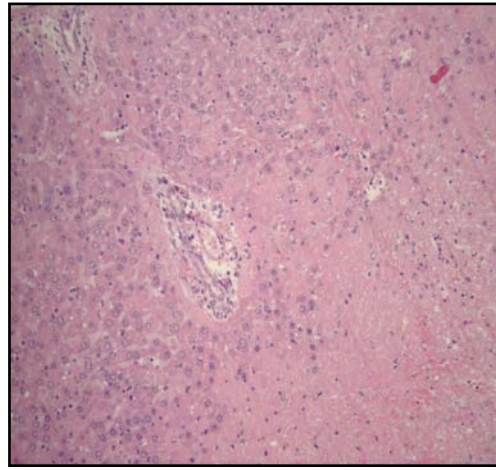
Azonban a 60 perces csoportban mind az *ischaemiás* mintában, mind a *reperfúziós* mintákban a destrukció már kisebb fokú volt (14 és 17 pont), szemben az I-R csoportban fent leírtakkal (16, illetve 20 pont). Ezen csoportban összefüggő nekrozis nem látható.

A 7. napon vett mintákban azonban a 30, 45, és a 60 perces IP + I-R csoportokban is a kereksejtes beszűrődés és a szövetdestrukció foka kisebb volt a nem előkezelt csoportokhoz képest (enyhe–közepes). A 60 perces csoportban kiterjedt nekrozis nem volt. 90 perces IP +

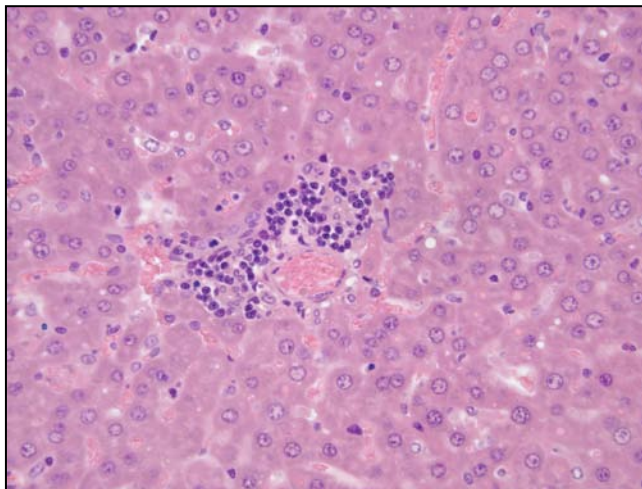
I-R csoportból az egyetlen túlélő állat májában kifejezett nekrosisok és lymphocyta infiltráció volt látható. (34, 35, 36. ábra)



34. ábra: Sinusoidális pangás



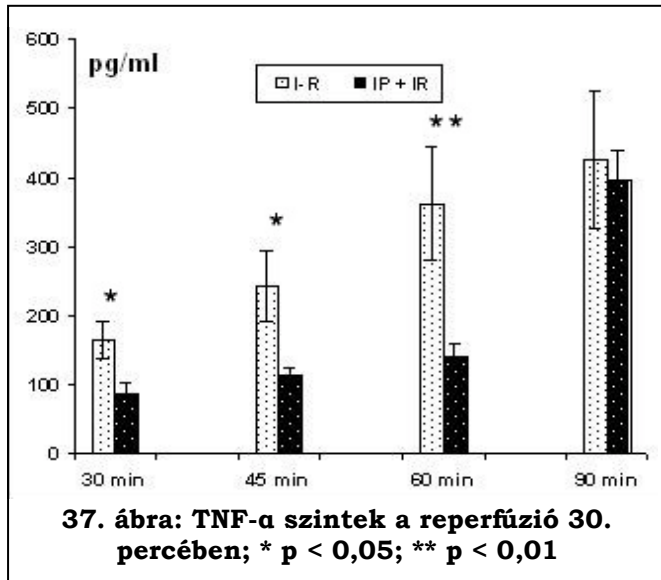
**35. ábra: Pericentrális nekrosis
90 perc ischaemia után**



**36. ábra: Portális triad körüli kereksejtes
beszűrődés egy héttel a műtét után**

6.1.4. TNF- α szintek

Összehasonlítva a 12 órával a műtét előtt vett értékekkel a reperfúzió 30. percében a TNF- α

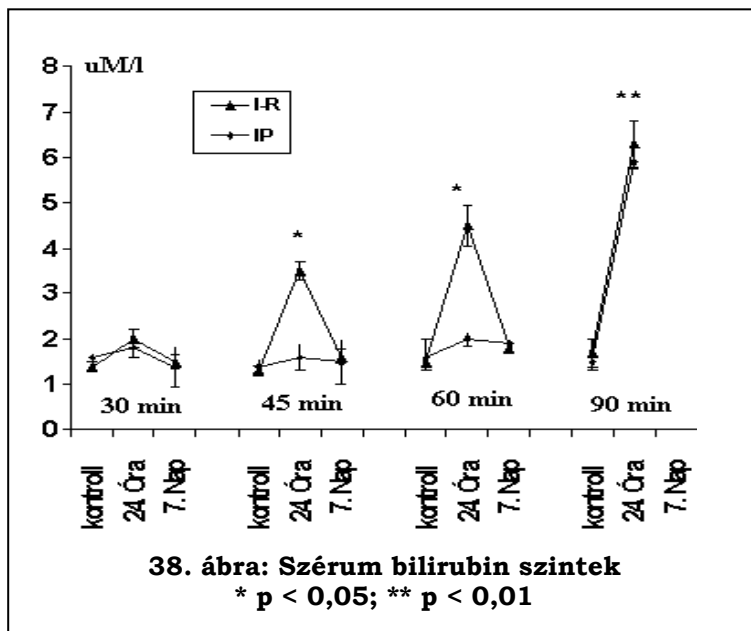


szintek, mind az I-R, mind az IP+I-R csoportban szignifikánsan emelkedettek voltak. Az I-R és IP+I-R csoportban mért citokin szintek arányosak voltak az ischaemiás idővel. IP hatására a 30 és 45 perces ischaemiát követően a reperfúzió 30. percében a TNF- α szintek szignifikánsan ($p < 0,05$), 60 percnél erőteljesen szignifikánsan ($p < 0,01$) alacsonyabbak voltak.

A 90 perces ischaemiát követően a preconditionálás már nem volt képes szignifikáns TNF- α csökkenést okozni (37. ábra).

6.1.5. Laboratoriumi vizsgálatok: seBi, ALT, LDH

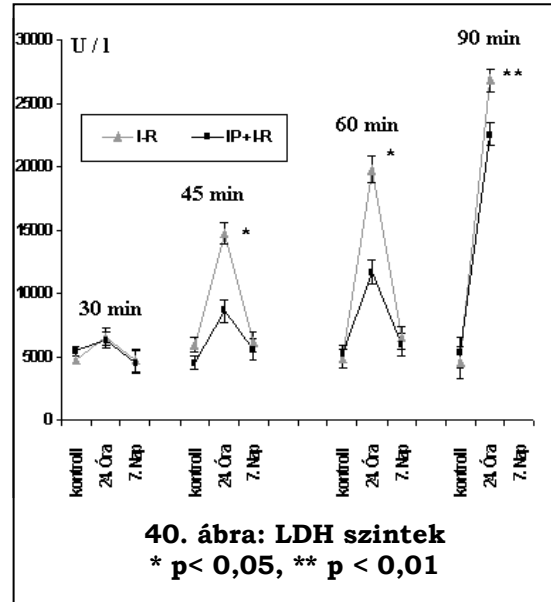
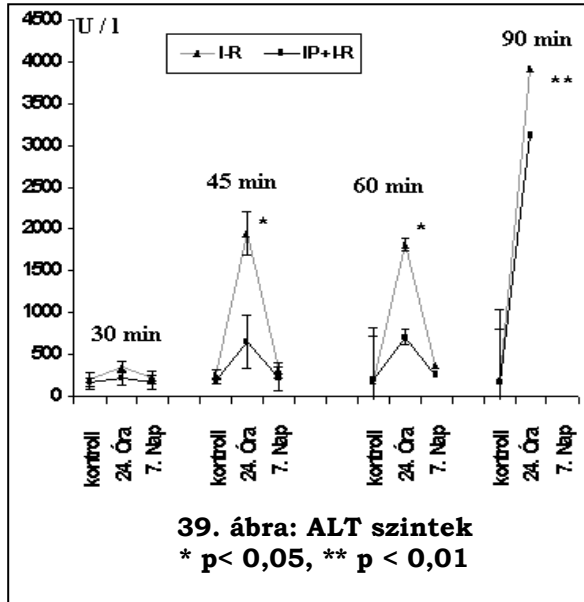
30 perces ischaemiát követően a vizsgált laborértékek nem mutattak szignifikáns emelkedést a kontroll mintához képest, sem az első, sem a 7. postoperatív napon sem az IP csoportban.



45 és 60 perces ischaemiát követően, az összes mért paraméter a kontroll mintához képest szignifikáns ($p < 0,05$) emelkedést mutat az első napon. Az IP + I-R csoportokban az értékek szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabbak voltak az első napon az I-R csoporthoz képest. A 7. postoperatív napon ezek szintje egyik csoportban sem különbözött szignifikánsan a kiindulási kontroll

csoportok értékeitől.

90 perces ischaemiát követően a kontroll értékekhez képest minden laborparaméter szignifikáns ($p < 0,05$) emelkedést mutatott az első napon, viszont már nem volt különbség a IP + I-R és az I-R csoportok között. A 7. postoperatív napon az enzimszintek továbbra is emelkedettek a preconditionáláson átesett egyetlen túlélő állatban (38, 39, 40. ábra).



6.1.6. Túlélés a 7. postoperatív napon

Túlélés I-R vs. IP: 30 min: 100% vs. 100%; 45 min: 90% vs. 100%; 60 min: 60% vs. 70%; 90 min: 0% vs. 10%. A kísérleti állatok 90 %-a, a 3-4. postoperatív napon hullott el. Az elhullott állatok mindegyikénél kórboncolást végezve az állatok halála vélhetően a dekompenzált májműködésből, illetve az ezt követő szepszikus állapotból származhatott.

VII. táblázat: Túlélő állatok 1 hét után

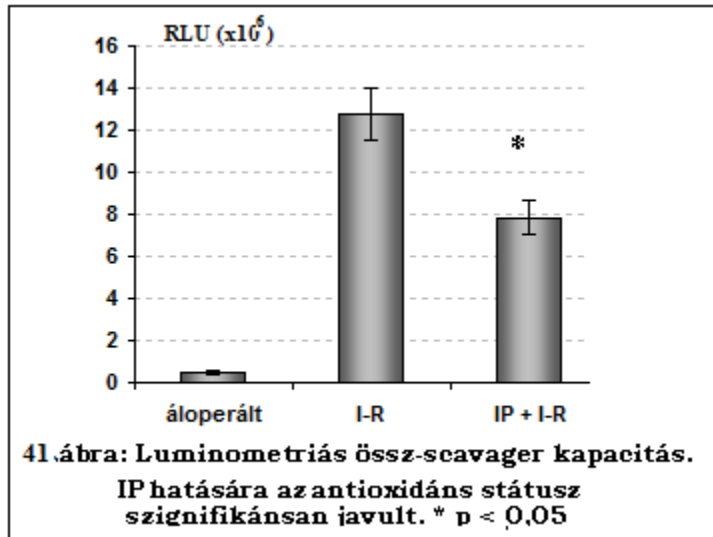
	<i>I-R</i>	<i>IP + I-R</i>
30 min	100 %	100 %
45 min	90 %	100 %
60 min	60 %	70 %
90 min	0 %	10 %

6.1.7. Redox status

Az állatmodell vizsgálatok során redox status mérése a II. kísérlet kapcsán, 60 perces ischaemiánál történt.

6.1.7.1. Luminometriás össz-scavanger aktivitás

Az ischaemias preconditionáláson átesett állatoknál szignifikánsan kisebb volt az össz-scavanger aktivitás (ODFR mennyiség), mint az I-R csoportban (41. ábra).



6.1.7.2. Redukálóképesség

Az IP előkezelés a szérumban szignifikáns csökkenést okozott. A májszövetben is látható volt ez a tendencia, de az eltérés nem volt szignifikáns. (VIII. táblázat)

6.1.7.3. Szabad szulfhidril (SH)-csoportok meghatározása

Az IP + I-R csoportban a szabad SH csoportok mennyisége több volt, mint az I-R csoportban, mind a májszöveti homogenizátumban, mind a szérumból vett mintákban.

	Műtét előtt		Áloperált		I-R		IP + I-R	
	Se	Máj	Se	Máj	Se	Máj	Se	Máj
Lazulinometria ($\times 10^6$)	-	-	-	0,588 ± 0,085	-	11,65 ± 0,176	-	7,856 ± 1,25
Rehabilitáló képesség	1,330 ± 0,06	-	1,312 ± 0,06	168,2 ± 8,20	0,42 ± 0,11	106,5 ± 4,30	1,995 ± 0,25	170,1 ± 23,8
Stabul SH - csoport	0,456 ± 0,06	-	0,270 ± 0,06	1,389 ± 0,04	0,176 ± 0,074	1,169 ± 0,071	1,01 ± 0,067	2,15 ± 0,091

VIII. táblázat: serum és szöveti redox paraméterek

A VIII. táblázat a májszövet és a serum redox paraméterek változásait mutatja a preconditionált és a nem preconditionált csoportokban. IP hatására a közvetlen hepatocita és sinus endothel károsodásért nagymértékben felelős szabadgyökök szintje a reperfusio után alacsonyabb, az antioxidánsok fogyása kisebb mértékű, mint a nem preconditionált állatoknál.

6.2. Human vizsgálatok

6.2.1. Beteg jellemzők

Mindkét alcsoport (IPC és IP) összehasonlítható volt a nem cirrhoticus („A” és „B” csoport) és a cirrhoticus („C” és „D” csoport) főcsoportokban a kort és a nemet illetően. A 160 beteg közül 79 volt férfi és 81 volt nő, az átlagéletkor $57,1 \pm 1,6$ év volt. A műtét előtt vizsgált ASA besorolás és májfunkciós vizsgálatok eredményei nem mutattak szignifikáns különbséget a két alcsoportban (IPC és IP), de természetesen a két főcsoportban (nem cirrhoticus vs. cirrhoticus betegek) igen.

Következtetésként levonható, hogy homogén betegcsoportok jöttek létre (IX. táblázat).

