

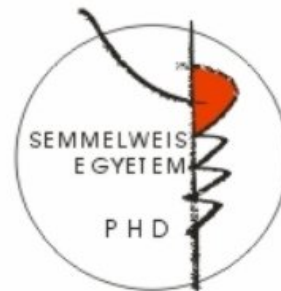
A vena portae okklúzió indukálta májregenerációt jellemző morfológiai és funkcionális változások vizsgálata

Doktori értekezés

Dr. Fülöp András

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Harsányi László Ph.D., egyetemi tanár

Konzulens: Dr. Szijártó Attila Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Németh Norbert Ph.D., egyetemi docens

Dr. Toronyi Éva Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Wéber György Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Lengyel Gabriella Ph.D., egyetemi docens

Dr. Furka Andrea Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest

2016

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	1
Rövidítések jegyzéke	3
1. Bevezetés	6
1.1. A máj daganatainak sebészete - májresectiók jelentősége	7
1.2. Hepatectomiát követő májelégtelenség	9
1.3. Májresectiók biztonságossá tétele - a hepatectomiát követő májelégtelenség megelőzése	12
1.3.1. Preoperatív kivizsgálás - májtérfogat és funkció mérés	12
1.3.2. Hepatectomiát követő májelégtelenség megelőzését célzó eljárások	15
1.4. Vena portae okklúzió - preoperatív májvolumen manipuláció	16
1.4.1. Történelmi áttekintés	16
1.4.2. Javallatok	17
1.4.3. Vena portae okklúziós technikák	18
1.5. Atrophia-hypertrophia komplex	21
1.5.1. Atrophia	22
1.5.2. Hypertrophia (májregeneráció).....	24
1.5.2.1. A májregeneráció molekuláris szabályozása	25
1.5.2.2. A májregeneráció "trigger" mechanizmusai - főbb hipotézisek	26
1.5.2.2.1. A funkcionáló májtérfogat elvesztése	26
1.5.2.2.2. "Blood flow" teória.....	27
1.5.2.2.3. Humorális teória.....	28
1.6. Nyitott kérdések	29
2. Célkitűzések	31
3. Anyagok és módszerek	33
3.1. Kísérleti elrendezés - Műtétechnika	33
3.1.1. Törvényi háttér	33
3.1.2. Állatok.....	33
3.1.3. Csoportbeosztás	33
3.1.4. A műtét ideje.....	35
3.1.5. Anesztézia	35
3.1.6. Hőmérséklet	36
3.1.7. A műtét menete	36
3.1.7.1. I. Kísérlet.....	36
3.1.7.2. II. Kísérlet	38
3.1.7.3. III. Kísérlet.....	38
3.2. Morfológiai változások vizsgálata	41
3.2.1. Májtömeg mérés - Regenerációs ráta számítás	41
3.2.2. Májszöveti nedvességtartalom	41
3.2.3. Szöveti változások vizsgálata.....	41
3.2.4. Lobulusok méretének meghatározása	42
3.3. Keringési változások vizsgálata	43

3.3.1. Artériás középnyomás.....	43
3.3.2. Portalis vénás nyomás.....	44
3.3.3. Máj mikrocirkuláció.....	44
3.4. Funkcionális változások vizsgálata.....	44
3.4.1. Konvencionális laboratóriumi vértesztek	44
3.4.2. ICG-clearance teszt.....	45
3.4.3. Epetermelés és biliaris ICG exkréció meghatározása.....	45
3.4.4. Glükóz metabolizmus vizsgálata (PET/MR)	46
3.5. Statisztika.....	47
4. Eredmények.....	48
4.1. I. Kísérlet eredményei - különböző mértékű (70-80-90%) ligatúra májregenerációra gyakorolt hatásának vizsgálata	48
4.1.1. Májlebenyek tömegváltozása - regenerációs ráta	48
4.1.2. Májlebenyek szövettani megjelenése - sejtosztódás	49
4.1.3. Portalis vénás nyomás.....	49
4.1.4. Lép tömegváltozás	50
4.2. II. Kísérlet - morfológiai változások részletes vizsgálata	51
4.2.1. A májlebenyek makroszkópos megjelenése - tömegváltozása	51
4.2.2. Májszöveti nedvességtartalom változása	52
4.2.3. A májlebenyek szöveti megjelenése	52
4.2.4. Lobulusok méretének változása.....	55
4.3. III. Kísérlet - keringési és funkcionális változások vizsgálata	56
4.3.1. Keringési változások.....	56
4.3.2. Konvencionális laboratórium vértesztek eredményei.....	57
4.3.3. ICG-clearance teszt - globális májfunkció változása.....	58
4.3.4. Epetermelés - szegmentális májfunkció változása.....	58
4.3.5. Biliaris ICG exkréció - szegmentális májfunkció változása.....	59
4.3.6. A máj tömegében és kiválasztó funkciójában bekövetkező változások összehasonlítása	62
4.4. III. Kísérlet - Glükóz metabolizmus vizsgálata (PET/MR).....	62
4.4.1. A májlebenyek térfogat változása - MR volumetria.....	62
4.4.2. A glükóz metabolizmus változása - FDG-PET.....	63
5. Megbeszélés.....	66
6. Következtetések.....	86
Új megállapítások.....	89
7. Összefoglalás	90
8. Summary	91
9. Irodalomjegyzék	92
10. Saját publikációk jegyzéke.....	109
11. Köszönetnyilvánítás.....	112

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ALAT	alanin-aminotranszferáz
ALPPS	associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy
ASAT	aszpartát-aminotranszferáz
ATP	adenozin-trifoszfát
BSA	body surface area (tesztfelszín)
BSP	bile salt export pump (epesó export pumpa)
CL	caudate lobes (caudalis májlebenyek)
C_{MAX}	maximális ICG koncentráció
CT	komputertomográfia
CYP	citokróm P450 enzimrendszer
EC	energy charge (energiatöltés)
EGF	epidermal growth factor (epidermalis növekedési faktor)
Egr-1	early growth response protein 1 (korai növekedési válasz fehérje 1)
FDG	2-deoxi-2-(¹⁸ F)fluoro-D-glükóz
FLR	future liver remnant (műtét után visszamaradó máj)
FLRV	future liver remnant volume (műtét után visszamaradó máj térfogata)
FXR	farnesoid X receptor
GSA	galaktozil szérum albumin
HABR	hepatic artery buffer response
HE	hematoxin-eozin
HGF	hepatocyte growth factor (hepatocytá növekedési faktor)
ICG	indocyanine green (indocianin zöld)
ICG_{EX}	ICG exkréciós ráta
IL-1b	interleukin-1b
IL-6	interleukin-6
INR	international normalized ratio (nemzetközi normalizált ráta)
LLL	left lateral liver lobe (bal lateralis májlebeny)
MELD	model for end-stage liver disease (végstádiumú májelégtelenség modellje)
ML	median liver lobes (középső májlebenyek)

MR	mágneses rezonancia
MRP	multidrug resistance-associated protein (multidrog rezisztencia-asszociált fehérje)
NF-Kb	nuclearis faktor-kappa B
NOS	nitrogén-oxid szintáz
OSTa	organic solute transporter-alpha
PAI-1	plasminogen activator inhibitor 1 (plazminogén aktivátor inhibitor 1)
PAS	perjódsav-Schiff
PBS	phosphate buffered saline (foszfátpuffer-oldat)
PDR	plasma disappearance rate (plazma eltűnési sebesség)
PET	pozitron emissziós tomográfia
PHLF	post hepatectomy liver failure (hepatectomiát követő májelégtelenség)
PVL	portal vein ligation (vena portae ligatúra)
R15	retenciós ráta
RLL	right lateral liver lobes (jobb lateralis májlebenyek)
RV	resected volume (resecálandó máj térfogata)
SD	standard deviáció
sFLR	standard future liver remnant (standard műtét után visszamaradó máj)
SFSS	small-for-size syndrome ("small-for-size" szindróma)
STAT-3	szignál transzducer és transzkripció aktivátor protein 3
SUV	standardized uptake value (standardizált felvételi értéket)
Tc	technécium
TELV	total estimated liver volume (becsült teljes májtérfogatot)
TGFa	transforming growth factor alpha (transzformáló növekedési faktor alfa)
TGFb	transforming growth factor beta (transzformáló növekedési faktor béta)
TLV	total liver volume (teljes májtérfogat)
T_{MAX}	maximális ICG koncentrációhoz tartozó idő
TNFa	tumor necrosis faktor alfa
ttkg	testtömeg kilogramm
TV	tumor volume (tumor térfogata)
VOI	volume of interest

A szerző a dolgozat megírása során a Fábián Pál, Magasi Péter szerkesztette Orvosi Helyesírási Szótár (Akadémiai Kiadó, 1991) ajánlásait követte: *"...az orvos olvasóknak szánt szövegekben latinosan írjuk a nemzetközileg is használt anatómia, kór-, élet- és szövettani neveket, műtétek, kórokozók neveit, betegségmegnevezéseket. Míg az orvos olvasóknak szánt szövegekben is magyarosan (fonetikusán) írjuk a tudományágak, szakterületek neveit, orvosi (technikai) eljárások, műszerek neveit, kémiai vegyületek, gyógyszerkészítmények neveit."* Azonban bizonyos esetekben stiláris szempontokat figyelembe véve a szerző a mára már elterjedt magyar szavakat, kifejezéseket használja az idegen szavak helyett eltérve a fenti irányelvektől.

1. BEVEZETÉS

A primer és szekunder malignus májdaganatok előfordulása világszerte növekvő tendenciát mutat. Prognózisuk korábban az intenzív orvosi erőfeszítések ellenére is szerénynek volt mondható. Az elmúlt évtizedben azonban a szűrési metodikák, képalkotó technikák, terápiás lehetőségek fejlődésének köszönhetően jelentős előrelépés következett be a májtumorerkezelésében. Érdekes módon az egyik legszembetűnőbb változás a daganatok sebészi terápiájában mutatkozott meg, melynek eredményeként mára a korai stádiumban diagnosztizált elváltozások esetén az első választandó kezeléssé a sebészi resectio, mint egyetlen valóban kuratív terápia vált.

Az utóbbi években a műtéti technikák, instrumentáció, szövetszételés és vérzéscsillapító eljárások modernizálásával a májresectiok széles palettája vált biztonságosan kivitelezhetővé, a nem anatómiai ékkimetszéstől az akár hat segmentumot magába foglaló kiterjesztett hepatectomiáig. E progresszív fejlődésnek köszönhetően mára a tumorok resecabilisának egyetlen előfeltétele, hogy a műtét után visszamaradó ép keringésű májvolumen képes legyen biztosítani a szervezet számára nélkülözhetetlen metabolikus, szintetikus, kiválasztó és detoxifikáló funkciókat. Sajnálatos módon azonban az esetek jelentős részében a nagyméretű tumorállomány olyan kiterjedt resectiot tesz szükségesé, ami után a visszamaradó májparenchyma mennyiségi elégtelensége a beavatkozás ellenjavallatát képezi. E probléma megoldására kínálnak lehetőséget a vena portae okklúziós technikák, melyek a portalis véráramlás redistribúciójával, a vénás vérellátástól megfosztott májlebens atrophiját, míg a túloldali májfél kompenzatórikus hypertrophiáját (májregeneráció) idézik elő, lehetővé téve kiterjedt daganatok egy második lépésben történő biztonságos eltávolítását.

A fenti eljárás mára széleskörben elterjedt a világ vezető májsebészeti centrumaiban. Magyarországon először 2001-ben a Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikáján alkalmazták vena portae leköttét a visszamaradó májparenchyma megnövesztése céljából, majd 2007 óta a módszer minimálisan invazív változata, a vena portae embolizáció is elérhető vált. Az I. sz. Sebészeti Klinika mára a major májresectiokat megelőzően alkalmazott vena portae okklúziós technikák tekintetében

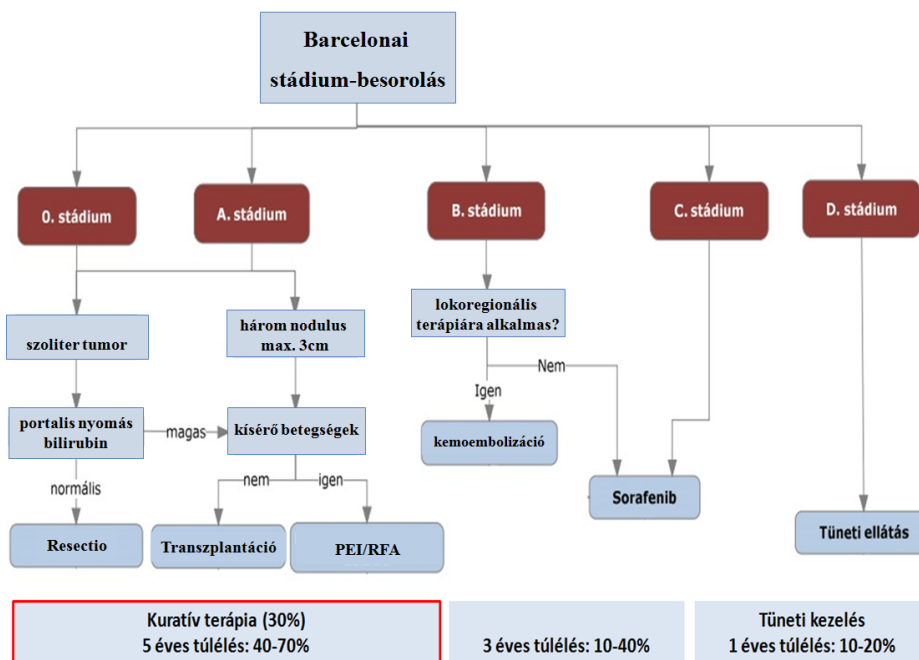
az országban messze a legnagyobb, nemzetközileg is jelentősnek mondható esetszámmal rendelkezik, indokolva a szerző témaválasztását.

Jelen bevezető fejezet célja a vena portae okklúziós technikák klinikai jelentőségének ismertetése, az indukált májregeneráció háttérfolyamatainak bemutatása, a módszerrel kapcsolatos, ma még tisztázatlan kérdések áttekintése.

1.1. A máj daganatainak sebészete - májresectiók jelentősége

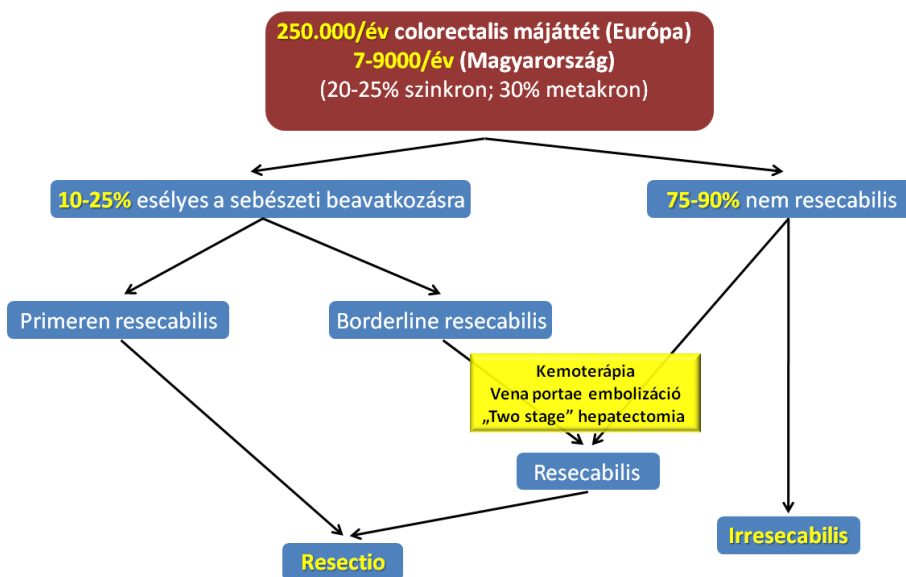
A primer és szekunder májdaganatok előfordulása világszerte növekvő tendenciát mutat. A máj elsődleges tumorainak közel 90%-a hepatocellularis carcinoma, ami a hatodik leggyakrabban diagnosztizált daganatos megbetegedés (közel 750.000 új eset évente, az összes rosszindulatú daganat közel 7%-a), míg a harmadik leggyakoribb halált okozó daganatfélése [1]. Magyarországon a májsejt-rák az összes tumoros megbetegedés közel 1-2%-át képezi, incidenciája 3-4/100.000 lakos évente. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a máj malignus elváltozásainak többsége másodlagos, leggyakrabban colorectalis daganat áttéteként jelentkezik. A colorectalis rákok előfordulása folyamatosan növekszik, Magyarországon mintegy 7-9000 új eset fordul elő évente [2]. A colorectalis tumorok 20-25%-a már a felfedezés időpontjában (szinkron), míg további 30%-a 2-3 éven belül (metakron) májmetasztázist képez. A májmetasztázis adó colorectalis daganatos betegek várható túlélését elsősorban a szekunder májmetasztázis progressziója határozza meg, ami kezelés nélkül kevesebb mint 1 év [3].