IX. Táblázat: Demográfiai és tumor specifikus adatok

	Nem cirrhoticus betegek		<i>P</i> < 0.05	Cirrhoticus betegek		<i>P</i> < 0.05
	A csoport	B csoport		C csoport	D csoport	
	IPC	IP		IPC	IP	
Betegszám	50	50	n	30	30	n
Demográfia						
Kor (év)	56.5 ± 2.3	54.8 ± 1.8	n	57.2 ± 2.2	55.3 ± 1.9	n
Nem (fő/nő)	26/24	22/28	n	16/14	15/15	n
Preoperatív rizikó						
ASA 1/2/3/4	6/33/8/3	5/32/10/3	n	0/2/23/5	0/1/25/4	n
Resectio javallata, n						
CLM	25	23	n	2	1	n
HCC	0	0	n	24	25	n
IH-CCC	11	9	n	3	4	n
Egyéb	14	18	n	1	0	n
Tumor méret-CT (cm³)	48 ± 10	55 ± 16	n	36 ± 8	41 ± 11	n
Máj funkció						
Normal/zsirmáj/cirrhotis	48/2/0	49/1/0	n	0/0/30	0/0/30	n
Child A/B	n	n	n	20/10	18/12	n
ICG R15 (%)	6.9±0,8	7.1±0,9	n	9.7±1,1	9.2±1.0	n

IP: ischemias preconditionalis, IPC: intermittens portal clamping-intermittáló portális kirekesztés, ICG: indo-cyanide green - indo-cyanid zöld, HCC: hepatocellularis carcinoma
 CLM: colorectal liver metastasis-kolorektális májjátét, IH-CCC: intrahepaticus cholangiocellularis carcinoma

6.2.2. Műtéti jellemzők

Nem volt szignifikáns különbség a műtét, illetve a máj ischaemia hosszát, a májreszekció javallatát és a reszekált szegmentek számát illetően az A-B és a C-D alcsoportok között. A reszekált májtérfogat/teljes májtérfogat, illetve a maradék májtérfogat/teljes májtérfogat arány, valamint a műtétek típusa és száma hasonló volt a két alcsoportban (IPC vs. IP). A folyamatos portális kirekesztés ideje a nem cirrhoticus csoportokban a 30 percet elérte (A csoport vs. B csoport: 34±3,2 vs. 33±2,1 perc), a cirrhoticus betegeknél ennél alacsonyabb volt (C csoport vs. D csoport: 22±2,2 vs. 21±1,8 perc) (X. táblázat). A vörösvértest transzfúzió mennyisége a posztoperatív 48 órában szignifikánsan kevesebb volt az IP csoportokban, mint az IPC csoportokban (normál máj-IPC vs. normál máj-IP: 2,8±0,3 vs. 1,6±0,4 egység; cirrhoticus betegek-IPC vs. cirrhoticus betegek-IP: 1,9±0,7 vs. 0,9±0,1 egység).

X. Táblázat: Műtéti jellemzők

	Nem cirrhoticus betegek		<i>P</i> < 0.05	Cirrhoticus betegek		<i>P</i> < 0.05
	A csoport	B csoport		C csoport	D csoport	
	IPC	IP		IPC	IP	
Műtét hossza (perc)	158 ± 65	167 ± 46	n	142 ± 43	151 ± 25	n
Ischaemia hossza (perc)	34 ± 3.2	33 ± 2.1	n	22 ± 2.2	21 ± 1.8	n
Resecalt segmentek száma	3.3	3.1	n	2.4	2.3	n
Resectiók típusa (n)						
J.o.hemihépatectomia (n = 37)	11	12	n	6	8	n
Kiterj. j.o. hemihépatect (n=26)	12	12	n	1	1	n
Bal lateralis segmentectomia (n=22)	8	9	n	3	2	n
B.o.hemihépatectomia (n=9)	5	4	n	0	0	n
2 segment (n = 43)	10	13	n	11	9	n
3 segment (n = 23)	8	6	n	4	5	n
CT-volumetria						
Resecalt májtérfogat/teljes májtérfogat (%)	45 ± 22	42 ± 26	n	29 ± 21	27 ± 23	n
Maradék máj térfogat/teljes májtérfogat (%)	42 ± 11	39 ± 9	n	62 ± 21	67 ± 26	n

IP: ischaemias preconditionalis, IPC: intermittáló portális kirekesztés

6.2.3. CT-volumetria

A resecalt májtérfogat/teljes májtérfogat aránya az A-B és a C-D csoportok között nem mutatott szignifikáns különbséget (A vs B: 45±22 vs. 42±26 % ; C vs. D: 29±21 vs. 27±23) . Ezzel megegyezően a maradék máj térfogat/teljes májtérfogat arányt tekintve sem volt szignifikáns eltérés az előbbi csoportok között (A vs. B: 42±11 vs. 39±9; C vs. D: 62±21 vs. 67±26). Fentiek miatt elmondható, hogy mind a resecalt tumor és májméret, mind a maradék máj méret tekintetében a csoportok homogének, így összehasonlíthatók voltak.

6.2.4. ICG-mérés

A műtét előtti májfunkció az összehasonlított csoportokban hasonló volt, így a májfunkciót tekintve is összehasonlíthatók voltak az A-B és a C-D csoportok (ICG R15 A vs B: 6,9±0,8 vs. 7,1±0,9; C vs. D: 9,7±1,1 vs 9,2±1,0).

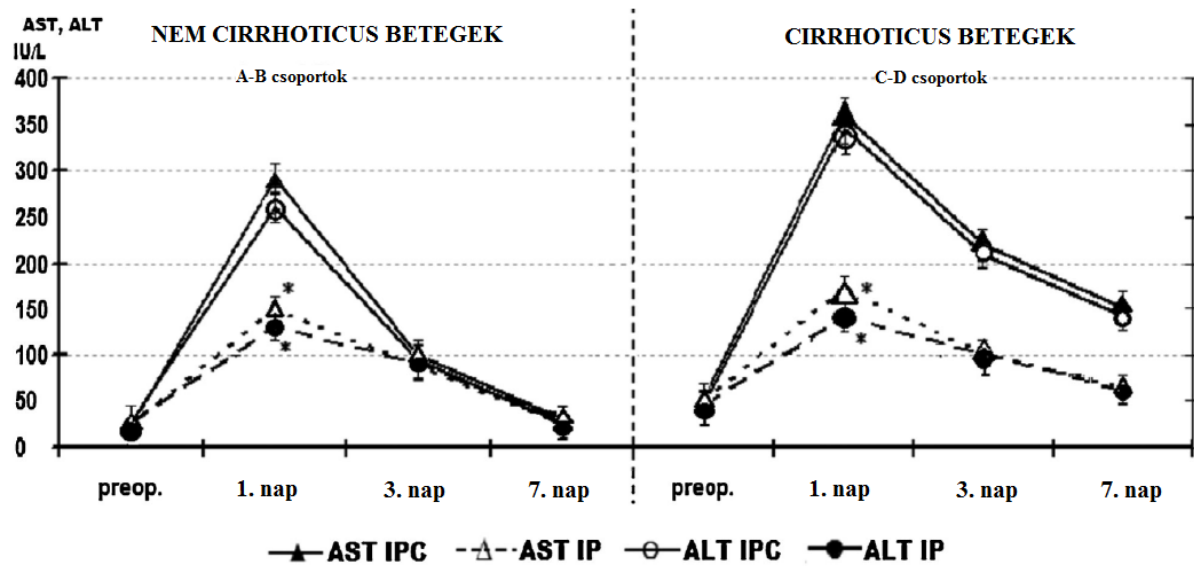
6.2.5. Laboratoriumi vizsgálatok (AST, ALT, bilirubin)

A kirekesztés okozta postoperatív májlaesiót AST, ALT és bilirubin szintek meghatározásával végeztük. Az ischaemias preconditionálással kezelt betegeknél szignifikánsan kisebb volt a maximális serum AST (átlag ASTmax 150±14 és 169±10 U/L) és ALT (átlag ALTmax 136±9 és 145±12 U/L) érték az 1. postoperatív napon, mint az IPC csoportban (átlag ASTmax 284±12 és 362±16 U/L; átlag ALTmax 262±11 és 355±16 U/L, *p* < 0.05).

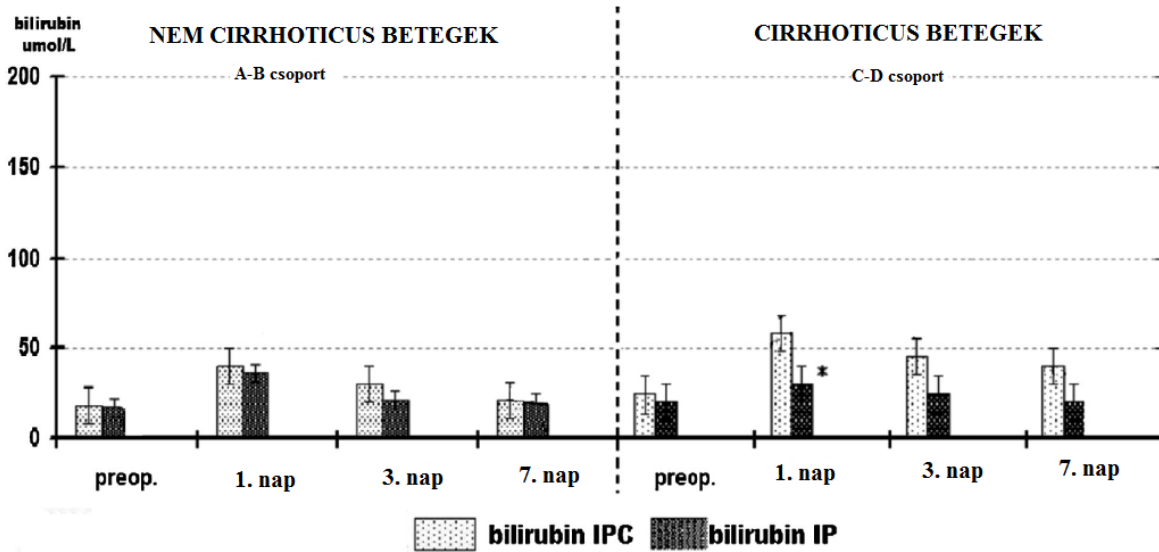
Az A alcsoport bilirubin szintjei a posztoperatív 1. napon nem különbözött szignifikánsan a B alcsoport értékeitől (átlag bilirubin max 36 ± 8 vs. 30 ± 7 mmol/L). Mindegyik nem cirrhoticus betegnél az AST, ALT és bilirubin szintek a 7. napra normalizálódtak.

Cirrhoticus betegeknél a preconditionálásban részesültek maximalis AST és ALT értékei erősen szignifikánsan ($p < 0,01$), és ellentétben a nem cirrhoticus betegekkel, bilirubin értékei is szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a nem preconditionált betegeknek (átlag bilirubin max 59 ± 9 vs. 25 ± 6 mmol/L, $p < 0,05$).

A nem cirrhoticus betegekkel ellentétben az értékek nem normalizálódtak 7 nap múlva (42, 43. ábra).



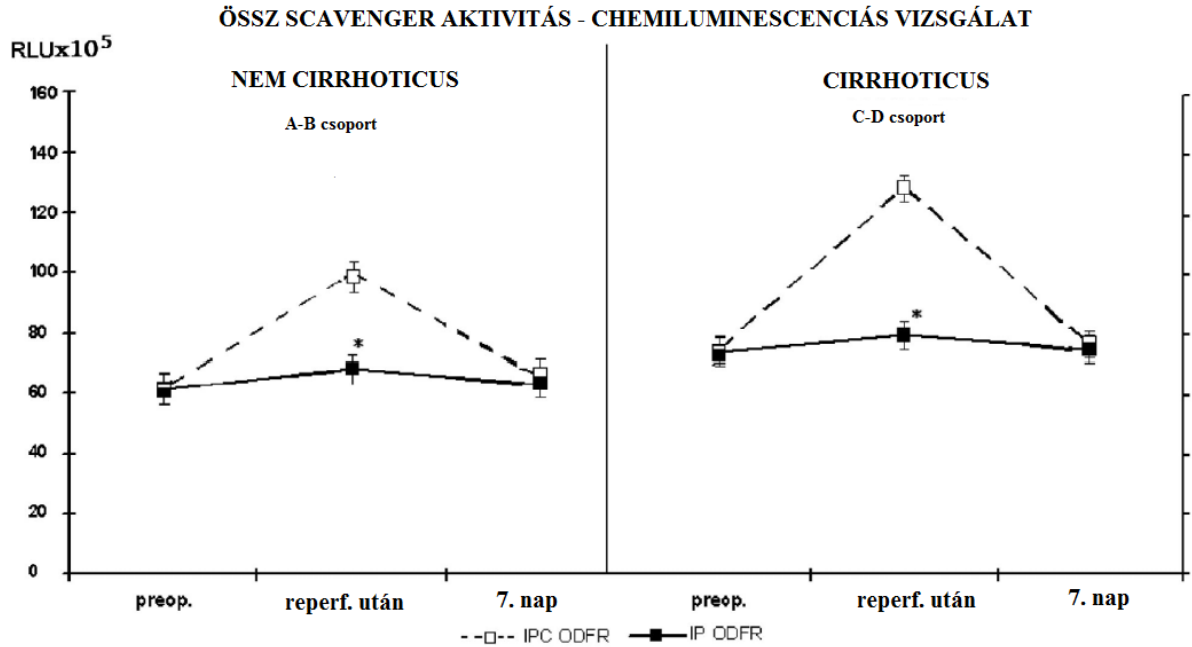
42. ábra: Szignifikánsan alacsonyabb AST és ALT értékek az IP csoportban ($p < 0,05$). Cirrhoticus betegeknél az értékek nem normalizálódtak a 7. napig.



43. ábra: Cirrhoticus betegeknél az IP csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt a csúcs bilirubin érték ($p < 0,05$).

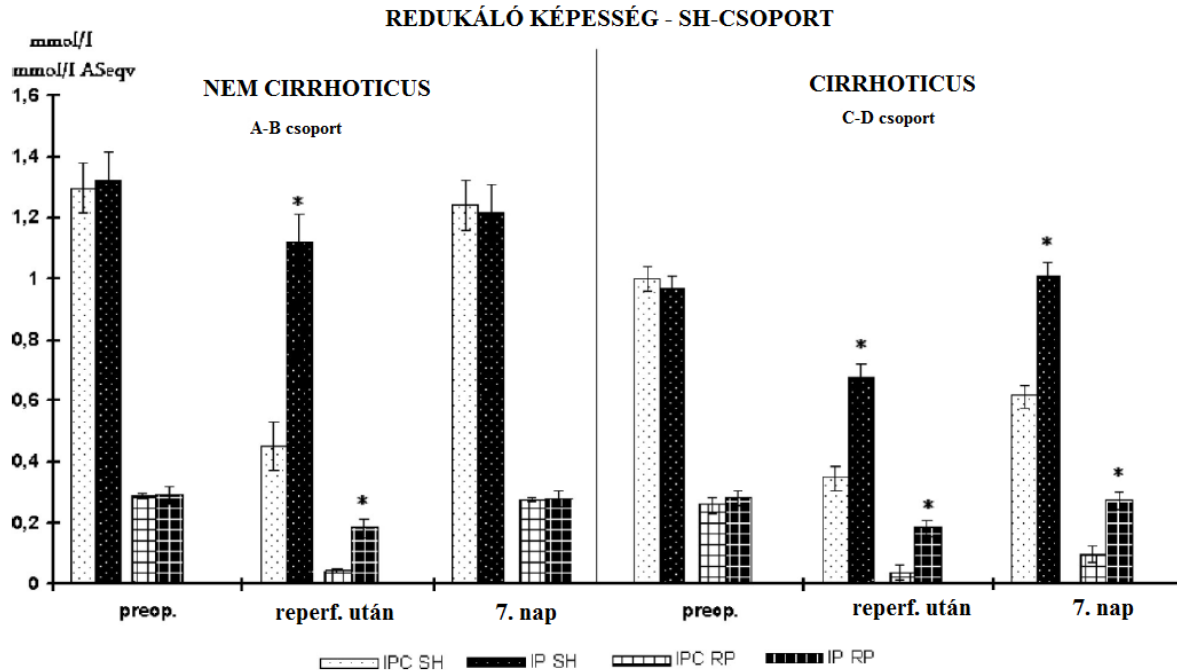
6.2.6. Redox status vizsgálatok

A nem cirrhoticus betegek esetén szignifikánsan kevesebb szabadgyök (össz-scavenger aktivitás átlag max $66 \pm 16 \times 10^5$ vs. $101 \pm 12 \times 10^5$ RLU), illetve szignifikánsan több antioxidáns (SH csoport átlag max 1.14 ± 0.05 vs. 0.44 ± 0.06 mmol/L, redukáló képesség átlag max 0.18 ± 0.03 vs. 0.04 ± 0.002 mmol/L ASeqv) volt jelen a serumban a reperfúziót követően az IP csoportban (B), mint az IPC csoportban (A), de ezek az értékek a 7. posztoperatív napra a preoperatív értékekre tértek vissza.



44. ábra Szignifikánsan kisebb össz-scavenger aktivitás (szabadgyök) az IP csoportban ($p < 0,05$).

A cirrhoticus betegeknél (a nem cirrhoticus betegekével megegyezően) az ODFR szintek szignifikánsan alacsonyabbak (össz-scavenger aktivitás átlag max $131 \pm 16 \times 10^5$ vs. $80 \pm 13 \times 10^5$ RLU, $P < 0,05$), az antioxidáns szintek szignifikánsan magasabbak voltak a reperfúziót követően (SH csoport átlag max $0,3 \pm 0,05$ vs. $0,65 \pm 0,04$ mmol/L és redukáló képesség átlag max $0,02 \pm 0,001$ vs. $0,16 \pm 0,02$ mmol/L ASeqv., $P < 0,05$), ha az ischaemiát preconditionálás előzte meg. Amennyiben preconditionálás nem történt, úgy cirrhoticus betegeknél ezek az értékek nem tértek vissza a műtét előtti szintekre a 7. posztoperatív napon sem (44, 45. ábra).



45. ábra Szignifikánsan több antioxidáns (Redukáló képesség, SH-csoport) volt mérhető az IP csoportokban a reperfusio után ($p < 0.05$). A serum antioxidáns szintek nem tértek vissza a preoperatív értékekre a cirrhoticus IPC-n átesett betegeknél a 7.napig.

6.2.7. Morbiditás, mortalitás

A posztoperatív morbiditási és mortalitási adatokat a XI. táblázat mutatja. A nem cirrhoticus betegek esetén a preconditionált és nem preconditionált csoportok morbiditási és mortalitási adatai között nem volt szignifikáns különbség.

A cirrhoticus betegeknél azonban az ischaemias preconditionálás klinikai haszonnal is járt; a posztoperatív májelégtelenség (total bilirubin $> 70 \mu\text{mol/l}$, prothrombin $< 30\%$, asterixis, illetve gyógyszerhatáshoz nem köthető tudatzavar a 7. posztoperatív napig), az ascites képződés aránya, illetve a vörösvértest transzfúzió mennyisége szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabb volt az IP csoportban, mint az IPC csoportban. A vérvesztés mennyiségét, illetve a transfundált betegek számát illetően is észleltünk hasonló tendenciát a preconditionált csoport javára, de a két csoport közötti különbség nem volt szignifikáns. Az ITO-n töltött napok és a kórházi napok száma is szignifikánsan ($p < 0,05$) kevesebb volt az IP csoportban az IPC csoporthoz képest (XI.táblázat).

	Nem cirrhoticus betegek			Cirrhoticus betegek		
	A csoport	B csoport	<i>P</i> < 0,05	C csoport	D csoport	<i>P</i> < 0,05
	IPC	IP		IPC	IP	
Mortalitás (összes; n)	3	0	n	2	0	n
Morbiditás (n)						
Ascites	1	0	n	7	1	<i>P</i> < 0,05
Májelégtelenség	1	0	n	7	1	<i>P</i> < 0,05
Epesipoly	1	1	n	2	0	n
Veseelégtelenség	1	0	n	2	0	n
Egyéb	7	6	n	6	5	n
Intraop. vérvesztés (ml)	432 ± 68	382 ± 70	n	370 ± 58	310 ± 39	n
Posztop.transfusio						
Vvt. transfusio mennyisége (U)	2.8 ± 0.3	1.6 ± 0.4	<i>P</i> < 0,05	1.9 ± 0.2	0.7 ± 0.1	<i>P</i> < 0,05
Transfundált betegek száma (n)	12	10	n	7	6	n
ITO napok száma (nap)	3.1 ± 2.9	2.0 ± 1.1	<i>P</i> < 0,05	4.9 ± 1.2	1.6 ± 0.5	<i>P</i> < 0,05
Kórházi napok száma (nap)	10.2 ± 3.6	9.5 ± 3.9	<i>P</i> < 0,05	19.2 ± 9.1	10.1 ± 3	<i>P</i> < 0,05

IP: ischaemias preconditionalis IPC: intermittent portal clamping.
 Posztoperatív májelégtelenség: total bilirubin >70 µmol/L, prothrombin <40% , asterixis és/vagy gyógyszerhatáshoz nemköthető zavartság a posztop. 7. napig
 Klinikailag jelentős ascites : hasi drain hozam >500 ml naponta, több, mint 3 napig
 Veseelégtelenség: se kreatinin >150 µmol/L.
 Posztop. transfusio: Vvt. transfusio (egység) a posztoperatív első 48 órában.

XI. táblázat: Morbiditás, mortalitás

7. MEGBESZÉLÉS

A májreszekciók során a vévesztés, illetve az ennek pótlására adott allogén vér transfúziójának negatív hatásai ismertek. Részben a májreszekció utáni posztoperatív szövödmények számának növekedése, újabb eredmények szerint pedig hosszútávú, onkológiai eredmények romlása is észlelhető. A vévesztés elkerülésére nagy erőfeszítések történnék, mind a sebészek, mind az aneszteziológusok részéről. A sebészi lehetőségek közül a leghatékonyabb a máj parenchymájának átvágásakor alkalmazott különféle kirekesztések. A kirekesztés miatt azonban májischaemia jön létre, ráadásul ennek megszüntetését követően a reperfúzió további májkárosodást eredményez. Mivel a kirekesztés a leghatékonyabb módszer a vévesztés elkerülésére, ezért károsító hatásának csökkentésére nagy az igény. Már Báron és Pringle is észlelte, hogy a máj kirekesztése nem végezhető tetszőleges időig, hiszen ún. ischaemia-reperfúziós károsodással kell számolnunk. Az I-R károsodás során a májban „rezidens” makrofágok a karmeseterek, melyek citokin termelésükkel önmagukat és más sejteket is aktiválnak, illetve májkárosító folyamatokat indítanak be. A folyamatban végül -jelentős mértékben szabadgyökös mechanizmusok következtében- DNS, illetve sejtpartikulum károsodás jön létre. A folyamat távoli szerveken is képes károsító hatást kifejteni, sőt génszintű módosulásokat is okoz, így hosszútávú hatása is észlelhető.

A vizsgálatok során kiderült, hogy a károsodás mértéke az ischaemia hosszától, az ischaemia „hőmérsékletétől” és a máj állapotától (általában energetikájától) függ.

Az I-R károsodás elkerülése céljából ischaemias preconditionálás alkalmazható. Az eljárás azon kardiológiai megfigyelésen alapul, hogy azoknál a betegeknél, akik myocardialis infarktuszuk előtt (hosszú ischaemia) több alkalommal szenvedtek el anginás (rövid ischaemia-reperfúziós periodusok) tüneteket a szívizomelhalás mértéke kisebb volt. Murry ezen megfigyelést továbbgondolva vezette be az IP fogalmát és módszerét. Azóta számos állatkísérletben vizsgálták hatásának mechanizmusát, illetve igazolták hatékonyságát. Az ischaemias preconditionálás az I-R károsító mechanizmust annak számtalan pontján gátolja. Proinflammatorikus citokinek termelésének gátlását több külföldi vizsgálat igazolta már állatmodelleken és human vizsgálatok során is, azonban a sejtkárosítás nagyrészéért felelős szabadgyököket kevesen vizsgálták.

Az IP tehát állatmodellen már viszonylag régóta vizsgált eljárás, human alkalmazására azonban csak nemrég került sor. Az első prospektív randomizált tanulmányok eredményei ellentmondásosak voltak, Clavien és munkatársai (91) az eljárás hatékonyságát tapasztalták, azonban Azoulay (95) és munkatársai az IP klinikai hasznát nem észlelték. Ennek oka főképp abban keresendő, hogy amint feljebb említettem az I-R károsító hatása –és ennek megfelelően az I-R folyamatának gátlása is) több tényezőtől (ischaemia hossza, hőmérséklete, máj állapota) függ. Nyilvánvalóan könnyű az ischaemia hosszát, akár idejét pontosan megszabni, azonban a máj állapota-energetikája nagyon sok tényezőtől függ. Gyakorlatilag majdnem minden máj más és más, a különböző napszakokban is jelentős változásokat mutató glikogén/ATP raktárral és enzimrendszerrel rendelkezik, így rendkívül nehéz homogén, összehasonlítható betegcsoportokat létrehozni.

A máj ischaemia toleranciája azonban csak közelítőleg ismert, vizsgálatára számos módszer ismeretes, melyek közül a Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikáján Kupcsulik és munkatársai (16, 17) által kifejlesztett patkány modellt vettük alapul. Állatmodellünk eredményei alapján a human alkalmazást megalapozottnak véltük, így 2004-től összesen 160 beteget randomizáltunk prospektív tanulmányunkba.

Állatmodellünkben igazoltuk, hogy a munkacsoportunk által kifejlesztett matematikai korrekciókkal a laser Doppler flowmeterrel történő áramlásmérés alkalmas a máj mikrokeringésének vizsgálatára. IP hatására a standardizált áramlágörbék reperfúziós szakasz előnyösebb karakterisztikát mutatnak. A preconditionált csoportban az ischaemia hosszának megfelelő maximalisan elérhető reperfúziós maximumot a preconditionált állatok gyorsabban érték el, ráadásul maga a plató szakasz is magasabb értékeket mutatott. Ennek oka valószínűleg az IP hatására a sinus endothel falhoz kisebb fokban létrejövő leukocyta és trombocita adhesio, mely miatt a „no reflow” jelenséget okozó leukocyta és trombocita dugók kiterjedése is kisebb. További mikrokeringés fokozó hatás a sinusok és az arteriak NO mediant vasodilatatioja, hiszen az IP az NO szintet emeli, a vasoconstrictiot okozó endothelin szintet pedig csökkenti. Az áramlásmérés eredményeit a többi vizsgált paraméter is igazolta.

A májenzim szintek emelkedése I-R után pontosan jelzi a májléziót, azaz a májsejtek pusztulását. Nem meglepő, hogy mind állatmodellünk alkalmazása során, mind a human vizsgálatban résztvevő betegeknél az I-R után a májenzim szintek megemelkednek, az 1-3 napon érik el maximális szintjüket. Cirrhoticus betegeinknél az enzimszint emelkedés magasabb volt, mint a

nem cirrhoticus betegeknél, mely jól jelzi, hogy a májsugorban szenvedő betegek mája érzékenyebb az ischaemia-reperfúziós károsodásra. Az ischaemias preconditionálás hatására mind az állat, mind a human vizsgálat során alacsonyabb maximalis értékeket észleltünk, mind a normál, mind a cirrhoticus betegeknél. Ezzel igazolható, hogy kevesebb májsejt pusztul el az előkezelt betegek esetén.

Az állatmodellen elvégzett szövettani vizsgálat elemzése során a sinusoidalis pangás (mely a leukocyta dugókra utal), a vacuolisatio és a sejtmag töredezettség (sejtszétesés), illetve a nekrozis mértéke, kiterjedése érthetően nagyobb fokú volt, ha az ischaemia idejét növeltük. Preconditionált állatoknál az elváltozások mértéke, kiterjedése kisebb volt.

Az említett elváltozások jelentős többségéért a szabadgyökök felelősek. Állatmodellünkben a májban és a serumban is jelentős volt a szabadgyökök mennyisége az I-R után. Az ODFR mennyiség arányos az ischaemia hosszával. Mind a serum, mind a máj homogenizátum szabadgyök tartalma alacsonyabb a luminometriás vizsgálat alapján a preconditionált állatoknál, mint az előkezelésben nem részesült csoportokban. A redukáló képesség, a H-donor és az SH csoportok mennyisége az antioxidánsok mennyiségét jól jellemzi. Eredményeink szerint a preconditionált csoportokban magasabb az antioxidánsok szintje a reperfúzió után, mint a nem preconditionált csoportokban. Az antioxidáns fogyás mértéke az ischaemia hosszával növekszik. A human alkalmazás során a serum oxidatív stresszt jelző paraméterei az állatmodell vizsgálatok eredményeit igazolták. A nagyobb fokú neutrofil és Kupffer sejt aktiváció magasabb szabadgyök szinttel, ennek megfelelő gyors antioxidáns fogyással (azaz alacsonyabb redukáló képesség, illetve SH-csoport) szinttel jár.

A normál májszövettel bíró betegeknél nem volt különbség a posztoperatív szövődeményeket illetően a preconditionált és a nem preconditionált csoportok között, bár az értékek javulása irányában egyértelmű trend volt megfigyelhető az IP csoport javára. Cirrhoticus betegek esetén amennyiben a kirekesztés előtt ischaemias preconditionálást alkalmaztunk, úgy a posztoperatív májelégtelenség és az ascites képződés aránya alacsonyabb volt. Bár a transzfundált betegeknél alkalmazott transzfúzió mennyisége szignifikánsan kevesebb volt, és a transzfundált betegek számát tekintve is egyértelmű trend volt megfigyelhető az IP csoport javára, összességében szignifikánsan kevesebb vérvesztés nem volt megfigyelhető a preconditionált cirrhoticus betegeknél. Egyszerű lenne azt mondani, hogy csak a vérvesztés csökkenése okozza a jobb posztoperatív eredményeket az IP-n átesett betegeknél, azonban

eredményeink nem ezt mutatják. A javuló posztoperatív eredményekben nyilván a kevesebb vérvesztés is szerepet játszik, de mivel a csoportok között nem volt szignifikáns különbség, így más, az IP-nek tulajdonított, a fentiekben részletezett hatást is fel kell tételeznünk (ATP prezerváció, májsejt, illetve mitokondrium integritásának megőrzése, stb...).

Vizsgálatunk során tehát az IP klinikai hasznát (azaz egyes alacsonyabb posztoperatív szövődmény arányt) csak a cirrhoticus betegeknél észleltük. Ennek oka az lehet, hogy károsodott parenchymájú máj glikogén, illetve ATP szintje alacsonyabb, IP hatására az adenosin preservatio fokozódik, mely protein kináz C-n keresztül a sejt és a mitokondrium Ca homeosztázisának megőrzését segíti.

Fentiek alapján megállapítható, hogy az ischaemias preconditionálás alkalmazása javasolt kirekesztéssel járó májreszekciók esetén, különösen cirrhoticus betegeknél.

8. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az ischaemia-reperfúziós károsodás az afferens kirekesztéssel járó májreszekciók után jelentős szerepet játszik a posztoperatív májkárosodásban.
2. A májkárosodás elindításában, illetve a folyamat fenntartásában mediatorként fontos szerepe van a TNF- α -nak.
3. A hepatocita, illetve sinus endothel károsodás közvetlen kiváltásáért jelentős részben a szabadgyökök felelősek.
4. Meghatározott körülmények biztosítása, illetve standardizált feltételek mellett a lézer Doppler flowmeter (LDF) alkalmas a máj mikrocirkulációjának mérésére. Ilyen feltételek az állandó hőmérséklet, a légzőmozgások minimalizálása, a mérőfej állandó nyomóereje, a pontosan megválasztott mérési hely, melyek megléte mellett a mérések reprodukálhatók.
5. A LDF használata során kapott áramlási görbék matematikai korrekciója után az egyes állatok áramlási görbéi összehasonlíthatóvá válnak.
6. Az LDF görbék kiértékelését, elemzését, illetve statisztikai feldolgozását a Plató Maximum (PM: stabil, maximális áramlási érték, mértékegysége: %), Reperfúziós Terület (RT: a reperfúziós görbe alatti integrál, mértékegysége: nincs) és Reperfúziós Maximális Idő (RMI: a reperfúziós görbe inflexiós pontja, mértékegysége: min és sec), mint új fogalmak bevezetése lehetővé tette. A „ K_{RT} ” arányszám ($K_{RT} = RT_x/RT_0 \times 100$; mértékegysége: %) a RT fogalom kezelhetőségét könnyebbé teszi.
7. A patkánymáj a 30 perces ischaemiát, illetve az azt követő reperfúziót jól tolerálja, azonban a 45 és 60 perces kirekesztés már jelentős áramlásbeli (PM, RT) változásokat okoz. A 90 perces ischaemia után a máj mikrocirkulációja súlyosan károsodik, spontán javulása, rendeződése nem következik be a megfigyelt reperfúziós idő (30 perc) alatt.