A májdaganatok kezelésében - legyen az primer vagy szekunder eredetű - a legeredményesebb terápia a tumoros májszövet sebészi eltávolítása (májresectio). A hepatocellularis carcinoma terápiás sémáját az Európai Májkutató Társaság (European Association for the Study of the Liver) által 2012-ben frissített Barcelona-kritériumok tartalmazzák (1. ábra) [1]. Ugyan a tanulmány még nem részletezi a legújabb sebészi intervenciók (úm. vena portae embolizáció, portalis nyomás befolyásolása, stb.) nyújtotta lehetőségeket, ugyanakkor hangsúlyozza, hogy jól megválasztott betegpopuláció esetén a sebészi terápiával érhető el a legjobb túlélés (5 éves túlélés 40-70%), ami így korai tumor stádiumban az első vonalbeli terápiának tekintendő.



1. ábra Frissített Barcelona-kritériumok, hepatocellularis carcinoma kezelési sémája.
(forrás: <http://site.oep.hu/prot2/29>)

Hasonlóképp, a colorectalis májjáttétek kezelésében ugyancsak a sebészi resectio nyújtja a legjobb túlélési eredményeket (átlagosan 58%-os 5 éves túlélés) [4]. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy sajnálatos módon a diagnózis felállításakor az elváltozások csupán egy viszonylag kis hányada (10-25%) bizonyul resecabilisnak (2. ábra) [5].



2. ábra Colorectalis májjáttétek kezelési sémája.

A daganat resectiojának „hagyományos” ellenjavallatát jelenti, ha négy vagy több tumorgóc van jelen, az elváltozás enormis kiterjedésű, vagy kétoldali, illetve extrahepaticus áttétképződés is kimutatható [6]. Az utóbbi időben végbement jelentős technikai fejlődésnek köszönhetően azonban a májdaganatok sebészi kezelésében paradigma váltás következett be, aminek eredményeként mára a resectio egyetlen előfeltétele (a technikai kivitelezhetőség mellett), hogy a műtét során megtartható-e az elégséges funkció fenntartásához szükséges, intakt keringéssel bíró májtérfogot.

A fentiek következtében napjainkra az onkológiai javallattal végzett májresectiók száma világszerte megsokszorozódott. Fontos azonban megjegyezni, hogy a kiterjedt tumorállomány következtében a daganatos betegek közel 45%-ában négy vagy annál több májsegmentum eltávolítását igénylő, úgynevezett major resectio szükséges az ép metszési szél eléréséhez. A major májresectiók mortalitási rátája ugyan csökkenő tendenciát mutat, azonban továbbra is megközelíti a 3-5%-os értéket egészséges májparenchyma mellett, míg a májszövetet érintő társbetegségek (úm. fibrosis, cirrhosis, kemoterápiához kapcsolódó steatohepatitis (CASH), sinusoidalis obstruktív szindróma (SOS)) jelenlétében jelentősen megemelkedő halálozási aránnyal is számolni lehet [7-9]. A posztoperatív mortalitás több mint 50%-ért a műtét után kialakuló, rapid lefolyású májelégtelenség (Post Hepatectomy Liver Failure - PHLF) tehető felelőssé [10]. Kialakulásával - a nagy tapasztalattal rendelkező májsebészeti centrumokban is - az esetek közel 8-10%-ban számolni lehet [11].

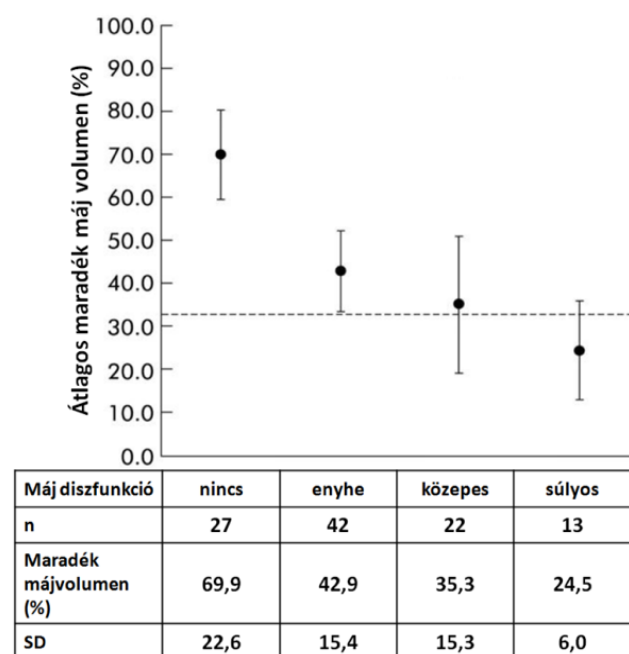
1.2. Hepatectomiát követő májelégtelenség

A hepatectomiát követő májelégtelenség pontos definícióját tekintve az irodalom nem egységes. A klinikai gyakorlatban számos kritériumrendszer használatos, melyek közül a legelterjedtebbek a következőkben olvashatók. (1) A „*fifty-fifty*” kritériumrendszer alapján PHLF feltételezhető, amennyiben az ötödik posztoperatív napon a protrombin idő a normálérték kevesebb, mint 50%-a, illetve a szérumbilirubin koncentráció meghaladja az 50 μ mol/l-t. E konstelláció mellett a morbiditás eléri a 100%-ot, míg a mortalitás meghaladja az 50%-ot [12]. (2) A klinikai gyakorlatban szintén elterjedt a Schindl és munkatársai által felállított kritériumrendszer, mely laboratóriumi eredmények abnormalitása (szérumbilirubin koncentráció, protrombin idő, laktát szint) és a klinikai tünetek súlyossága (encephalopathia) alapján állapítja meg

a posztoperatív májdiszfunkció meglétét, amennyiben a fent említett kórjelező paraméterek legalább két egymást követő napon fennállnak [13]. (3) A harmadik gyakran használt kritériumrendszer Dahm és munkatársai alkották meg, melynek alapján májelégtelenséggel kell számolni, amennyiben három egymást követő napon legalább kettő feltétel teljesül a következők közül: $100\mu\text{mol/l}$ -t meghaladó bilirubin koncentráció, nemzetközi normalizált ráta (INR) >2 , legalább harmad-negyed fokú encephalopathia [14].

Az általánosan elfogadott kritériumrendszer hiányát szem előtt tartva 2011-ben a Nemzetközi Májsebészeti Munkacsoport (International Study Group of Liver Surgery) megalkotta a PHLF-et jellemző konszenzus definíciót, amely a következőképpen hangzik: *“A PHLF a posztoperatív időszakban kialakult májkárosodás, mely eredményeként a máj által biztosított szintetikus, kiválasztó és méregtelenítő funkciók nem elláthatók, mely jellemzője az ötödik vagy későbbi posztoperatív napokon észlelt megnövekedett INR érték és hyperbilirubinaemia.”* [15].

A kórkép kialakulásában számos kockázati tényező szerepet játszik, úgymint a beteg általános állapota (kor, diabetes mellitus, obesitas), a májparenchyma minősége (cholestasis, cirrhosis, steatosis, kemoterápia okozta májkárosodás) és egyéb, a sebészi



3. ábra A maradék májvolumen (liver remnant) és a posztoperatív májelégtelenség közötti összefüggés. (forrás: Schindl MJ. et al: Gut 2005; 54(2):289–296.)

beavatkozással járó rizikófaktorok (vérvesztés, máj ischaemia, fertőzés, sepsis, portális hypertensio). Mint az a fenti felsorolásból is kiderül, a PHLF multifaktoriális kórkép. Ugyanakkor több tanulmány is igazolta, hogy a tünetek megjelenésében a műtét után visszamaradó (funkcionáló) májparenchyma mennyisége (Future Liver Remnant Volume, FLRV) erős független kockázati tényezőként szerepel (3. ábra) [13].

A máj lenyűgöző regeneratív képességgel rendelkezik, melynek révén a parenchyma jelentős mennyiségének eltávolítását követően is képes néhány hét alatt helyreállítani az eredeti funkcionáló májtömeget. Ugyanakkor egy kritikus határérték alatt a visszamaradt májmennyiség már képtelen biztosítani a szervezet számára nélkülözhetetlen funkciókat, a regeneráció folyamatában zavar támad és hypalbuminaemiával, hyper-bilirubinaemiával, coagulopathiával, ascitissel, encephalopathiával jellemezhető súlyos, gyakran a beteg életét is veszélyeztető májelégtelenség alakul ki. A jelenség kialakulásában a funkcionáló májtömeg elvesztése mellett a reziduális parenchyma csökkent vascularis kapacitása és a portalis, artériás véráramlás inkongruenciája is szerepet játszik. Major resectiot követően ugyanis a máj összesített érkeresztmetszete jelentősen lecsökken, megnövelve az áramlási rezisztenciát és így a portalis vénás nyomást [16,17]. Ez a fokozott nyomás direkt és indirekt módon károsíthatja a sinusoidalis endothel rendszert, szöveti bevérzést, gyulladást, szövetelhalást eredményezve [14]. A kórképet újabban a transzplantációs sebészetből átvett "*small-for-size*" szindrómaként (SFSS) is említi a szakirodalom (a patofiziológiai hátterét tekintve a "*small-for-flow*" elnevezés is elterjedt [18]). Tekintve, hogy a PHLF és a SFSS klinikai megnyilvánulása nagyon hasonló, továbbá hogy mindkét kórkép patomechanizmusában a funkcionáló májvolumen elégtelen mennyisége a meghatározó, ezért a két elnevezés gyakran szinonimaként jelenik meg [18].

Az irodalom a tekintetben nem egységes, hogy mennyi az a műtét után visszamaradó minimális parenchyma mennyiség, mely képes biztosítani az elegendő májműködést és így megelőzni a PHLF/SFSS kialakulását. A legtöbb májsebészeti centrum ajánlása alapján, egészséges májszövet mellett a minimálisan szükséges májvolumen a teljes májtérfogat 20-25%-a (tanulmányoktól függően 15-40%), ugyanakkor kísérőbetegségek fennállása esetén ez az érték akár a 40-50%-ot (tanulmányoktól függően 25-90%) is elérheti. Mindez felhívja a figyelmet a társbetegségek és a parenchyma minőségének (a funkcionális kapacitásnak) a jelentőségére [19]. A fentiekből egyértelműen következik, hogy minden olyan esetben, amikor a tumor kiterjedése nagyobb májmennyiség eltávolítását teszi szükségessé, nélkülözhetetlen a máj térfogatának és funkcionális kapacitásának műtét előtti megítélése.

1.3. Májresectiók biztonságossá tétele - a hepatectomiát követő májelégtelenség megelőzése

1.3.1. Preoperatív kivizsgálás - májtérfogat és funkció mérés

A biztonságos májresectiók alapfeltétele tehát a visszamaradó májtérfogat elégséges mennyisége és megfelelő minősége (funkcionális állapota) [20]. A képalkotó eljárások fejlődésével mára a műtét után visszamaradó májvolumen (future liver remnant volume, FLRV) nagy pontossággal becsülhető. Az utóbbi években számos képlet került kidolgozásra az FLRV minél pontosabb megítélésére, mely térfogat-számítások alapját a komputertomográfias (CT) volumen meghatározások képezik. Manapság a preoperatív kivizsgálás elengedhetetlen része a CT volumetria, melynek során a teljes májtérfogat (total liver volume, TLV), a tervezetten eltávolítandó máj mennyisége (resected volume, RV), a tumor(ok) volumene (tumor volume, TV) és a FLRV egyaránt meghatározásra kerül. A legtöbbször a fenti, mért paraméterek abszolút értékeiből történik a FLR% kiszámítása ($FLR\% = FLRV / (TLV - TV) * 100$), melynek értéke meghatározó a resecabilias eldöntése szempontjából [21]. Egyes szerzők azonban megkérdőjelezzik e mért paraméterek megbízhatóságát és a TLV helyett az úgynevezett becsült teljes májtérfogatot (total estimated liver volume, TELV) veszik alapul, mely kalkulációja során a testfelszín (body surface area, BSA) is számításba kerül: $TELV = 706,2 * BSA + 2,4$ [22]. A fenti, távol-keleti (Japán) betegpopulációra kidolgozott formula azonban a nyugati országokban használva alábecsülte a tényleges májtérfogatot [23], ezért Vauthey módosította a képletet: $TELV = 794,41 + 1267,28 * BSA$ [24]. Az ily módon számolt TELV és a CT segítségével mért FLRV aránya adja az úgynevezett standard FLR (sFLR) értéket. Ez bizonyos tanulmányok alapján a tradicionális CT volumetriás adatoknál alkalmasabb a műtét után visszamaradó májtömegek összehasonlításra és így megbízhatóbb paraméter a műtét tervezése szempontjából [25].

Ugyanakkor fontos szem előtt tartani, hogy a fenti térfogat-számítások (becslések) csak azon betegek esetén tekinthetők precíznek, akik nem rendelkeznek semmilyen egyéb kísérőbetegséggel, vagy extrém fizikai adottságokkal (pl. szélsőségesen morbid obesitas). Amennyiben más a májparenchymát érintő elváltozás is jelen van (fibrosis, cirrhosis, CASH, SOS), úgy ezen képletek rendre korrekcióra szorulnak. Így belátható, hogy a posztoperatív morbiditás, mortalitás megbecsüléséhez

a FLRV pontos számítása mellett elengedhetetlen a máj funkcionális kapacitásának meghatározása is.

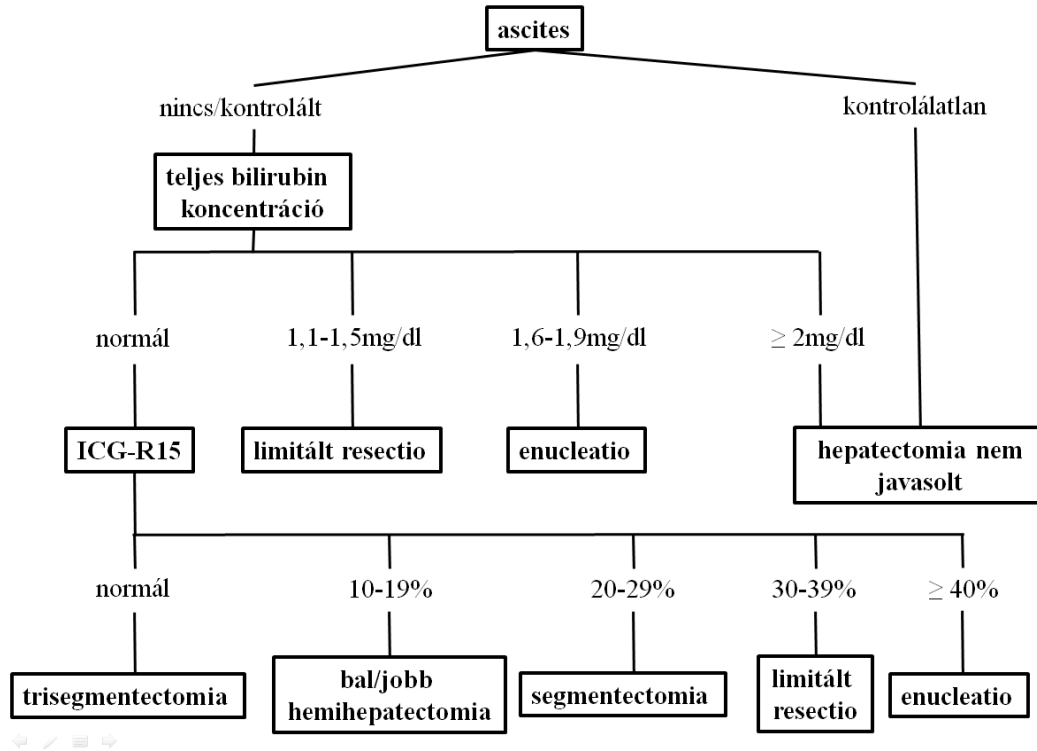
A májműködésről reflektáló funkcionális tesztek alapvetően három csoportba sorolhatjuk (1. táblázat) [26]. (1) Konvencionális laboratóriumi vértesztek során különböző máj-specifikus biokémiai anyagok vérszintje, aktivitása alapján lehet következtetni a máj funkcionális állapotára. Ugyanakkor e tesztek megbízhatósága kérdéses, tekintve, hogy ezen molekulák végső koncentrációját számos, a májfunkciótól független tényező is befolyásolja. (2) Az úgynevezett "*score*" rendszerek laboratóriumi tesztek eredményeit ötvözik klinikai tünetekkel, lehetővé téve a májfunkció pontosabb megítélését. A legelterjedtebben használt Child-Pugh klasszifikáció öt paraméter (teljes bilirubin szint, plazma albumin koncentráció, protrombin idő, ascites, illetve encephalopathia jelenléte) alapján a betegeket három kategóriába sorolja (A-C). Általánosan elfogadott, hogy B-C stádiumokban a májfunkció károsodása, a tartalék kapacitás hiánya már csak transzplantációt tesz lehetővé, míg A stádiumban a májresectio megkísérrelhető. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy az A kategóriába sorolt betegnél a Child-Pugh score nagy egyéni változatosságot mutat, így nem bizonyult alkalmasnak a hepatectomiát követő májdiszfunkció előrejelzésére [5]. (3) A fenti hiányosság kiküszöbölésére az utóbbi évtizedekben számos kvantitatív májfunkciós teszt került kidolgozásra, melyek egy-egy specifikus, döntően a májban metabolizálódó szubsztrát eliminációjának sebességéből következtetnek a máj funkcionális állapotára. Ezek a tesztek az eddigiéknél jóval pontosabb májfunkció mérést tesznek lehetővé.