8. Az egy ciklusban alkalmazott ischaemiás preconditionálás (5 perc ischaemia - 10 perc reperfúzió) szignifikáns reperfúziós áramlásjavulást (PM, RT) okoz a 45 és 60 perces ischaemiában részesített patkány májszöveten. A 30 perces ischaemia alatt *még* nem, a 90 perces ischaemiát követően *már* nem jelentkeznek az IP protektív hatása patkánymájon.
9. Az IP hatására a szövettani elváltozások kismértékűek, de nem szignifikáns javulást mutattak, az egy hetes túlélés tekintetében is ez a tendencia volt észlelhető, szignifikáns eltérés nem volt.
10. A szérumban TNF- α szintek szignifikáns módon javulnak IP hatására 45 és 60 perc ischaemia után, mely a korai gyulladásos választ, illetve a Kupffer-sejtek aktiválódását igazolja. A májlaesiot jelző rutin laboratóriumi paraméterekben hasonló változások voltak észlelhetők.
11. IP hatására a közvetlen hepatocita és sinus endothel károsodásért nagymértékben felelős szabadgyökök szintje a reperfúzió után alacsonyabb, az antioxidánsok fogyása kisebb mértékű, mint a nem preconditionált állatoknál.
12. Patkánymájon az egy ciklusban elvégzett ischaemiás preconditionálás protektív hatása igazolható 45 és 60 perces ischaemiás periódusok előtt alkalmazva. Különösen kritikusnak tekinthető a 60 perces kirekesztés.
13. Az állatmodell következtetéseiből levonható, hogy az ischaemiás preconditionálás alkalmazása megalapozott, human vizsgálata célszerű.
14. Human vizsgálat során az afferens kirekesztés előtt egy ciklusban alkalmazott ischaemiás preconditionálásban részesült nem cirrhoticus és cirrhoticus betegek esetén is a májlaesio kisebb volt, mint az intermittáló portális kirekesztésben részesült betegek esetén.
15. A nem cirrhoticus betegeknél az IP csoport bilirubin szintjei a posztoperatív 1. napon nem különböztek szignifikánsan az IPC csoport értékeitől.

16. Mind az IP, mind az IPC csoportban nem cirrhoticus betegnél az AST, ALT és bilirubin szintek a 7. napra normalizálódtak.
17. Cirrhoticus betegeknél a preconditionálásban részesültek maximalis AST és ALT értékei erősen szignifikánsan ($p < 0.01$), és ellentétben a nem cirrhoticus betegekkel, bilirubin értékei is szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a nem preconditionált betegeknek.
18. A májsejt és a sinus endothel sejt károsodást okozó oxidatív stressz faktorok vizsgálata során az ischaemias preconditionálás után alkalmazott folyamatos afferens kirekesztést követő reperfúziót követően kevesebb volt a serum szabadgyökök szintje, mint az IPC csoportban lévő betegeknél.
19. A cirrhoticus betegeken a nem cirrhoticus betegekkel ellentétben az oxidatív stressz paraméterek nem normalizálódtak 7 nap múlva.
20. Az oxidatív stressz okozta antioxidans fogyás is szignifikánsan kevesebb volt az ischaemias preconditionálás csoportban a reperfúzió után.
21. Míg nem cirrhoticus betegeknél a szabadgyökök és az antioxidansok mennyisége is visszatért a preoperatív tartományba, addig cirrhoticus betegeknél ezek az eltérések még a postoperatív 7. napon is észlelhetőek voltak.
22. Sem a postoperatív májelégtelenség (total bilirubin $> 70\mu\text{mol/l}$, prothrombin $< 30\%$, illetve gyógyszerhatáshoz nem köthető tudatzavar a 7. posztoperatív napig), sem az ascites képződés aránya nem volt kevesebb a nem cirrhoticus IP csoportban, mint az IPC csoportban.
23. Cirrhoticus betegeknél azonban mind a posztoperatív májelégtelenséget jelző paraméterek, mind az ascites képződés aránya alacsonyabb volt, mind az IPC csoportban.

- 24.** A preconditionált csoportokban nem volt kevesebb a transfundált betegek száma, sem a normál májszövetű, sem a cirrhoticus betegeknél. A transfúzió mennyisége azonban szignifikánsan kevesebb volt a preconditionált betegcsoportokban, függetlenül attól, hogy milyen volt a beteg májának állapota.
- 25.** Az ITO napok és a posztoperatív időszakban a kórházban töltött napok száma is szignifikánsan alacsonyabb volt az IP csoportokban cirrhosis és normál máj esetén is.
- 26.** Fentiek alapján megállapítható, hogy az ischaemias preconditionálás minden betegcsoportban kisebb májlaesiót eredményez az intermittáló portális kirekesztéshez képest, azonban a kevesebb posztoperatív szövődményben is megmutatkozó klinikai haszna csak cirrhoticus betegek esetén van.

8.1. VÁLASZOK A FELTETT KÉRDÉSEKRE

- 1.** Hogyan alakul különböző idejű ischaemiás periódusok, illetve ezt megelőző IP után a:
- mikrocirkuláció;
 - patomorfológiai kép;
 - egyes citokinek (TNF- α) szintje;
 - rutin laborparaméterek, illetve
 - az állatok túlélése?

VÁLASZ:

Az ischaemias idő növekedésével az összes vizsgált paraméter romlik.

- 2.** Mely ischaemiás időtartamok előtt alkalmazott IP képes protektív hatást kifejteni?

VÁLASZ:

Az ischaemias preconditionálás (IP) 45 és 60 perc májischemia esetén képes kifejteni protektív hatását

3. Van-e különbség a máj afferens kirekesztését követő málaesio tekintetében az ischaemias preconditionálásban és az intermittáló portális kirekesztésben részesült betegek között?

VÁLASZ

Ischaemias preconditionals esetén a májlaesiot jelző májenzim szintek alacsonyabban a preconditionált csoportokban, tehát a májlaesio -függetlenül a máj parenchyma állapotától- kisebb.

4. Az oxidatív stressz foka kisebb-e amennyiben az afferens kirekesztés előtt ischaemias preconditionálást alkalmazunk?

VÁLASZ

A szabadgyökök mennyisége, illetve az antioxidánsok fogyása kisebb a reperfüzió után vizsgálva IP esetén, tehát az ischaemias preconditionálás csökkenti az oxidatív stresszt.

5. Cirrhoticus betegek esetén van-e különbség az IP hatását tekintve a nem preconditionált betegekhez képest?

VÁLASZ

Cirrhoticus betegek esetén a májenzim értékek seBilirubin, oxidatív stressz paraméterek nem normalizálódtak a 7. napra, ha nem IP-t alkalmaztunk

6. Van-e a vérzés és a transfúzió mennyiségében, valamint a morbiditási és mortalitási adatokban is megnyilvánuló klinikai haszna az ischaemia preconditionálásnak?

VÁLASZ

- Normál májszövet esetén a trend egyértelmű volt, de a fenti paraméterek nem mutattak szignifikánsan jobb értékeket a preconditionált csoportokban.

- Cirrhoticus betegek esetén azonban az IP csoportban szignifikánsan kevesebb volt a transfúzió mennyisége, a posztoperatív májelégtelenség, az ascites képződés gyakorisága, az ITO-n és a kórházban töltött napok száma, tehát ezen beteg csoportban az IP-nek klinikai hasznát is igazoltuk.

8.2. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

ÁLLATMODELL

1. A patkánymáj a 30 perces ischaemiát jól tolerálja, a 45 és 60 perces kirekesztés jelentős áramlásbeli változásokat okoz. A 90 perces ischaemia után a máj mikrocirkulációja ledált.
2. Az alkalmazott ischaemiás preconditionálás szignifikáns reperfúziós áramlási javulást okoz a 45 és 60 perces ischaemiában részesített májszöveten.
3. A 30 perces ischaemia alatt még nem, a 90 perces ischaemiát követően már nem jelentkezik az IP protektív hatása.
4. A Kuppfer-sejt érintettséget reprezentáló szérum TNF- α szintek szignifikáns módon javulnak IP hatására 45 és 60 perc ischaemia után.
5. Az IP protektív hatását a 45 és 60 perces ischaemiás periódusok előtt képes létrehozni.

HUMAN VIZSGÁLAT

1. Az ischaemias preconditionálás kisebb májlaesioval jár, mint az intermittáló portális kirekesztés
2. Az ischaemias preconditionálás hatására csökken a serum szabadgyökök mennyisége, illetve kisebb az antioxidánsok fogyása a reperfuziot követően.
3. Az ischaemias preconditionálás valódi, klinikai haszonnal jár cirrhoticus betegek esetén
4. Az IP alkalmazása megalapozott, különösen cirrhoticus betegeknél.

9. ÖSSZEFOGLALÁS

Bevezetés: A májreszekciók során a vérvesztés negatív rövid és hosszútávú eredményekkel jár. A vérvesztés csökkentésére a máj keringésének átmeneti megszüntetése (kirekesztés) alkalmazható. A kirekesztés ischaemia-reperfúziós (I-R) károsodást okoz, mely rontja a posztoperatív morbiditást. A disszertáció a vérvesztés csökkentésére kifejlesztett eljárások összefoglalása után a kirekesztés hatásait részletezi, összegzi az ischaemias preconditionálás (IP) alkalmazásával kísérletes májműtétek során szerzett eredményeit, illetve az itt szerzett tapasztalatokat adaptálja human alkalmazásra.

Célkitűzés: Kutatócsoportunk korábban kialakított állatmodelljén vizsgálni az IP hatását kirekesztéssel járó májreszekciók kapcsán, illetve a protektív hatás human alkalmazásának vizsgálata, különös tekintettel a cirrhoticus betegekre.

Anyag és módszerek: Az első kísérletünk során összesen 110 db hím Wistar patkány máján változó időtartamú (30, 45, 60, 90 perc) szegmentális ischaemiát hoztunk létre, kiegészítve egy ciklusú IP-sal, a biliovascularis nyélre helyezett mikroklippel. Laser Doppler flowmeterrel mértünk a mikrocirkulációs változásokat. A módszer alkalmazásához kritériumokat állítottunk fel, illetve a kapott értékeket, matematikai analízist követően, statisztikai feldolgozásra alkalmassá tettük. A 60 perc ischaemias csoportban újabb 30 állaton második kísérletünk kapcsán redox status vizsgálatokat végeztünk.

A human alkalmazás során 160 beteget randomizáltunk tanulmányunkba. A betegek az IP után legalább 30 (normál máj), illetve 20 (cirrhosis) perces afferens májkirekesztésen estek át a parenchyma átvágás során. Vizsgáltuk a vérvesztés mennyiségét, a májreszekció specifikus posztoperatív szövődmények előfordulási gyakoriságát, illetve az egyéb műtéti következményeket. Mind az állatmodellen, mind a human alkalmazás során vizsgáltuk a szövettani változásokat, a redox status, valamint konvencionális laboratóriumi és TNF- α szinteket mértük.

Eredmények, megbeszélés: Kísérleteink alapján a patkánymáj a 30 perces ischaemiát jól tolerálja, a 45 és 60 perces kirekesztés jelentős áramlásbeli változásokat okoz. A 90 perces ischaemia nem tolerálható. Az IP szignifikáns reperfúziós áramlási javulást és szérum TNF- α csökkenést okoz a 45 és 60 perces ischaemiát előtt alkalmazva, továbbá javulás látható a szövettani elváltozások, a redox status, illetve az egy hetes túlélés tekintetében. Hasonló változások észlelhetők a rutin laboratóriumi paraméterekben.

Human alkalmazás során az IP hatására csökkent a posztoperatív maximális májenzim és bilirubin szint, illetve javult a betegek redox statusa mind normál, mind cirrhoticus betegek esetén. Klinikai hasznot, azaz kevesebb posztoperatív szövődményt, azonban csak a cirrhoticus betegeknél sikerült igazolni.

10. SUMMARY

Introduction: Excessive blood loss during liver resections causing worse postoperative morbidity rates and even combined with worse long term survival. Inflow occlusion of the liver is able to reduce this blood loss. The consequence of this occlusion is ischemia-reperfusion (I-R) injury. The author reviews the international literature regarding I-R pathophysiology, and the possibilities of reducing I-R injury with special respect to ischemic preconditioning (IP). The experiences of the experimental IP + I-R model were adapted into the human use.

Aim of the study was to investigate the protective effect of IP during liver resection on the animal model developed by our research team and to evaluate this protective effect during human liver resections with inflow occlusion, with special interest on cirrhotic patients.

Methods: Inbred male Wistar rats were used for the first (n=80) and second (n=30) experiment. Complete segmental ischemia (30, 45, 60, 90 minutes) of the liver was achieved by clamping of the portal triad with, or without, IP. The microcirculation was monitored using laser Doppler flowmeter (LDF) throughout the ischemia-reperfusion period. Required standardizations and mathematical analyses were performed in order to validate the statistical data. Redox parameters were investigated in the 60 minutes ischemia group during the second experiment. 160 patients were randomized into the human study. During parenchyma transection the patients received at least 30 (normal liver), or 20 (cirrhosis) minutes of inflow occlusion after IP. Blood loss, liver resection specific morbidity rates, such as other complications were observed. As in the animal model so in the human study redox status, histological alterations, liver enzymes, bilirubin, and TNF- α levels were all measured simultaneously.