1. táblázat Májfunkciós tesztek (forrás: Bennink RJ. et al: Semin Nucl Med 2012; 42:124-137.)

Konvencionális laboratóriumi vértesztek	
Mért paraméter	Jelentőség
Albumin	szintetikus funkció
Protrombin idő, INR	szintetikus funkció (alvadási faktorok)
Bilirubin	felvétel, konjugáció, exkréció
Alkalikus foszfatáz	cholestasis, epeúti obstrukció
Gamma-glutamil transzferáz	cholestasis, alkohol abúzus
Alanin-aminotranszferáz	májsejt sérülés, necrosis
Aszpartát-aminotranszferáz	májsejt sérülés, necrosis

Score rendszerek	
Score rendszer	Vizsgált változók
Child-Pugh	bilirubin, albumin, protrombin idő, ascites, encephalopathia
MELD (model for end-stage liver disease)	bilirubin, kreatinin, INR, etiológia
Kvantitatív májfunkciós tesztek	
Vizsgálat	Jelentőség
Antipirin clearance teszt	microsomalis funkció
Lidokain clearance teszt (MEGX)	microsomalis funkció
Galaktóz kiválasztási teszt	cytosolicus funkció
Indocianin zöld clearance teszt (ICG)	máj perfúzió, anion kiválasztás
^{99m}Tc- mebrofenin szcintigráfia	máj perfúzió, anion kiválasztás
^{99m}Tc-GSA szcintigráfia	funkcionáló májtömeg

Jelenleg az indocianin zöld (indocyanine green, ICG) clearance teszt a legelterjedtebben alkalmazott kvantitatív májfunkciós vizsgálat [27]. Az ICG egy tricarbocianin festék, mely intravénás beadását követően albuminhoz kötődik, majd kizárólag a májon keresztül eliminálódik. Kiválasztását döntően a máj keringése és a festék hepatobiliaris transzportja határozza meg. Vérből való eltűnése ezáltal jól jellemzi a máj organikus anion kiválasztását, indirekt információt szolgáltatva a globális májfunkcióról. Az ICG plazma koncentrációja denzitometriás módszerrel egyszerűen monitorozható egy az újra rögzített optikai szenzor segítségével. A kereskedelmi forgalomban kapható készülék a festék plazma eltűnési sebességét (plasma disappearance rate, PDR) és retenciós rátáját (a 15. percben visszamaradó ICG százalékos aránya, R15) automatikusan kalkulálja. Számos tanulmány igazolta, hogy a fenti paraméterek a Child-Pugh klasszifikációnál pontosabban jelzik a posztoperatív morbiditást és mortalitást. E megfigyelésre alapozva dolgozta ki Makuuchi és munkacsoportja a három funkcionális paramétert (ascites, bilirubin, ICG-R15) figyelembe vevő döntési modellt (hepatocellularis carcinoma sebészi terápiája kapcsán), melyet azóta számos májsebészeti centrum adaptált a biztonságosan eltávolítható májparenchyma mennyiségének meghatározása céljából (4. ábra) [28].



4. ábra Májresectios döntési fa. (forrás: Imamura H. et al: J Hepatobiliary Pancreat Surg 2005; 12(1):16–22.)

1.3.2. Hepatectomiát követő májelégtelenség megelőzését célzó eljárások

Azoknál a betegeknél, akiknél a fent részletezett preoperatív kockázat felmérés alapján az eltávolítandó májvolumen nagy kiterjedése (elégtelen mennyiségű FLRV), a parenchyma elégtelen funkcionális kapacitása (meglévő májbetegség) és egyéb kísérő betegségek fennállása következtében a resectio jelentős kockázattal jár, lehetőség van a posztoperatív májelégtelenség megelőzésére, illetve kezelésére [29]. E terápiás törekvés magában foglal számos a műtét előtt, alatt, illetve után alkalmazott intervenciót (2. táblázat), melyek célja a máj és a szervezet tűrőképességének, tartalék kapacitásának fokozása.

2. táblázat Terápiás lehetőségek a posztoperatív májelégtelenség megelőzésére, a májresectiók biztonságossá tételére.

Preoperatív terápiás lehetőségek
Testsúly normalizálása
Tápláltsági állapot optimalizálása
Társbetegségek kezelése
A visszamaradó máj térfogatának/funkcionális kapacitásának megnövelése (vena portae okklúziós technikák)
A tumor térfogatának csökkentése (down-sizing)

Intraoperatív terápiais lehetőségek
Intraoperatív vérvesztés minimalizálása (alacsony centrális vénás nyomás, vascularis kirekesztések)
Transzfúzió elkerülése (amennyiben lehetséges)
Megfelelő haemostasis
Máj ischaemia toleranciájának növelése (ischaemiás prekondicionálás, intermittáló kirekesztés, farmakológiai előkezelések, hypothermiás májresectio)
Portalis hyperperfusio ("small-for-flow" szindróma) kivédése (portocavalis anastomosis, arteria lienalis lekötés, adenozin-, szomatosztatin-, pentoxifillin infúzió)
Posztoperatív terápiais lehetőségek
Korai felismerése és kezelése a: <ul style="list-style-type: none"> - posztoperatív vérzésnek - posztoperatív epeúti obstrukciónak/sérülésnek - posztoperatív máj keringési zavarnak - posztoperatív hasüregi fertőzésnek

A fenti terápiais eljárások részletezése meghaladja jelen tanulmány terjedelmét, így a következőkben a dolgozat középpontjában álló vena portae okklúziós technikák kerülnek bemutatásra.

1.4. Vena portae okklúzió - preoperatív májvolumen manipuláció

A PHLF megelőzésére kidolgozott eljárások közül a vena portae okklúziós technikák kiemelendők, ugyanis megjelenésük azon túl, hogy nagymértékben elősegítette a tumoros betegek sebészi kezelésének fejlődését, új lendületet adott a májregenerációt vizsgáló alapkutatásoknak is.

1.4.1. Történelmi áttekintés

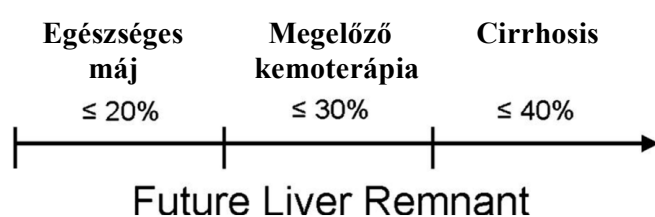
A vena portae egyes ágainak szelektív elzárása a portalis véráramlástól megfosztott májlebeny atrophiját, míg a túloldali, portalisan jól perfundált lebeny kompenzatórikus hypertrophiáját eredményezi (atrophia-hypertrophia komplex), így módon alkalmas módszer a FLRV műtét előtti megnövesztésére és a PHLF megelőzésére. A jelenség első leírása von Frerichs, német patológus nevéhez fűződik (1879), aki egy syphilises gumma által elzárt vena portae ág kapcsán figyelt fel az

atrophia-hypertrophia komplex kialakulására [30]. Vele szinte egy időben a skót sebész Cantlie is dokumentált egy esetet, mely boncolása kapcsán a jobb májfél fibroticus zsugorodása mellett, a bal oldal jelentős hypertrophiája volt látható. A két jelenség az epehólyag fundusát és a vena cava inferior középpontját összekötő vonalban élesen elkülönült egymástól. Ma a máj sebészi (funkcionális) anatómiája e – Cantlie-ről elnevezett – vonalat (Rex-Cantlie vonal) tekinti a máj bal és jobb oldala közti határnak [31]. Később, a XX. század elején (1920) a szelektív vena portae okklúzió májregenerációt indukáló hatása kísérletesen is bizonyítást nyert Rous és Larimore nyulakon végzett vizsgálatainak köszönhetően [32]. Ugyanakkor a módszer klinikai gyakorlatban történő átültetésére közel száz évet kellett várni, amikor is Honjo és munkatársai végrehajtották az első terápiás vena portae ligatúrát [33]. A beavatkozás célja ekkor még a tumor progressziójának gátlása, nem pedig májregeneráció indukciója volt. Később, 1984-ben Makuuchi [34] és szinte vele egy időben Kinoshita [35] alkalmazott először vena portae embolizációt hepatocellularis carcinoma resectióját megelőzően, immár a tumormentes parenchyma megnövesztése (májregeneráció indukciója) és így a hepatectomia biztonságossá tétele céljából. Azóta a módszer és különböző technikai módosításai széles körben elterjedtek, rutinszerű beavatkozássá váltak a világ vezető májsebészeti centrumaiban.

1.4.2. Javallatok

A szelektív vena portae okklúzió célja tehát, hogy látszólag elégtelen mennyiségű, funkcióját betölteni képtelen parenchyma hátrahagyásával járó major májresectiók elvégzését két lépésben (első lépcső: a tumor által érintett májlebeny vena portae ágainak okklúziója, második lépcső: a FLR elégséges térfogat-növekedését követően a deportalizált májlebeny eltávolítása), biztonságosan kivitelezhetővé tegye. A fenti megállapításból egyértelműen következik, hogy a vena portae okklúzió indikációjának alapfeltétele a máj volumenének és funkcionális kapacitásának pontos meghatározása.

A beavatkozásra alkalmas betegek kiválasztása tradicionálisan CT volumetrián alapszik, tekintve, hogy számos tanulmány igazolta a FLR térfogat-százaléka és a posztoperatív kimenetel közti szoros összefüggést (lásd korábban). Általánosan elmondható, hogy egyebekben egészséges májparenchyma mellett a biztonságos resectio felső határa 80%, azaz a minimálisan szükséges FLR a teljes májtömeg 20%-a. Ugyanakkor a májszövet súlyos károsodása, cirrhosis esetén ez a minimum arány 40%-ra emelkedik, míg korábban kemoterápiában részesedő betegeknél (CASH, SOS



5. ábra Vena portae okklúzió indikációja visszamaradó máj térfogatarányának függvényében.
(forrás: Zorzi D. et al: Br J Surg. 2007; 94(3):274-86.)

következtében) általában 30% az elfogadott küszöbérték (5. ábra) [25,36]. Amennyiben a FLR térfogat-aránya a fenti, kritikus határ alatt található, úgy a resectios műtét előtt vena portae okklúzió ajánlott.

Ugyanakkor néhány szerző, elsősorban a távol-keleti országokból (Japán), a térfogatmérés mellett hangsúlyozza a máj funkcionális kapacitásának figyelembe vételét is a betegszelekció folyamatában (elsősorban cirrhotikus betegek esetén). Ezen ajánlások döntően indocianin zöld clearance teszten alapulnak és 15-20%-os retenciós ráta (R15) valamint kiterjedt resectios terv mellett javasolják a vena portae okklúzió elvégzését [21].

1.4.3. Vena portae okklúziós technikák

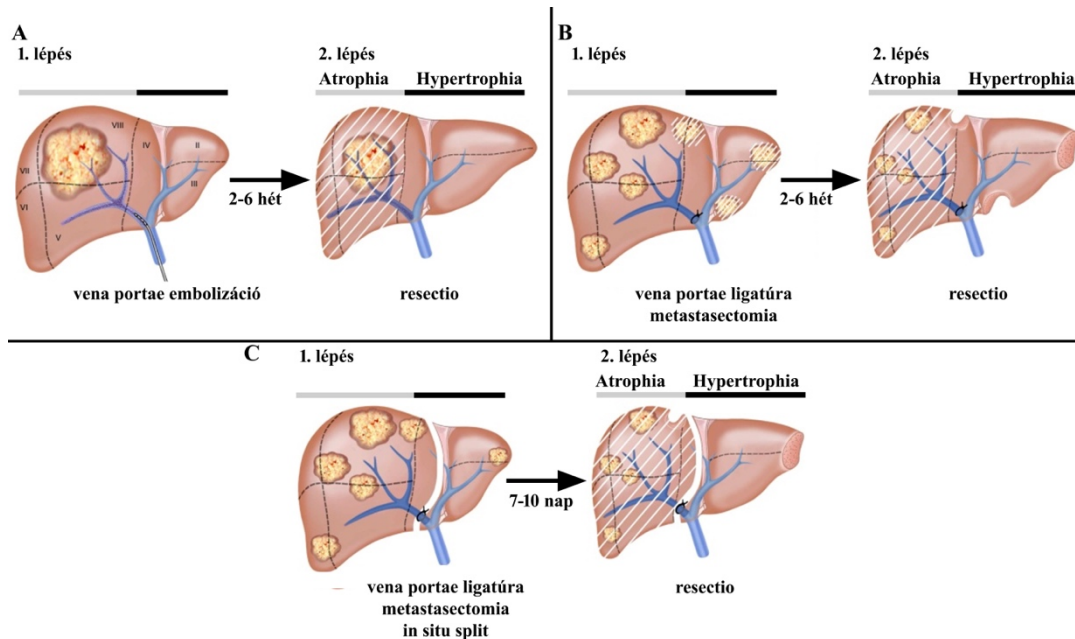
A vena portae egyes ágainak elzárása kivitelezhető sebészi ligatúra, illetve perkután embolizáció segítségével. Ugyan mindkét technika alkalmas májregeneráció indukálására, néhány különbség feltételezhető a két eljárás között.