Results, conclusion: 30 minutes ischemia is well tolerated by the rat liver and IP does not cause further improvement. 45 to 60 minutes ischemia results in serious microcirculatory changes during reperfusion. 90 minutes ischemia is intolerable. The liver injury and microcirculatory changes caused by 45 or 60 minutes of ischemia could be reduced with IP. Improvement was observed both, in the histological samples and in the survival rates. 45 and 60 minutes, IP + I-R caused a significant decline in the TNF- α level as well as in the laboratory blood samples and improvement in redox status in the 60 minutes ischemia group. In the human study, patients with IP had lower postoperative peak liver enzymes and bilirubin levels, and further improvement in redox status could be observed in normal liver patients and in cirrhotic patients too. Clinical benefit -less postoperative complications- of IP could only be seen in cirrhotic patients

11. IRODALOMJEGYZÉK

1. Lortat-Jacob J., Robert H. (1952) Hepatectomy droite reglee. *Presse Med* 60:549–551.
2. Foster JH, Berman MM. (1977) Solid liver tumors. *Major Probl Clin Surg* 22:1–342.
3. Asahara T, Katayama K, Itamoto T (1999) Perioperative blood transfusion as a prognostic indicator in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 23:676-680
4. Poon T-P-R, Fan ST, Wong J (2000) Risk factors, prevention, and management of postoperative recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 232:10-24
5. Langenbuch C: Ein Fall von Resektion eines linksseitig Schnur Lappens der Leber. (1888) *Heilung Berl Klin Wochenschr* 25:37.
6. Elliot J: (1897) Surgical treatment of tumor of the liver with report of a case. *Ann Surg* 26:83.
7. Glisson F: *Anatomia Hepatis* (London, 1654, O.Pullein)
8. Kousnetzoff M., Pensky J.: (1896) Sur la resection partielle du foie. *Rev Chir* 16:954
9. Garre C: (1907) On resection of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 5:331
10. Ton TT: *Les Resections Majeurs et Mineurs du Foie*. (Paris, Masson, 1979)
11. Oláh A., Gaál Cs., Hibák és szövődmények a hasi sebészetben. (*Medicina, Budapest*, pp. 384. 2006)
12. Pringle JH (1908) Notes on the arrest of hepatic hemorrhage due to trauma. *Ann Surg* 48:514-519
13. Wendell W (1911) Beiträge zur Chirurgie der Leber. *Arch Klin Chir* 95:887-892
14. Jennings RB, Sommers HM, Herdson PB, Kaltenbach JP. (1969) Ischemic injury of myocardium. *Ann N Y Acad Sci.* 156:61–78.
15. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H (1960) Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol.* 70:68–78.
16. Kupcsulik P., Kokas P. (1979) Ischemic damage of the liver Part I: In vitro investigation of the prevention of the ischemic lesion of the liver. *Acta Hepato-Gastroenterologica.* 26(4):279-83.
17. Kupcsulik P., Kokas P. (1979) Ischemic damage of the liver. Part II: In vivo investigation of the prevention of the ischemic lesion of the liver. *Acta Hepato-Gastroenterologica.* 26(4):284-9

18. Faller J., Karacsonyi S., Nemeth M., Kupcsulik P. (1974) Role of hypothermia and perfusion in liver preservation. *Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 15(1):69-77
19. Kupcsulik P., Kokas P., Karacsonyi S. (1979) The effect of ischemia on ascites secretion in the perfused rat liver. *Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 20(1):1-11
20. Faller J., Kupcsulik P., Karacsonyi S. (1974) Histochemical study of non-specific acid and alkaline phosphatase, adenosine triphosphatase and lactate dehydrogenase in the dog liver perfused in vitro. *Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 15(3):313-26.
21. Kupcsulik P., Faller J., Karacsonyi S. (1974) Histochemical studies of the unspecific acid and alkaline phosphatase, adenosine triphosphatase and lactate dehydrogenase of in vitro perfused dog liver. *Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch*. 120(5):638-57.
22. Kupcsulik P., Faller J., Kokas P. (1976) Enzyme histochemical studies of the preserved rat liver. *Acta Chirurgica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 17(4):275-88.
23. Kupcsulik P., Stekker K., Nemeth M. (1977) Effect of ischemia on the enzyme activity of the hepatic tissue. *Research in Experimental Medicine*. 170(3):259-70.
24. Kupcsulik P. Az ischemia hatása a májra: A májkárosodás megelőzésének lehetőségei. Kandidátusi értekezés; MTA TMB, 1977.
25. Jakab F., Rath Z., Schmal F., Nagy P., Faller J. (1996) A new method to measure portal venous and hepatic arterial blood flow in patients intraoperatively. *HPB Surgery*. 9(4):239-43
26. Jakab F., Sugar I., Rath Z., Nagy P., Faller J. (1996) The relationship between portal venous and hepatic arterial blood flow. I. Experimental liver transplantation. *HPB Surgery*. 10(1):21-6.
27. Jakab F., Rath Z., Schmal F., Nagy P., Faller J. (1992) Intraoperative estimation of liver blood flow in man. *Acta Chirurgica Hungarica*. 33(3-4):367-74,-93.
28. Jakab F., Rath Z., Schmal F., Nagy P., Faller J. (1995) The interaction between hepatic arterial and portal venous blood flows; simultaneous measurement by transit time ultrasonic volume flowmetry. *Hepato-Gastroenterology*. 42(1):18-21.
29. Vali L., Taba G., Szentmihalyi K., Febel H., Kurucz T., Pallai Z., Kupcsulik P., Blazovics A. (2006) Reduced antioxidant level and increased oxidative damage in intact liver lobes during ischemia-reperfusion. *World Journal of Gastroenterology*. 12(7):1086-91.

30. Marubayashi S., Dohi K., Sugino K., Kawasaki T. (1989) The protective effect of administered alpha-tocopherol against hepatic damage caused by ischemia-reperfusion or endotoxemia. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 570:208-218.
31. Pietta P. G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products.* 63(7):1035-42.
32. Kobayashi S., Clemens, M. G. (1992) Kupffer cell exacerbation of hepatocyte hypoxia/reoxygenation injury. *Circulatory Shock.* 37(3):245-52
33. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74:1124-1136.
34. Pang, Y.Y., (2002) The Brisbane 2000 terminology of liver anatomy and resections. *HPB* 2000; 2:333-39. *HPB (Oxford)*, 4(2): p. 99; author reply 99-100.
35. Capussotti L, Ferrero A, Russolillo N, Langella S, Lo Tesoriere R, Viganò L. (2012) Routine anterior approach during right hepatectomy: results of a prospective randomized controlled trial *J. Gastrointest Surg* 16:1324-1332.
36. Jakab F, Dede K, Láng I, Bursics A, Mersich T (2012) Latest indications for hanging manoeuvre in liver surgery. *Magy Seb.* 65(6):407-15.
37. Quang N D, Ton That Tung: (1963) A new technique for operation on the liver. *Lancet* 1:192-193.
38. D'Amico FE, Allen PJ, Eaton AA, DeMatteo RP, Fong Y, Kingham TP, Blumgart LH, Jarnagin WR, D'Angelica MI. (2013) Vascular inflow control during hemi-hepatectomy: a comparison between intrahepatic pedicle ligation and extrahepatic vascular ligation. *HPB (Oxford)*. 15(6):449-56.
39. Rex H (1888) Beitrage zur Morphologie der Saugerleber. *Morphol Jahrb* 14:517-617.
40. Cantlie J (1897) On a new arrangement of the right and left lobes of the liver. *J Anat Physiol* 32:IV-IX.
41. Cantlie J, (1897) On a new arrangement of the right and left lobes of the liver *Proc Anat Soc Great Brit Ire* 32:4-9
42. Launois B, Jamieson GG (1992) The posterior intrahepatic approach for hepatectomy or removal of segments of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 174:155-158.
43. Karamarković A, Doklešić K, Milić N, Djukić V, Bumbasirević V, Sijački A, Gregorić P, Bajec D. (2012) Glissonian pedicle approach in major liver resections. *Hepatogastroenterology* 59(118):1896-901.

44. Capussotti L, Muratore A, Ferrero A, Massucco P, Ribero D, Polastri R. (2006) Randomized clinical trial of liver resection with or without hepatic pedicle clamping. *Br J Surg* 93:685-689.
45. Scatton O, Massault PP, Dousset B, Houssin D, Bernard D, Terris B, Soubrane O. (2004) Major liver resection without clamping: a prospective reappraisal in the era of modern surgical tools. *J Am Coll Surg* 199:702-708.
46. Hesham Abdeldayem *Hepatic Surgery* 2013 feb., ISBN 978-953-51-0965-5 DOI: 10.5772/54301
47. Elliot RH, Strunin L: (1993) Hepatotoxicity of volatile anaesthetics: implications for halothane, enflurane, isoflurane, sevoflurane, and desflurane. *Br J Anaesth* 70:339-348.
48. Shingu K, Eger EI 2nd, Johnson BH, Van Dyke RA, Lurz FW, Harper MH, Cheng A (1983) Hepatic injury induced by anesthetic agents in rats. *Anesth Analg* 62(2):140-145
49. Stoelting RK, Blitt CD, Cohen PJ, Merin RG (1987) Hepatic dysfunction after isoflurane anesthesia. *Anesth Analg* 66(2):147-153.
50. Gelman S: Anesthesia and the liver. In: Barash PG ed. *Clinical Anesthesia*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott; 1992:1185-1214.
51. Gelma (1976) Disturbances in hepatic blood flow during anesthesia and surgery. *Arch Surg* 111:881-883
52. Kennedy WF Jr, Everett GB, Cobb LA, Allen GD. (1971) Simultaneous systemic and hepatic hemodynamic measurements during high peridural and anesthesia in normal man. *Anesth Analg* 50:1069-1078.
53. Tanaka N, Nagata N, Hamakawa T, Takasaki M. (1997) The effect of dopamine on hepatic blood flow in patients undergoing epidural anesthesia. *Anesth Analg* 85:286-290.
54. Meierhenrich R, Wagner F, Schütz W, Rockemann M, Steffen P, Senftleben U, Gauss A (2009) The effect of thoracic epidural anesthesia on hepatic blood flow in patients under general anesthesia. *Anesth Analg* 108:1331-1337.
55. Andrew J. Page, David A. Kooby (2012) Perioperative management of hepatic resection *J Gastrointest Oncol* 3:19-27.
56. Katz SC, Shia J, Liau KH, Gonen M, Ruo L, Jarnagin WR, Fong Y, D'Angelica MI, Blumgart LH, Dematteo RP. (2009) Operative blood loss independently predicts recurrence and survival after resection of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 249(4):617-23.

57. Dionigi G, Boni L, Rovera F, Rausei S, Cuffari S, Cantone G, Bacuzzi A, Dionigi R. (2009) Effect of perioperative blood transfusion on clinical outcomes in hepatic surgery for cancer. *World J Gastroenterol* 28;15(32):3976-83.
58. Bracco D, Hemmerling T. (2007) Epidural analgesia in cardiac surgery: an updated risk assessment. *Heart Surg Forum* 10:E334-7.
59. Jaigirdar MJ, Ahmed S, Conlon N. (2011) Should limited term intraoperative epidural analgesia be used in patients undergoing hepatic resection? *Anesth Analg* 112:993-4; author reply 994.
60. Lundstrøm LH, Nygård E, Hviid LB, Pedersen FM, Ravn J, Aldershvile J, Rosenberg J. (2005) The effect of thoracic epidural analgesia on the occurrence of late postoperative hypoxemia in patients undergoing elective coronary bypass surgery: a randomized controlled trial. *Chest* 128:1564-70.
61. Svircevic V, Passier MM, Nierich AP, van Dijk D, Kalkman CJ, van der Heijden GJ. (2013) Epidural analgesia for cardiac surgery. *Cochrane Database Syst Rev.* 6;6:CD006715.
62. Page A, Rostad B, Staley CA, Levy JH, Park J, Goodman M, Sarmiento JM, Galloway J, Delman KA, Kooby DA. (2008) Epidural analgesia in hepatic resection. *J Am Coll Surg* 206:1184-92.
63. Andrew J. Page, David A. Kooby. (2012) Perioperative management of hepatic resection *J Gastrointest Oncol* 3:19-27.
64. Thompson HH, Tompkins RK, Longmire WP Jr. Major hepatic resection. (1983) A 25-year experience. *Ann Surg* 197:375-88.
65. Melendez JA1, Arslan V, Fischer ME, Wuest D, Jarnagin WR, Fong Y, Blumgart LH. (1998) Perioperative outcomes of major hepatic resections under low central venous pressure anesthesia: blood loss, blood transfusion, and the risk of postoperative renal dysfunction. *J Am Coll Surg* 187:620-5.
66. Cunningham JD, Fong Y, Shriver C, Melendez J, Marx WL, Blumgart, LH. (1994) One hundred consecutive hepatic resections. Blood loss, transfusion, and operative technique. *Arch Surg* 129:1050-6.
67. Rees M, Tekkis PP, Welsh FK, O'Rourke T, John TG. (2008) Evaluation of longterm survival after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: a multifactorial model of 929 patients. *Ann Surg* 247:125-35.

68. Chen H, Merchant NB, Didolkar MS. (2000) Hepatic resection using intermittent vascular inflow occlusion and low central venous pressure anesthesia improves morbidity and mortality. *J Gastrointest Surg* 4:162-7.
69. Weiskopf RB. (2001) Efficacy of acute normovolemic hemodilution assessed as a function of fraction of blood volume lost. *Anesthesiology* 94:439-46.
70. Weiskopf RB. (2002) Hemodilution and candles. *Anesthesiology* 97:773-5.
71. Jarnagin WR, Gonen M, Maithel SK, Fong Y, D'Angelica MI, Dematteo RP, Grant F, Wuest D, Kundu K, Blumgart LH, Fischer M. (2008) A prospective randomized trial of acute normovolemic hemodilution compared to standard intraoperative management in patients undergoing major hepatic resection. *Ann Surg* 248:360-9.
72. Matot I , Scheinin O, Jurim O, Eid A. (2002) Effectiveness of acute normovolemic hemodilution to minimize allogeneic blood transfusion in major liver resections. *Anesthesiology* 97:794-800.
73. Alkozai EM, Lisman T, Porte RJ (2009) Bleeding in liver surgery: prevention and treatment *Clin Liver Dis.* 13(1):145-54.
74. Delva E, Camus Y, Nordlinger B, Hannoun L, Parc R, Deriaz H, Lienhart A, Huguet C (1989) Vascular occlusion for liver resections: operative management and tolerance to hepatic ischemia in 142 cases. *Ann Surg* 209:211-218.
75. Huguet C, Gavelli A, Chieco PA, Bona S, Harb J, Joseph JM, Jobard J, Gramaglia M, Lasserre M. (1992) Liver ischemia for hepatic resection: where is the limit? *Surgery* 111:251-259.
76. Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. (2007) Methods of vascular occlusion for elective liver resections. *Cochrane Database Syst Rev* 17(4):CD006409
77. Elias D, Detroz B, Lasser P, Plaud B, Jerbi G (1995) Is simultaneous hepatectomy and intestinal anastomosis safe? *Am J Surg* 169:254-260.
78. Moore AF, Hargest R, Martin M, Delicata RJ (2004) Intra-abdominal hypertension and the abdominal compartment syndrome. *Br J Surg* 91:1102-1110.
79. Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S, Kakazu T. (1994) Changes in serum amylase level following hepatic resection in chronic liver disease. *Arch Surg* 129:634-638.

80. Miyagawa S, Makuuchi M, Kawasaki S, Kakazu T, Hayashi K, Kasai H. (1996) Serum amylase elevation following hepatic resection in patients with chronic liver disease. *Am J Surg* 171:235-238.
81. Emre S, Schwartz ME, Katz E, Miller CM. (1993) Liver resection under total vascular isolation: variations on a theme. *Ann Surg* 217:15-19.
82. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, Takayama T, Makuuchi M. (2003) One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Arch Surg* 138:1198-1206.discussion 1206
83. Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, Sauvanet A, Pierangeli F, Marty J, Farges O. (1999) Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study. *Ann Surg* 229:369-375.
84. Capussotti L, Nuzzo G, Polastri R, Giuliante F, Muratore A, Giovannini I (2003) Continuous versus intermittent portal triad clamping during hepatectomy in cirrhosis: results of a prospective, randomized clinical trial. *Hepatogastroenterology* 50:1073-1077.
85. Hardy KJ, Tancheroen S, Shulkes A. (1995) Comparison of continuous versus intermittent ischemia-reperfusion during liver resection in an experimental model. *Br J Surg* 82:833-836.
86. Man K, Fan ST, Ng IO, Lo CM, Liu CL, Wong J. (1997) Prospective evaluation of Pringle maneuver in hepatectomy for liver tumors by a randomized study. *Ann Surg* 226:704-713.
87. Man K, Fan ST, Ng IO, Lo CM, Liu CL, Wong J. (2006) Randomized clinical trial of hepatectomy using intermittent pedicle occlusion with ischaemic intervals of 15 versus 30 minutes. *Br J Surg* 93:944-951.
88. Sakamoto Y, Makuuchi M, Takayama T, Minagawa M, Kita Y. (1999) Pringle's maneuver lasting 322 min. *Hepatogastroenterology* 46:457-458.
89. Imamura H, Takayama T, Sugawara Y, Kokudo N, Aoki T, Kaneko J, Matsuyama Y, Sano K, Maema A, Makuuchi M. (2002) Pringle's manoeuvre in living donors. *Lancet* 360:2049-2050.
90. Imamura H, Kokudo N, Sugawara Y, Sano K, Kaneko J, Takayama T, Makuuchi M. (2004) Pringle's maneuver and selective inflow occlusion in living donor liver hepatectomy. *Liver Transpl* 10:771-778.

91. Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC (2000) Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 232:155-162.
92. Hardy KJ, McClure DN, Subwongcharoen S. (1996) Ischaemic preconditioning of the liver: a preliminary study. *Aust N Z J Surg* 66:707-710.
93. Clavien PA, Selzner M, Rüdiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, Jochum W (2003) A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg* 238:843-850.discussion 851-852
94. Choukèr A, Schachtner T, Schauer R, Dugas M, Löhe F, Martignoni A, Pollwein B, Niklas M, Rau HG, Jauch KW, Peter K, Thiel M. (2004) Effects of Pringle manoeuvre and ischaemic preconditioning on haemodynamic stability in patients undergoing elective hepatectomy: a randomized trial. *Br J Anaesth* 93:204-211.
95. Azoulay D, Lucidi V, Andreani P, Maggi U, Sebagh M, Ichai P, Lemoine A, Adam R, Castaing D. (2006) Ischemic preconditioning for major liver resection under vascular exclusion of the liver preserving the caval flow: a randomized prospective study. *J Am Coll Surg* 202:203-211.
96. Castaing D, Garden OJ, Bismuth H. (1989) Segmental liver resection using ultrasound-guided selective portal venous occlusion. *Ann Surg* 210:20-23.
97. Shimamura Y, Gunvén P, Takenaka Y, Shimizu H, Akimoto H, Shima Y, Arima K, Takahashi A, Kitaya T, Matsuyama T. (1986) Selective portal branch occlusion by balloon catheter during liver resection. *Surgery* 100:938-941.
98. Makuuchi M, Mori T, Gunvén P, Yamazaki S, Hasegawa H. (1987) Safety of hemihepatic vascular occlusion during resection of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 164:155-158.
99. Figueras J, Llado L, Ruiz D, Ramos E, Busquets J, Rafecas A, Torras J, Fabregat J. (2005) Complete versus selective portal triad clamping for minor liver resection: a prospective randomized trial. *Ann Surg* 241:582-590.
100. Belghiti J, Noun R, Zante E, Ballet T, Sauvanet A. (1996) Portal triad clamping or hepatic vascular exclusion for major liver resection: a controlled study. *Ann Surg* 224:155-161.
101. Chen XP, Zhang ZW, Zhang BX, Chen YF, Huang ZY, Zhang WG, He SQ, Qiu FZ. (2006) Modified technique of hepatic vascular exclusion: effect on blood loss during

- complex mesohepatectomy in hepatocellular carcinoma patients with cirrhosis. *Langenbecks Arch Surg* 391:209-215.
102. Smyrniotis VE, Kostopanagiotou GG, Gamaletsos EL, Vassiliou JG, Voros DC, Fotopoulos AC, Contis JC. (2002) Total versus selective hepatic vascular exclusion in major liver resections. *Am J Surg* 183:173-178.
 103. Cherqui D, Malassagne B, Colau PI, Brunetti F, Rotman N, Fagniez PL (1999) Hepatic vascular exclusion with preservation of the caval flow for liver resections. *Ann Surg* 230:24-30.
 104. Elias D, Lasser P, Debaene B, Doidy L, Billard V, Spencer A, Leclercq B (1995) Intermittent vascular exclusion of the liver (without vena cava clamping) during major hepatectomy. *Br J Surg* 82:1535-1539.
 105. Fortner JG, Shiu MH, Kinne DW, Kim DK, Castro EB, Watson RC, Howland WS, Beattie EJ Jr. (1974) Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. *Ann Surg* 180:644-652.
 106. Azoulay D, Eshkenazy R, Andreani P, Castaing D, Adam R, Ichai P, Naili S, Vinet E, Saliba F, Lemoine A, Gillon MC, Bismuth H.(2005) In situ hypothermic perfusion of the liver versus standard total vascular exclusion for complex liver resection. *Ann Surg* 24:277-285.
 107. Abdalla EK, Noun R, Belghiti J. (2004) Hepatic vascular occlusion: which technique?. *Surg Clin North Am* 84:563-585.
 108. Otsubo T, Takasaki K, Yamamoto M, Katsuragawa H, Katagiri S, Yoshitoshi K, Hamano M, Ariizumi S, Kotera Y. (2004) Bleeding during hepatectomy can be reduced by clamping the inferior vena cava below the liver. *Surgery* 135:67-73.
 109. Varma D, Ogata S, Belghiti J (2007) Isolated total caval clamping with “preserved remnant liver perfusion” for combined hepatic and venacaval resection in tumors involving vena cava. *Surgery* 141:112-116.
 110. Blumgart LH and Fong Y *Surgery of the Liver and the Biliary Tract*.W.B. Saunders Company LTD , 2012
 111. Delva E, Camus Y, Paugam C, Parc R, Huguet C, Lienhart A. (1987) Hemodynamic effects of portal triad clamping in humans. *Anesth Analg* 66:864-868.
 112. R.T.P. Poon: (2007) *Techniques of liver transection HPB (Oxford)*. 9(3): 166–173.

113. AG Heriot, ND Karanjia (2002) A review of techniques for liver resection *Ann R Coll Surg Engl* 84: 371-380.
114. Ueno S, Kubo F, Sakoda M, Hiwatashi K, Tateno T, Mataka Y, Maemura K, Shinchi H, Natsugoe S, Aikou T. (2008) Efficacy of anatomic resection vs non-anatomic resection for small nodular hepatocellular carcinoma based on gross classification. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 15:493-500.
115. Lin T. (1974) A simplified technique for hepatic resection. *Ann Surg* 180: 225-9.
116. Fan ST, Lai EC, Lo CM, Chu KM, Liu CL, Wong J. (1996) Hepatectomy with an ultrasonic dissector for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 83:117-120.
117. Takayama T1, Makuuchi M, Kubota K, Harihara Y, Hui AM, Sano K, Ijichi M, Hasegawa K.(2001) Randomized comparison of ultrasonic vs clamp transection of the liver. *Arch Surg* 136:922-928.
118. P.Schemmer, Helge Bruns, Jürgen Weitz, Jan Schmidt, and Markus W. Büchler (2008) Liver transection using vascular stapler: a review *HPB (Oxford)*. 10(4): 249–252.
119. Linden BC, Humar A, Sielaff TD, (2003) Laparoscopic stapled left lateral segment liver resection--technique and results. *J Gastrointest Surg*. (6):777-82.
120. Kianmanesh R, Ogata S, Paradis V, Sauvanet A, Belghiti J. (2008) Heat-zone effect after surface application of dissecting sealer on the “in situ margin” after tumorectomy for liver tumors. *J Am Coll Surg* 206:1122-1128.
121. Aloia TA, Zorzi D, Abdalla EK, Vauthey JN. (2005) Two-surgeon technique for hepatic parenchymal transection of the noncirrhotic liver using saline-linked cautery and ultrasonic dissection. *Ann Surg* 242:172-177.
122. Ayav A, Jiao L, Dickinson R, Nicholls J, Milicevic M, Pellicci R, Bachellier P, Habib N. (2008) Liver resection with a new multiprobe bipolar radiofrequency device. *Arch Surg* 143:396-401.
123. Kim J, Ahmad SA, Lowy AM, Buell JF, Pennington LJ, Soldano DA, James LE, Matthews JB, Hanto DW. (2003) Increased biliary fistulas after liver resection with the Harmonic Scalpel. *Am Surg* 69:815-819.
124. Lupo L, Gallerani A, Panzera P, Tandoi F, Di Palma G, Memeo V. (2007) Randomized clinical trial of radiofrequency-assisted versus clamp-crushing liver resection. *Br J Surg* 94:287-291.

125. Pamecha V, Gurusamy KS, Sharma D, Davidson BR (2009) Techniques for liver parenchymal transection: a meta-analysis of randomized controlled trials *HPB (Oxford)* 11(4): 275–281
126. Robert J. Aragon, Naveenraj L. Solomon (2012) Techniques of hepatic resection *J Gastrointest Oncol* 3(1): 28–40.
127. Lesurtel M, Selzner M, Petrowsky H, McCormack L, Clavien PA. (2005) How Should Transection of the Liver Be Performed?: A Prospective Randomized Study in 100 Consecutive Patients: Comparing Four Different Transection Strategies *Ann Surg* 242(6): 814–823
128. Castaldo ET, Earl TM, Chari RS, Gorden DL, Merchant NB, Wright JK, Feurer ID, Pinson CW. (2008) A clinical comparative analysis of crush/clamp, stapler, and dissecting sealer hepatic transection methods *HPB (Oxford)* 10(5): 321–326.
129. Delis S, Bakoyiannis A, Tassopoulos N, Athanassiou K, Papailiou J, Brountzos EN, Madariaga J, Papakostas P, Dervenis C. (2009) Clamp–crush technique vs. radiofrequency-assisted liver resection for primary and metastatic liver neoplasms *HPB (Oxford)* 11(4): 339–344.
130. Gurusamy KS, Pamecha V, Sharma D, Davidson BR. (2009) Techniques for liver parenchymal transection in liver resection. *Cochrane Database Syst Rev.* (1):
131. Rahbari NN, Koch M, Schmidt T, Motschall E, Bruckner T, Weidmann K, Mehrabi A, Büchler MW, Weitz J. (2009) Meta-analysis of the clamp-crushing technique for transection of the parenchyma in elective hepatic resection: back to where we started? *Ann Surg Oncol.* 16(3):630-9.
132. Madesh M, Hajnoczky G. (2001) VDAC-dependent permeabilization of the outer mitochondrial membrane by superoxide induces rapid and massive cytochrome c release. *J Cell Biol* 155:1003-1015.
133. Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA. (2008) Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury *J Surg Res.* 1; 147(1): 153–159.
134. Jaeschke H. (2003) Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 284:G15–26.

135. Cywes R, Packham MA, Tietze L, Sanabria JR, Harvey PR, Phillips MJ, Strasberg SM. (1993) Role of platelets in hepatic allograft preservation injury in the rat. *Hepatology* 18:635–47.
136. Clemens MG, Bauer M, Pannen BH, Bauer I, Zhang JX. (1997) Remodeling of hepatic microvascular responsiveness after ischemia/reperfusion. *Shock* 8:80–5.
137. Shiraishi M, Hiroyasu S, Nagahama M, Miyaguni T, Higa T, Tomori H, Okuhama Y, Kusano T, Muto Y. (1997) Role of exogenous L-arginine in hepatic ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 69:429–34.
138. Vodovotz Y, Kim PK, Bagci EZ, Ermentrout GB, Chow CC, Bahar I, Billiar TR. (2004) Inflammatory modulation of hepatocyte apoptosis by nitric oxide: in vivo, in vitro, and in silico studies. *Curr Mol Med* 4:753–62
139. Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. (2006) Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 26:1175-1186
140. Brock RW, Nie RG, Harris KA, Potter RF. (2001) Kupffer cellinitiated remote hepatic injury following bilateral hindlimb ischemia is complement dependent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280:G279-G284
141. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. (2004) The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock* 21:401–9.
142. Wullaert A, van Loo G, Heyninck K, Beyaert R. (2007) Hepatic TNF signaling and NF- κ B: effects on liver homeostasis and beyond. *Endocr Rev* 28(4):365-86.
143. Karin M. (2006) Nuclear factor- κ B in cancer development and progression. *Nature* 441:431–6.
144. Tsoulfas G, Geller DA. (2001) NF- κ B in transplantation: friend or foe? *Transpl Infect Dis* 3:212–9.
145. Baeuerle PA, Baltimore D. (1996) NF- κ B: ten years after. *Cell* 87:13–20.
146. Lemasters JJV. (1999) Necrapoptosis and the mitochondrial permeability transition: shared pathways to necrosis and apoptosis. *Am J Physiol* 276:G1–6.
147. Cursio R, Gugenheim J, Panaia-Ferrari P, Lasfar A, Tovey M, Chastanet S, Saint-Paul MC, Ferre C, Mouiel J. (1998) Improvement of normothermic rat liver ischemia/reperfusion by muramyl dipeptide. *J Surg Res* 80:339–44.

148. M.Mendes-Braz , M. Elias-Miró, M. B. Jiménez-Castro, A. Casillas-Ramírez, F. S. Ramalho and C. Peralta (2012) The Current state of knowledge of hepatic ischemia-reperfusion injury based on its study experimental models *J Biomed Biotechnol* 298657
149. Oe S, Hiros T, Fujii H, Yasuchika K, Nishio T, Imuro Y, Morimoto T, Nagao M, Yamaoka Y. (2001) Continuous intravenous infusion of deleted form of hepatocyte growth factor attenuates hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *J Hepatol* 34:832-839.
150. Sakakura Y, Kaibori M, Oda M, Okumura T, Kwon AH, Kamiyama Y. (2000) Recombinant human hepatocyte growth factor protects the liver against hepatic ischemia and reperfusion injury in rats. *J Surg Res* 92:261-266.
151. Jaeschke H. Mechanisms of Liver Injury. II. (2006) Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:G1083-G1088.
152. Tsuchihashi S, Ke B, Kaldas F, Flynn E, Busuttill RW, Briscoe DM. (2006) Vascular endothelial growth factor antagonist modulates leukocyte trafficking and protects mouse livers against ischemia/reperfusion injury. *Am J Pathol* 168:695-705.
153. Kato A, Gabay C, Okaya T, Lentsch AB. (2002) Specific role of interleukin-1 in hepatic neutrophil recruitment after ischemia/reperfusion. *Am J Pathol* 161:1797-1803.
154. Hanschen M, Zahler S, Krombach F, Khandoga A. (2008) Reciprocal activation between CD4⁺ T cells and Kupffer cells during hepatic ischemia-reperfusion. *Transplantation* 86:710-718.
155. Taniai H, Hines IN, Bharwani S, Maloney RE, Nimura Y, Gao B (2004) Susceptibility of murine periportal hepatocytes to hypoxia-reoxygenation: role for NO and Kupffer cell-derived oxidants. *Hepatology* 39:1544-1552.
156. Welborn MB III, Moldawer LL, Seeger JM, Minter RM, Huber TS. (2003) Role of endogenous interleukin-10 in local and distant organ injury after visceral ischemia-reperfusion. *Shock* 20:35-40
157. Kuboki S, Sakai N, Tschop J, Edwards MJ, Lentsch AB, Caldwell CC. (2009) Distinct contributions of CD4⁺ T cell subsets in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 296:G1054-G1059.

158. Lappas CM, Day YJ, Marshall MA, Engelhard VH, Linden J. (2006) Adenosine A2A receptor activation reduces hepatic ischemia reperfusion injury by inhibiting CD11dependent NKT cell activation. *J Exp Med* 203:2639-2648.
159. Izuishi K, Tsung A, Jeyabalan G, Critchlow ND, Li J, Tracey KJ. (2006) Cutting edge: high-mobility group box 1 preconditioning protects against liver ischemia-reperfusion injury. *J Immunol* 176:7154-7158.
160. Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT. (2005) The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 201:1135-1143.
161. Pelinka LE, Harada N, Szalay L, Jafarmadar M, Redl H, Bahrami S. (2004) Release of S100B differs during ischemia and reperfusion of the liver, the gut, and the kidney in rats. *Shock* 21:72-76.
162. Zhang J, Wang H, Xiao Q, Liang H, Li Z, Jiang C. (2009) Hyaluronic acid fragments evoke Kupffer cells via TLR4 signaling pathway. *Sci China C Life Sci* 52:147-154.
163. Pardo M, Budick-Harmelin N, Tirosh B, Tirosh O. (2008) Antioxidant defense in hepatic ischemia-reperfusion injury is regulated by damage-associated molecular pattern signal molecules. *Free Radic Biol Med* 45:1073-1083.
164. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Granger DN, Taylor SM. (2004) The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock* 21:401-409.
165. Fondevila C, Shen XD, Tsuchihashi S, Uchida Y, FreitasMC, Ke B. (2008) The membrane attack complex (C5b-9) in liver cold ischemia and reperfusion injury. *Liver Transpl* 14:1133-1141.
166. Woodruff TM, Arumugam TV, Shiels IA, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. (2004) Protective effects of a potent C5a receptor antagonist on experimental acute limb ischemiareperfusion in rats. *J Surg Res* 116:81-90.
167. Inderbitzin D, Beldi G, Avital I, Vinci G, Candinas D. (2004) Local and remote ischemia-reperfusion injury is mitigated in mice overexpressing human C1 inhibitor. *Eur Surg Res* 36:142-147.
168. Peralta C, Fernandez L, Panes J, Prats N, Sans M, Pique JM. (2001) Preconditioning protects against systemic disorders associated with hepatic ischemia-reperfusion through

- blockade of tumor necrosis factor-induced P-selectin up-regulation in the rat. *Hepatology* 33:100-113.
169. Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. I. (2006) TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290:G583-G589.
 170. Katsargyris A, Klonaris C, Alexandrou A, Giakoustidis AE, Vasileiou I, Theocharis S. (2009) Toll-like receptors in liver ischemia reperfusion injury: a novel target for therapeutic modulation? *Expert Opin Ther Targets* 13:427-442.
 171. Liu S, Salyapongse AN, Geller DA, Vodovotz Y, Billiar TR. (2000) Hepatocyte Toll-like receptor 2 expression in vivo and in vitro: role of cytokines in induction of rat TLR2 gene expression by lipopolysaccharide. *Shock* 14: 361-5.
 172. Zhai Y, Shen XD, O'Connell R. (2005) Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia-reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J. Immunol* 173: 7115-9.
 173. Zeng S, Feirt N, Goldstein M, Guarrera J, Ippagunta N, Ekong U. (2004) Blockade of receptor for advanced glycation end product (RAGE) attenuates ischemia and reperfusion injury to the liver in mice. *Hepatology* 39:422-432.
 174. Zeng S, Dun H, Ippagunta N, Rosario R, Zhang QY (2009) Lefkowitz J. Receptor for advanced glycation end product (RAGE)-dependent modulation of early growth response-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Hepatol* 50:929-936.
 175. Abu-Amara M, Yang SY, Tapuria N, Fuller B, Davidson B, Seifalian A. (2010) Liver Ischemia/Reperfusion Injury: Processes in Inflammatory Networks—A Review. *Liver Transpl.* 16:1016-1032
 176. Andrukhiv A, Costa AD, West IC, Garlid KD. (2006) Opening mitoKATP increases superoxide generation from complex I of the electron transport chain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291:H2067-H2074.
 177. Jaeschke H. (2003) Role of reactive oxygen species in hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *J Invest Surg* 16:127-140.
 178. Urakami H, Abe Y, Grisham MB. (2007) Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in partial liver transplantation: lessons learned from reduced-size liver ischemia and reperfusion injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34:912-919.

179. Bryan NS, Grisham MB. (2007) Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radic Biol Med* 43:645-657.
180. Abe Y, Hines I, Zibari G, Grisham MB. (2009) Hepatocellular protection by nitric oxide or nitrite in ischemia and reperfusion 484(2):232-7.
181. Zhao K, Zhao GM, Wu D, Soong Y, Birk AV, Schiller PW. (2004) Cell-permeable peptide antioxidants targeted to inner mitochondrial membrane inhibit mitochondrial swelling, oxidative cell death, and reperfusion injury. *J Biol Chem* 279:34682-34690.
182. Matsui N, Satsuki I, Morita Y, Inaizumi K, Kasajima K, Kanoh R. (2000) Xanthine oxidase-derived reactive oxygen species activate nuclear factor kappa B during hepatic ischemia in rats. *Jpn J Pharmacol* 84:363-366.
183. Sanlioglu S, Williams CM, Samavati L, Butler NS, Wang G, McCray PB Jr. (2001) Lipopolysaccharide induces Rac1-dependent reactive oxygen species formation and coordinates tumor necrosis factor-alpha secretion through IKK regulation of NF-kappa B. *J Biol Chem* 276:30188-30198.
184. McCord, J. M., Fridovich, I. Superoxide dismutase. (1969) An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*. 244(22):6049-55
185. Marubayashi, S., Dohi, K., Kawasaki, T. (1994) Role of free radicals in hepatic reperfusion injury. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 723:368-370
186. Marubayashi, S., Dohi, K., Ezaki, H., Hayashi, K., Kawasaki, T. (1982) Preservation of ischemic rat liver mitochondrial functions and liver viability with CoQ10. *Surgery* 91:631-637
187. Marubayashi, S., Dohi, K., Yamada, K., Kawasaki, T. (1984) Changes in the levels of endogenous coenzyme Q homologs, alpha-tocopherol, and glutathione in rat liver after hepatic ischemia and reperfusion, and the effect of pretreatment with coenzyme Q10. *Biochim. Biophys. Acta* 797:1-9
188. Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran, M. (1990) Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*. 186:343-55
189. Jaeschke H, Lemasters JJ. (2003) Apoptosis versus oncotic necrosis in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Gastroenterology* 125:1246-1257.
190. Zorov DB, Juhaszova M, Yaniv Y, Nuss HB, Wang S, Sollott SJ. (2009) Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 83:213-225.

191. Jiang N, Zhang ZM, Liu L, Zhang C, Zhang YL, Zhang ZC. (2006) Effects of Ca²⁺ channel blockers on store-operated Ca²⁺ channel currents of Kupffer cells after hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol* 12:4694-4698.
192. Lopez-Neblina F, Toledo-Pereyra LH, Toledo AH, Walsh J. (2007) Ryanodine receptor antagonism protects the ischemic liver and modulates TNF-alpha and IL-10. *J Surg Res* 140:121-128.
193. Wang D, Dou K, Song Z, Liu Z. (2003) The Na⁺/H⁺ exchange inhibitor: a new therapeutic approach for hepatic ischemia injury in rats. *Transplant Proc* 35:3134-3135.
194. Vairetti M, Richelmi P, Berte F, Currin RT, Lemasters JJ, Imberti R. (2006) Role of pH in protection by low sodium against hypoxic injury in isolated perfused rat livers. *J Hepatol* 44:894-901.
195. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Bagnati M, Bellomo G, Albano E. (2000) Alterations of Na⁺ homeostasis in hepatocyte reoxygenation injury. *Biochim Biophys Acta* 1500:297-305.
196. Trump, B. F., Goldblatt, P. J., Stowell, R. E. (1965) Studies of necrosis in vitro of mouse hepatic parenchymal cells. Ultrastructural and cytochemical alterations of cytosomes, cytosegresomes, multivesicular bodies, and microbodies and their relation to the lysosome concept. *Laboratory Investigation*. 14(11):1946-68
197. Lemasters, J. J., DiGuseppi, J., Nieminen, A. L., Herman, B. (1987) Blebbing, free Ca²⁺ and mitochondrial membrane potential preceding cell death in hepatocytes. *Nature*. 325(6099):78-81,-7
198. Elmore SP, Qian T, Grissom SF, Lemasters JJ. (2001) The mitochondrial permeability transition initiates autophagy in rat hepatocytes. *FASEB J* 15:2286-2287
199. Kim I, Rodriguez-Enriquez S, Lemasters JJ. (2007) Selective degradation of mitochondria by mitophagy. *Arch Biochem Biophys* 462:245-253.
200. Kim JS, Qian T, Lemasters JJ. (2003) Mitochondrial permeability transition in the switch from necrotic to apoptotic cell death in ischemic rat hepatocytes. *Gastroenterology* 124:494-503.
201. Hausenloy DJ, Yellon DM. (2009) Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Atherosclerosis* 204: 334-341

202. Carini R, Albano E. (2003) Recent insights on the mechanisms of liver preconditioning. *Gastroenterology* 125: 1480-1491.
203. Wang, G. L., Jiang, B. H., Semenza, G. L. (1995) Effect of altered redox states on expression and DNA-binding activity of hypoxia-inducible factor 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 212:550-556
204. Wang, G. L., Semenza, G. L. (1996) Molecular basis of hypoxia-induced erythropoietin expression. *Curr. Opin. Hematol.* 3:156-162
205. Tacchini, L., Radice, L., Bernelli-Zazzera, A. (1999) Differential activation of some transcription factors during rat liver ischemia, reperfusion, and heat shock. *J. Cell Physiol* 180:255-262
206. Bandyopadhyay, R. S., Phelan, M., Faller, D. V. (1995) Hypoxia induces AP-1-regulated genes and AP-1 transcription factor binding in human endothelial and other cell types. *Biochim. Biophys. Acta* 1264:72-78
207. Semenza GL. (2001) Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology. *Trends Mol Med* 7:345-350
208. Bowie A, O'Neill LA. (2000) Oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation: a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. *Biochem Pharmacol* 59:13–23.
209. Bilzer M, Gerbes AL. (2000) Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies. *J Hepatol* 32:508–15.
210. Wheeler MD, Yamashina S, Froh M. (2001) Adenoviral gene delivery can inactivate Kupffer cells: role of oxidants in NF-kappaB activation and cytokine production. *J Leukoc Biol* 69:622–30.
211. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T. (1999) Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 162:3749–52.
212. O'Neill LA, Dinarello CA. (2000) The IL-1 receptor/toll-like receptor superfamily: crucial receptors for inflammation and host defense. *Immunol Today* 21:206–9.
213. Zhang FX, Kirschning CJ, Mancinelli R. (1999) Bacterial lipopolysaccharide activates nuclear factor-kappaB through interleukin-1 signaling mediators in cultured human dermal endothelial cells and mononuclear phagocytes. *J Biol Chem* 274:7611–14.

214. Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG. (1998) NF-kappaB antiapoptosis:induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science* 281:1680–3.
215. Lee R, Collins T. (2001) Nuclear factor-kappaB and cell survival:IAPs call for support. *Circ Res* 88:262–4.
216. Takeuchi D, Yoshidome H, Kurosawa H, Kimura F, Shimizu H, Ohtsuka M. (2010) Interleukin-18 exacerbates pulmonary injury after hepatic ischemia/reperfusion in mice. *J Surg Res* 158:87-93.
217. Goto M, Takei Y, Kawano S. (1992) Tumor necrosis factor and endotoxin in the pathogenesis of liver and pulmonary injuries after orthotopic liver transplantation in the rat. *Hepatology* 16:487–493.
218. Lemasters, J.J. Hypoxic, ischemic and reperfusion injury to liver. In: I.M. Arias, J.L. Boyer, FV Chisari. *The Liver biology and pathology*, 4th Ed., Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 257-79. ISBN 0-7817-2390-6
219. Massip-Salcedo M, Roselló-Catafau J, Prieto J, Avila MA, Peralta C. (2007) The response of the hepatocyte to ischemia. *Liver Int.* 27(1):6-16.
220. Gonzalez-Flecha B, Cutrin JC, Boveris A. (1993) Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion. *J Clin Invest* 91: 456–64
221. Chien KR, Abrams J, Pfau RG, Farber JL. (1977) Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death. *Am J Pathol* 88: 539–58.
222. Fernandez L, Heredia N, Grande L. (2002) Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase. *Hepatology* 36:562–72.
223. Klar E, Angelescu M, Zapletal C, Kraus T, Bredt M, Herfarth C. (1998) Definition of maximum cold ischemia time without reduction of graft quality in clinical liver transplantation. *Transplant Proc* 30: 3683–5.
224. Fernandez L, Heredia N, Peralta C. (2003) Role of ischemic preconditioning and the portosystemic shunt in the prevention of liver and lung damage after rat liver transplantation. *Transplantation* 76: 282–9.

225. Caldwell-Kenkel JC, Currin RT, Tanaka Y, Thurman RG, Lemasters JJ. (1989) Reperfusion injury to endothelial cells following cold ischemic storage of rat livers. *Hepatology* 10: 292–9
226. Jaeschke H. (1996) Preservation injury: mechanisms, prevention and consequences. Review. *J Hepatol* 25: 774–80.
227. Cywes R, Greig PD, Sanabria JR. (1992) Effect of intraportal glucose infusion on hepatic glycogen content and degradation, and outcome of liver transplantation. *Ann Surg* 216: 235–46.
228. Morgan GR, Sanabria JR, Clavien PA. (1991) Correlation of donor nutritional status with sinusoidal lining cell viability and liver function in the rat. *Transplantation* 51:1176–83.
229. Domenicali M, Vendemiale G, Serviddio G. (2005) Oxidative injury in rat fatty liver exposed to ischemia-reperfusion is modulated by nutritional status. *Dig Liver Dis* 37:689–97.
230. Caraceni P, Nardo B, Domenicali M. (1999) Ischemia reperfusion injury in rat fatty liver: role of nutritional status. *Hepatology* 29: 1139–46.
231. Stadler M, Nuyens V, Seidel L, Albert A, Boogaerts JG. (2005) Effect of nutritional status on oxidative stress in an ex vivo perfused rat liver. *Anesthesiology* 103: 978–86.
232. Skulachev VP. (1998) Cytochrome c in the apoptotic and antioxidant cascades. Review *FEBS Lett* 423: 275–80.
233. Gasbarrini A, Pasini P, Nardo B. (1998) Chemiluminescent real time imaging of post-ischemic oxygen free radicals formation in livers isolated from young and old rats. *Free Radic BiolMed* 24: 211–6.
234. Gasbarrini A, Simoncini M, Di Campli C. (1998) Ageing affects anoxia/reoxygenation injury in rat hepatocytes. *Scand J Gastroenterol* 33: 1107–12.
235. Wang XH, Wang K, Zhang F. (2005) Heme oxygenase-1 alleviates ischemia/reperfusion injury in aged liver. *World J Gastroenterol* 11: 690–4.
236. Okaya T, Blanchard J, Schuster R. (2005) Age-dependent responses to hepatic ischemia/reperfusion injury. *Shock* 24: 421–7.
237. Teramoto K, Bowers JL, Kruskal JB, Clouse ME. (1993) Hepatic microcirculatory changes after reperfusion in fatty and normal liver transplantation in the rat. *Transplantation* 56: 1076–82.