A vena portae ligatúra invazív beavatkozás, mely során median laparotomia és a hilaris képletek kipreparálása szükséges, ami jelentősebb sebészi stresszel (ennek következtében fokozott adhaesio képződéssel, tehát a radikális műtétet veszélyeztető, vagy nehezítő következményekkel) jár együtt. További hátrány, hogy műtéti lekötés alkalmával csupán a proximális vénás törzs rövidszakaszú elzárása történik, ami lehetővé teszi a distalis, intraparenchymalis vena portae ágak kezdetben retrográd (azonos májlebeny arterio-portalis anastomosisain keresztül történő), később

anterográd (a lekötött és nem-lekötött májlebeny közt kialakuló porto-portalis anastomosisokon keresztüli) újratelődését [37]. Ezzel szemben embolizáció során mérsékeltebb invazivitású technikával (perkután behatolásból, kisebb stressz) történik a distalis vena portae ágak elzárása, megakadályozva az elzárt májlebeny collateralis hálózatán keresztül történő reperfüzióját. Habár a fenti eltérő körülmények, a vena portae okklúzió hatására fellépő keringési változások befolyásolásán keresztül jelentős mértékben módosíthatják az indukált májregeneráció mértékét ("*blood flow*" hipotézis, lásd később), klinikai vizsgálatok nem igazoltak egyértelmű különbséget a két eljárás között. Egyes tanulmányok ugyan jelentősebb térfogat-növekedésről és rövidebb regenerációs időről számoltak be embolizációt követően [38,39], ugyanakkor más vizsgálatok alapján a ligatúra az embolizációval megegyező hatékonyságának bizonyult és nem mutatkozott különbség a posztoperatív szövődmények, kórházi tartózkodás tekintetében sem [40,41]. Ennek következtében a megfelelő okklúziós technikát illetően egyértelmű ajánlás jelenleg nem áll rendelkezésre. Általánosan elmondható, hogy szoliter, nagy kiterjedésű tumorok esetében az embolizáció az elsődlegesen alkalmazandó módszer (kisebb megterhelés, illetve lehetőséget nyújt a IV. segmentum portalis ágainak elzárására is), míg multiplex, kétoldali tumorok esetén a ligatúra tűnik előnyösebb eljárásnak tekintve, hogy a szükséges műtéti beavatkozás lehetőséget teremt a sebész számára a tumor hepaticus, extrahepaticus kiterjedésnek és a májszövet minőségének intraoperatív megítélésére, valamint a FLR-ban esetlegesen jelen lévő metastasisok egy lépésben történő eltávolítására (6. ábra).

Függetlenül a beavatkozás módjától - embolizáció vagy ligatúra - a vena portae egyes ágainak szelektív elzárása az ellenoldali májlebeny hypertrophiáját eredményezi. A térfogat-növekedés mértéke széles határok közt változik (jelentősen függ a parenchyma állapotától (cirrhosis, fibrosis)), de átlagosan megközelíti a kiindulási FLR volumenének 40%-át [42]. A funkcionáló májszövet e jelentős gyarapodásának köszönhetően a megfelelő regenerációs idő elteltével, egy második lépésben a kiterjedt tumorállományok eltávolítása biztonságosan kivitelezhetővé válik. Az irodalom azonban nem egységes a beavatkozás két lépése (embolizáció/ligatúra és resectio) közti várakozási idő optimális hossza tekintetében. Ez szerzőtől függően 14-től akár 42 napig is terjedhet [21]. Figyelembe véve azonban hogy Ribero tanulmánya alapján a vena portae okklúziót követő 22. és 56. nap között a térfogat-növekedésben platófázis

figyelhető meg, így a legtöbb sebész a beavatkozást követő 2-6 héten belül elvégzi a májresectiót, amikor a volumennövekedés jelentős része feltételezhetően már lezajlott [43,44] (6. ábra).



6. ábra Vena portae okklúziós technikák. (A) Vena portae embolizáció kiterjedt szoliter májtumor kezelésére. (B) Vena portae ligatúra kétoldali, multiplex májmetastasisok kezelésére, a FLR-ban elhelyezkedő áttétek egyidejű eltávolításával. (C) Associating Liver Partition and Portal vein Ligation for Staged hepatectomy (ALPPS) kiterjedt, agresszív növekedést mutató máj daganatok kezelésére. (forrás: de Santibanes E. et al: Ann Surg 2012; 255(3): 415-417.)

Tekintettel az alapbetegség rosszindulatú jellegére, e viszonylag hosszú regenerációs periódus alatt akár jelentős tumorprogresszió is bekövetkezhet. Ez a vena portae okklúzió eljárások árnyoldala és a kezelt betegek körében a második lépcsőben tervezett resectio elmaradásának messze leggyakoribb oka (az esetek közel 20%-ban előfordul) [45]. Az embolizáció, ligatúra esetleges sikertelenségéhez hozzájárulhat továbbá az indukált regeneráció elégtelen mennyisége is [46]. A fenti problémák megoldására kínál lehetőséget az utóbbi években kidolgozott ALPPS (Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy) eljárás. Ennek során a daganatos májlebeny vena portae ágának lekötése mellett egyidejűleg a tervezett resectio vonalban a parenchyma átvágása (in situ split) is megtörténik [47]. Az új műtéti megoldásnak köszönhetően a klasszikus vena portae okklúzióhoz képest jóval jelentősebb (akár 100%-ot meghaladó) hypertrophia is elérhető, lényegesen lerövidült (7-10 nap) regenerációs idő alatt [48]. Ennek következtében a módszer kifejezetten előnyösnek tűnik a máj azon daganatos megbetegedési esetén, ahol a daganat mérete

(rendkívül kicsi FLR), vagy tumorbiológiai sajátosságai (gyors tumorprogresszió) miatt a hagyományos vena portae okklúziós technikák alkalmazása előnytelennek bizonyult (6. ábra).

A vena portae okklúzió első sikeres klinikai alkalmazása óta eltelt közel harminc év alatt a módszer és különböző technikai módosításai (embolizáció, ligatúra, ALPPS) világszerte elterjedtté váltak, mialatt intenzív kutatások indultak az indukált májregeneráció mechanizmusának pontosabb megismerése érdekében. Ezen vizsgálatok döntően *in vivo* állatkísérleteken alapultak és számos a háttérben megbúvó szabályozó folyamatot, illetve molekuláris és élettani jelenséget feltártak, melyek rövid áttekintése a következőkben olvasható.

1.5. Atrophia-hypertrophia komplex

A vena portae okklúziót követő élettani változások vizsgálata az 1920-as években vette kezdetét, amikor Rous és Larimore elsőként bizonyította, hogy a vena portae egyes ágainak lekötése az irodalomban atrophia-hypertrophia komplexként ismert jelenség kialakulásához vezet: "*the occlusion of portal branches to a part of the liver of the rabbit leads to a progressive and ultimately complete atrophy of the parenchyma in the region deprived of portal blood, and to hypertrophy of the rest of the hepatic tissue which receives such blood in excess*" [32]. Később ezt a megfigyelést számos további kísérletes eredmény is alátámasztott (1951 DeWeese [49]; 1955 Weinbren [50]; 1956 Bax [51]; 1959 Kraus [52]; 1961 Steiner [53]; 1965 Kerr [54]). Ezen korai tanulmányok azonban az atrophia, illetve hypertrophia mértékének nagyfokú varianciájáról számoltak be. Mígnem 1986-ban Rozga felülvizsgálta a modellt [55]. Patkányokon a kísérleti körülmények szoros szabályozásával, finom műtéti technika (mikrosebészeti módszerek) bevezetésével megelőzte a máj denerválását, az arteria hepatica illetve az epevezeték ligatúra során történő sérülését. Ennek köszönhetően jól reprodukálható, standardizálható modellt sikerült felállítania, melyben a létrejött regeneratív válasz mértéke arányos volt az ellenoldali atrophia nagyságával, melynek eredményeképp a máj össztömege - a dinamikus tömegváltozások ellenére - állandó értéken maradt. A vena portae okklúzió indukálta "kiegyensúlyozott" atrophia-hypertrophia jelensége, később eltérő dinamikával ugyan, de számos állatfajban igazolást nyert (3. táblázat). E tanulmányokból a későbbiekben

fény derült a térfogat-változások háttérében álló mikroszkópos, élettani és molekuláris változások jelentős részére is.

3. táblázat Atrophia-hypertrophia komplex különböző állat modellekben.

(forrás: Szijártó A., Fülöp A.: Eur Surg Res 2015; 54:148-161.)

	Faj	Érintett lebenyek	Okklúzió kiterjedése (az érintett lebenyek teljes májtömeghez viszonyított aránya)	Atrophia* (az elzárt lebenyek tömegaránya a PVO-t megelőző értékhez képest)	Hypertrophia* (az el nem zárt lebenyek tömegaránya a PVO-t megelőző értékhez képest)	Hiv.
Vena portae ligatúra	egér / patkány	SRL; IRL	24%	18% (7. nap)	125% (7. nap)	[55]
		LLL	34%	16% (7. nap)	145% (7. nap)	[55]
		ML; LLL	70%	24-40% (7. nap)	225-300% (7. nap)	[56-59]
		ML; LLL; SCL; ICL	80%	30% (7. nap)	310% (7. nap)	[60]
	nyúl	RL; LML; LLL	80%	84% (14. nap)	162% (14. nap)	[61]
	sertés	RM; LM; L	70-75 %	Adat nem áll rendelkezésre	150-170% (14-28. nap)	[37,62,63]
Vena portae embolizáció	egér / patkány	ML; LLL	70%	22-47% (7. nap)	151-270% (7. nap)	[64-67]
	nyúl	RL; LML; LLL	80%	72-79% (14. nap)	181-200% (14. nap)	[61,68,69]
	kutya	RM; LM; LL; PPC; QL	70%	74% (14. nap)	133-158% (14-42. nap)	[70,71]
	sertés	RM; LM; L	75%	54% (28. nap)	191-212% (28. nap)	[37,72,73]
	majom	L; RA	50%	73% (28. nap)	140% (28. nap)	[74]

* az értékek kiszámítása a cikkben szereplő adatokon/grafikonokon alapul. A zárójelekben a vena portae okklúzió óta eltelt idő látható.