238. Hakamada K, Sasaki M, Takahashi K, Umehara Y, Konno M. (1997) Sinusoidal flow block after warm ischemia in rats with diet-induced fatty liver. *J Surg Res* 70: 12–20.
239. Ijaz S, Yang W, Winslet MC, Seifalian AM. (2003) Impairment of hepatic microcirculation in fatty liver. *Review. Microcirculation* 10: 447–556.
240. Koneru B, Fisher A, He Y. (2005) Ischemic preconditioning in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized clinical trial of safety and efficacy. *Liver Transplant* 11: 196–202.
241. Soltys K, Dikdan G, Koneru B. (2001) Oxidative stress in fatty livers of obese Zucker rats: rapid amelioration and improved tolerance to warm ischemia with tocopherol. *Hepatology* 34: 13–8
242. Nardo B, Caraceni P, Pasini P. (2001) Increased generation of reactive oxygen species in isolated rat fatty liver during postischemic reoxygenation. *Transplantation* 71: 1816–20.
243. Caraceni P, Domenicali M, Vendemiale G. (2005) The reduced tolerance of rat fatty liver to ischemia reperfusion is associated with mitochondrial oxidative injury. *J Surg Res* 124: 160–8.
244. Selzner M, Rudiger HA, Sindram D, Madden J, Clavien PA. (2000) Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology* 32(6): 1280–8.
245. Serafin A, Rosello-Catafau J, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Peralta C. (2002) Ischemic preconditioning increases the tolerance of fatty liver to hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Am J Pathol* 161: 587–01.
246. Yamada S, Iida T, Tabata T. (2000) Alcoholic fatty liver differentially induces a neutrophil-chemokine and hepatic necrosis after ischemia-reperfusion in rat. *Hepatology* 32: 278–88.
247. Serafin A, Fernandez-Zabalegui L, Prats N, Wu ZY, Rosello-Catafau J, Peralta C. (2004) Ischemic preconditioning: tolerance to hepatic ischemia-reperfusion injury. *Review. Histol Histopathol* 19: 281–9.
248. Cutrin JC, Perrelli MG, Cavalieri B, Peralta C, Rosello-Catafau J, Poli G. (2002) Microvascular dysfunction induced by reperfusion injury and protective effect of ischemic preconditioning. *Review Free Radic Biol Med* 33: 1200–8.

249. Yin DP, Sankary HN, Chong AS, Ma LL, Shen J, Foster P, Williams JW. (1998) Protective effect of ischemic preconditioning on liver preservation-reperfusion injury in rats. *Transplantation* 66: 152-157
250. Schauer RJ, Gerbes AL, Vonier D, Op Den Winkel M, Fraunberger P, Bilzer M. (2003) Induction of cellular resistance against Kupffer cell-derived oxidant stress: a novel concept of hepatoprotection by ischemic preconditioning. *Hepatology* 37: 286–95.
251. Ralevic V, Burnstock G. (1998) Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev* 50:413–492.
252. Peralta C, Bartrons R, Serafin A. (2001) Adenosine monophosphate-activated protein kinase mediates the protective effects of ischemic preconditioning on hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Hepatology* 34:1164–73.
253. Peralta C, Bartrons R, Riera L. (2000) Hepatic preconditioning preserves energy metabolism during sustained ischemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G163–71.
254. Kume M, Yamamoto Y, Saad S. (1996) Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 128:251–8.
255. Yamagami K, Yamamoto Y, Toyokuni S, Hata K, Yamaoka Y. (2002) Heat shock preconditioning reduces the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy-2-nonenal modified proteins in ischemia-reperfused liver of rats. *Free Radic Res* 36: 169–76.
256. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Bagnati M, Albano E. (2000) Ischemic preconditioning reduces Na(+) accumulation and cell killing in isolated rat hepatocytes exposed to hypoxia. *Hepatology* 31: 166-172
257. Carini R, De Cesaris MG, Splendore R, Vay D, Domenicotti C, Nitti MP, Paola D, Pronzato MA, Albano E. (2001) Signal pathway involved in the development of hypoxic preconditioning in rat hepatocytes. *Hepatology* 33: 131-139
258. Carini R, Grazia De Cesaris M, Splendore R, Domenicotti C, Nitti MP, Pronzato MA, Albano E. (2003) Signal pathway responsible for hepatocyte preconditioning by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 34: 1047-1055

259. Nichols, C. G., Ripoll, C., and Lederer, W. J. (1991) ATP-sensitive potassium channel modulation of the guinea pig ventricular action potential and contraction. *Circulation Research*. 68(1):280-7
260. Sanada, S., Kitakaze, M., Asanuma, H., Harada, K., Ogita, H., Node, K., Takashima, S., Sakata, Y., Asakura, M., Shinozaki, Y., Mori, H., Kuzuya, T., and Hori, M. (2001) Role of mitochondrial and sarcolemmal K(ATP) channels in ischemic preconditioning of the canine heart. *American Journal of Physiology - Heart & Circulatory Physiology*. 280(1):H256-63
261. Franco-Gou R, Rosello-Catafau J, Casillas-Ramirez A. (2006) How ischaemic preconditioning protects small liver grafts. *J Pathol* 208: 62–73.
262. Ono K, Han J. (2000) The p38 signal transduction pathway: activation and function Review. *Cell Signal* 12: 1–13.
263. Peralta C, Prats N, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J. (1999) Protective effect of liver ischemic preconditioning on liver and lung injury induced by hepatic ischemia-reperfusion in the rat. *Hepatology* 30: 1481–9.
264. Peralta, C., Closa, D., Hotter, G., Gelpi, E., Prats, N., and Rosello-Catafau, J. (1996) Liver ischemic preconditioning is mediated by the inhibitory action of nitric oxide on endothelin. *Biochemical & Biophysical Research Communications*. 229(1):264-70
265. Koti, R. S., Seifalian, A. M., McBride, A. G., Yang, W., and Davidson, B. R. (2002) The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver. *FASEB J* 16:1654-1656
266. Carini R, Grazia De Cesaris M, Splendore R, Baldanzi G, Nitti MP, Alchera E, Filigheddu N, Domenicotti C, Pronzato MA, Graziani A, Albano E. (2004) Role of phosphatidylinositol 3-kinase in the development of hepatocyte preconditioning. *Gastroenterology* 127: 914-923
267. Moncada S, Erusalimsky JD. (2002) Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 214-220
268. Yang, J., Liu, X., Bhalla, K., Kim, C. N., Ibrado, A. M., Cai, J., Peng, T. I., Jones, D. P., and Wang, X. (1997) Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science*. 275(5303):1129-32

269. Yadav, S. S., Sindram, D., Perry, D. K., and Clavien, P. A. (1999) Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology*. 30(5):1223-31
270. Kim, Y. M., Talanian, R. V., Billiar, T. R. (1997) Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. *Journal of Biological Chemistry*. 272(49):31138-48
271. Kim, Y. M., de Vera, M. E., Watkins, S. C., Billiar, T. R. (1997) Nitric oxide protects cultured rat hepatocytes from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis by inducing heat shock protein 70 expression. *Journal of Biological Chemistry*. 272(2):1402-11
272. Van Winkle, D. M., Chien, G. L., Davis, R. F. (1994) Myocardial ischemic preconditioning. *Advances in Pharmacology*. 31:99-108
273. Terajima, H., Enders, G., Thiaener, A., Hammer, C., Kondo, T., Thiery, J., Yamamoto, Y., Yamaoka, Y., Messmer, K. (2000) Impact of hyperthermic preconditioning on postischemic hepatic microcirculatory disturbances in an isolated perfusion model of the rat liver. *Hepatology*. 31(2):407-15
274. Hausenloy DJ, Yellon DM. (2009) Preconditioning and postconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Atherosclerosis* 204: 334-341
275. Baeuerle PA, Henkel T. (1994) Function and activation of NFkappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 12: 141-179.
276. Teoh N, Dela Pena A, Farrell G. (2002) Hepatic ischemic preconditioning in mice is associated with activation of NF-kappaB, p38 kinase, and cell cycle entry. *Hepatology* 36: 94-102
277. Funaki H, Shimizu K, Harada S, Tsuyama H, Fushida S, Tani T, Miwa K. (2002) Essential role for nuclear factor kappaB in ischemic preconditioning for ischemia-reperfusion injury of the mouse liver. *Transplantation* 74: 551-556
278. Alchera E, Tacchini L, Imarisio C, Dal Ponte C, De Ponti C, Gammella E, Cairo G, Albano E, Carini R. (2008) Adenosine-dependent activation of hypoxia-inducible factor-1 induces late preconditioning in liver cells. *Hepatology* 48: 230-239
279. Amador A, Grande L, Martí J, Deulofeu R, Miquel R, Solá A, Rodríguez-Laiz G, Ferrer J, Fondevila C, Charco R, Fuster J, Hotter G, García-Valdecasas JC. (2007) Ischemic pre-

- conditioning in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized clinical trial. *Am J Transplant* 7: 2180-2189
280. Déry MA, Michaud MD, Richard DE. (2005) Hypoxia-inducible factor 1: regulation by hypoxic and non-hypoxic activators. *Int J Biochem Cell Biol* 37: 535-540
281. Pagé EL, Robitaille GA, Pouysségur J, Richard DE. (2002) Induction of hypoxia-inducible factor-1alpha by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem* 277: 48403-48409
282. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. (2003) Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H579-H588
283. Kaur S, Jaggi AS, Singh N. (2009) Molecular aspects of ischaemic postconditioning. *Fundam Clin Pharmacol* 23: 521-536
284. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. (2006) Postconditioning: reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res* 70: 200-211
285. Santos CH, Pontes JC, Miji LN, Nakamura DI, Galhardo CA, Aguenta SM. (2010) Postconditioning effect in the hepatic ischemia and reperfusion in rats. *Acta Cir Bras* 25: 163-168
286. Zhang WX, Yin W, Zhang L, Wang LH, Bao L, Tuo HF, Zhou LF, Wang CC. (2009) Preconditioning and postconditioning reduce hepatic ischemia-reperfusion injury in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 8: 586-590
287. Wang N, Lu JG, He XL, Li N, Qiao Q, Yin JK, Ma QJ. (2009) Effects of ischemic postconditioning on reperfusion injury in rat liver grafts after orthotopic liver transplantation. *Hepatol Res* 39: 382-390
288. Li CM, Zhang XH, Ma XJ, Luo M. (2006) Limb ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J* 40: 312-317
289. Kristin Veighey and Raymond J. MacAllister (2012) Clinical Applications of Remote Ischemic Preconditioning *Cardiology Research and Practice* 620681
290. Lang JD Jr, Teng X, Chumley P, Crawford JH, Isbell TS, Chacko BK, Liu Y, Jhala N, Crowe DR, Smith AB, Cross RC, Frenette L, Kelley EE, Wilhite DW, Hall CR, Page GP, Fallon MB, Bynon JS, Eckhoff DE, Patel RP. (2007) Inhaled NO accelerates restoration of

- liver function in adults following orthotopic liver transplantation. *J Clin Invest* 117: 2583-2591
291. Beck-Schimmer B, Breitenstein S, Urech S, De Conno E, Wittlinger M, Puhan M, Jochum W, Spahn DR, Graf R, Clavien PA. (2008) A randomized controlled trial on pharmacological preconditioning in liver surgery using a volatile anesthetic. *Ann Surg* 248: 909-918
292. Vardanian AJ, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. (2008) Molecular mediators of liver ischemia and reperfusion injury: a brief review. *Mol Med* 14: 337-345
293. Abu-Amara M, Gurusamy KS, Hori S, Glantzounis G, Fuller B, Davidson BR. (2009) Pharmacological interventions versus no pharmacological intervention for ischemia reperfusion injury in liver resection surgery performed under vascular control. *Cochrane Database Syst Rev* CD007472
294. Glantzounis GK, Yang W, Koti RS, Mikhailidis DP, Seifalian AM, Davidson BR. (2004) Continuous infusion of N-acetylcysteine reduces liver warm ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 91: 1330-1339
295. Junnarkar SP, Tapuria N, Dutt N, Fuller B, Seifalian AM, Davidson BR. (2009) Bucillamine improves hepatic microcirculation and reduces hepatocellular injury after liver warm ischemia-reperfusion injury. *HPB (Oxford)* 11: 264-273
296. Weigand MA, Plachky J, Thies JC, Spies-Martin D, Otto G, Martin E, Bardenheuer HJ. (2001) N-acetylcysteine attenuates the increase in alpha-glutathione S-transferase and circulating ICAM-1 and VCAM-1 after reperfusion in humans undergoing liver transplantation. *Transplantation* 72: 694-698
297. Kurinchi S Gurusamy, Hector D Gonzalez, Brian R Davidson (2010) Current protective strategies in liver surgery *World J Gastroenterol* 16(48): 6098-6103
298. Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods.* 65(1-2):55-63
299. Hansen, M. B., Nielsen, S. E., and Berg, K. (1989) Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *Journal of Immunological Methods.* 119(2):203-10

300. Blazovics, A., Kovacs, A., Lugasi, A., Hagymasi, K., Biro, L., Feher, J. (1999) Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn disease and ulcerative colitis: a chemiluminescent study. *Clin. Chem.* 45:895-896
301. Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanase Journal of Nutrition* 44:307-315.
302. Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radicals. *Nature* 4617:1999-2000
303. Sedlak, J., Lindsay, R. H. (1968) Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 25:192-205

12. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

kongresszusi absztraktok és előadások mellőzésével

I. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények:

1. Hahn O, Blazovics A, Vali L, Kupcsulik PK. (2011) The effect of ischemic preconditioning on redox status during liver resections-randomized controlled trial
J Surg Oncol 104: 647–653.

IF: 2.100

2. Szijártó A, Hahn O, Lotz G, Schaff Zs, Madarász E, Kupcsulik P. (2006) Effect of ischemic preconditioning on rat liver microcirculation monitored with laser Doppler flowmetry
J Surg Res 131: 150-157.

IF: 2.038

II. Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények:

1. Hahn O, Szijártó A, Lotz G, Schaff Zs, Vigváry Z, Váli L, Kupcsulik P. (2007) The effect of ischemic preconditioning prior to intraoperative radiotherapy on ischemic and on reperfused rat liver J Surg Res 142: 32-44. (2007)

IF: 1.836

2. Szijarto A, Batmunkh E, Hahn O, Mihály Z, Kreiss A, Kiss A, Lotz G, Schaff Zs, Váli L, Blazovics A, Gero D, Szabó C, Kupcsulik P (2007) Effect of PJ-34-PARP inhibitor on rat liver microcirculation and antioxidant status. J Surg Res 142: 72-80.

IF: 1.836

3. Szijártó A, Hahn O, Batmunkh E, Stangl R, Kiss A, Lotz G, Schaff Z, Váli L, Blázovics A, Gero D, Szabó C, Kupcsulik P, Harsányi L. (2007) Short-term alanyl-glutamine dipeptide pretreatment in liver ischemia-reperfusion model: Effects on microcirculation and antioxidant status in rats. Clin Nutr 26: 640-648.

IF: 2.878

4. Váli L, Hahn O, Kupcsulik P, Drahos Á, Sárvári E, Szentmihályi K, Pallai ZS, Kurucz T, Sípos P, Blázovics A (2008) Oxidative stress with altered element content and decreased ATP level of erythrocytes in hepatocellular carcinoma and colorectal liver metastases Eur J Gastroen Hepat 20: pp. 393-398.

IF: 2.080

5. Lukovich P, Hahn O, Tarjanyi M. (2011) Single-port cholecystectomy through the lateral ring of the left inguinal hernia. Surg Innov 18:(3). NP1-NP3.

IF: 2.126

6. Hahn Oszkár, Dudás Ibolyka, Pajor Péter, Györke Tamás, Korom Csaba, Zsirka-Klein Attila, Kupcsulik Péter, Harsányi László (2013) ALPPS (Associated Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy) – gyorsabb, nagyobb májhypertrophia Magy Seb 66:(1) 21-26.
7. Hahn Oszkár, Kupcsulik Péter, Pajor Péter, Zsirka-Klein Attila, Dudás Ibolyka, Györke Tamás, Komáromi Krisztiánné Török Éva, Harsányi László (2013) Adaptációs mechanizmusok a gasztroenterológiában. Programozott májregeneráció MBA 66:(1) 28-34.
8. Harsányi László, Hahn Oszkár (2012) Epesebészet Magy Seb 65:(3) 150-153.

Megjelent, illetve elfogadott közlemények impakt faktora összesen: 14,894

13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek – Kupcsulik Péter Professor Úrnak, mindazoknak, akik munkámban támogattak, velem együtt dolgoztak, kutattak, az I.sz. Sebészeti Klinika minden dolgozójának és legfőképp családomnak, akik mindig és mindenben mellettem álltak.