PVO: vena portae okklúzió, RL: right lobe (jobb lebeny), LL: left lobe (bal lebeny), CL: caudate lobe (caudalis lebeny), ML: median lobe (középső lebeny), QL: quadrate lobe (lobus quadratus), RAL: right anterior lobe (jobb elülső lebeny), S: superior, I: inferior, L: lateral, PPC: papillary process of CL (CL papillaris nyúlványa)

1.5.1. Atrophia

A portalis okklúzió következtében fellépő atrophia háttérében a hepatocyták számának gyors - necrosis, illetve apoptosis által okozott - csökkenése áll. A sejthalál egyes formáinak jelentősége sokáig vita tárgyát képezte [75]. 1961-ben Steiner és

Martinez a portalis keringéstől megfosztott lebeny több mint 85%-os tömegvesztésének háttérében cellularis atrophia mellett, az okklúziót követő első napon fellépő, nagy kiterjedésű, necrosis elsődleges szerepét igazolták [53]. 1965-ben Kerr a necrosis mellett egy eltérő sejthalál, az un. "*shrinkage necrosis*" fontosságára hívta fel a figyelmet [54]. Egy későbbi tanulmányában az immár apoptosisként említett folyamatot tartotta az atrophia kizárólagos okának, míg az alkalmanként megfigyelhető necrosist az arteria hepatica járulékos sérülésére vezette vissza [76,77]. Ezzel ellentétben Rozga bebizonyította, hogy vena portae okklúziót követően necrosis az artériás vérellátás zavara nélkül is fellép, s kiterjedése az okkludált lebenyek akár 15-20%-át is érintheti [55].

A necro-apoptoticus sejthalál kialakulásáért a portalis okklúzió következtében fellépő keringésváltozások tehetők felelőssé. A portalis áramlás megszűntével az alacsony vérhozamú arteria hepatica képtelen fenntartani a sejtek számára szükséges tápanyag és oxigén ellátást [56]. A portalis területektől legtávolabb eső centrális rigókban súlyos fokú hypoxia jön létre, mely a mitochondrialis foszforiláció és a adenozin-trifoszfát (ATP) termelés zavarához, végül a sejtek necrosisához vezet [78]. A necrosissal párhuzamosan a necroticus és ép területek határán (intermedier zóna) jelentősen fokozódik az apoptosist előfordulása. Az apoptoticus sejtek lokalizációja alapján feltételezhető, hogy a súlyos fokú hypoxia necrosist, míg a mérsékelt hypoxia apoptosist indukál [56]. Később macrophagok és Kupffer sejtek migrációjával megkezdődik az elhalt sejtek eltávolítása. A folyamat végeztével (patkányok esetén 7-10 nap) helyreáll a normális, lobularis májszerkezet postnecroticus fibrosis megjelenése nélkül.

A kezdeti elképzelésekkel ellentétben a legújabb kutatások alapján az atrophia nem csupán az áramlásváltozások és szöveti hypoxia által létrehozott passzív folyamat, hanem egy összehangolt biológiai jelenség, mely lehetőséget nyújt az atrophia mértékének finomhangolására. Mi sem bizonyítja ezt jobban, mint Picard jól megtervezett kísérlete, melyben vena portae okklúziót követően retrorsine nevű pirrolizidin alkaloid segítségével a regenerálódó lebenyekben a sejtsztódás gátlását idézte elő [57]. A hypertrophia lassulásával az ellenoldali lebenyek atrophiaja is mérséklődött, mely háttérében a proapoptoticus molekulák aktivitásának (kaspáz-3, -9, -8) és így az apoptosist előfordulásának csökkenése állt. A fentiek alapján, az atrophia

szabályozásában egy homeosztatisz mechanizmus feltételezhető, melynek célja a funkcionáló májtömeg fenntartása. A jelenség egyelőre kevésbé vizsgált és pontos mechanizmusa nem ismert, de az apoptózis szerepe a folyamat kontrolljában egyértelműnek tűnik.

1.5.2. Hypertrophia (májregeneráció)

Vena portae okklúziót követően az atrophiaival párhuzamosan az ellenoldali lebenyek hypertrophiája megy végbe. Goto korai tanulmány igazolta hogy e kompenzatórikus folyamat nem passzív pangás, oedema képződés eredménye, hanem valódi regeneráció, melyben a hepatocyták átmeneti térfogat-növekedése (cellularis hypertrophia), valamint számbeli gyarapodása (hyperplasia) egyaránt szerepet játszik [79].

Sejtosztódás tekintetében a máj "*csendes (quiescent)*" szervnek tekinthető (nyugalmi állapotban a sejtek 0,0012-0,01%-a osztódik) [80]. Vena portae okklúziót követően azonban egy masszív proliferatív válasz indukálódik, melyben tipikusan az érett hepatocyták játsszák a fő szerepet (normálisan - más szervektől eltérően - a hepaticus őssejt populációt alkotó "*oval*" sejtek nem vesznek részt a regeneráció folyamatában, csupán akkor, ha a hepatocyták osztódása gátolt) [81]. Portalis okklúzió hatására a hepatocyták 70-95%-a belép a sejtciklusba (G0-G1 átmenet). A sejtciklusba lépést követően fokozódik az eukaryoták DNS szintézisében kulcsszerepet játszó DNS-polimeráz alfa aktivitása és ezzel párhuzamosan a sejtek DNS tartalma [82]. A DNS replikációt követően bekövetkezik a sejtek mitosisa, mely jellemzően a periportal területen kezdődve halad a pericentralis régiók felé. Rágcsálókban a hepatocyták mitotikus aktivitása a 36-48. órára éri el csúcspontját [83], míg nagyobb testű állatokban valamivel elhúzódóbb osztódási kinetika a jellemző (nyúl: 3-5 nap [68]; sertés: 5-7 nap [62]; majom: 3-5 nap [74]). A hepatocyták osztódását, mintegy 24 óra késéssel követi a biliaris ductalis sejtek, Kupffer sejtek, csillag sejtek, végül pedig a sinusoidalis endothel sejtek osztódása, valamint az extracellularis matrix urokináz-típusú plazminogén aktivátor (uPA) által szabályozott átrendeződése [84]. A folyamat végeredményeként az okklúzióval ellenoldali lebenyek tömege jelentősen megnövekszik.

1.5.2.1. A májregeneráció molekuláris szabályozása

A fent részletezett regeneratív folyamat mediátorok komplex hálózata által szorosan kontrolált. A molekuláris szabályozó mechanizmusokkal kapcsolatos ismereteink döntően a Higgins és Anderson által felállított, kétharmados partialis hepatectomia rágszáló modelljén alapuló vizsgálatokból származnak [85]. Kísérletes megfigyelések alapján azonban a vena portae indukálta májregenerációt, a hepatectomia során látottakhoz képest számos, a sejtosztódás szabályozásában megmutatkozó különbség és ennek következtében mintegy 12-24 órával elhúzódóbb osztódási kinetika jellemez (4. táblázat).

4. A vena portae ligatúra és partialis hepatectomia indukálta májregeneráció közti főbb különbségek.

(forrás: Szijártó A., Fülöp A.: Eur Surg Res 2015; 54:148-161.)

	Vena portae okklúzió	Hepatectomia	Hiv.
Hypertrophia mértéke (az első 72 órában)	150-180%	200-230%	[58,86,87]
DNS polimeráz alfa aktivitás csúcs értéke	48. óra	26. óra	[82]
DNS szintézis csúcsértéke	36-48. óra	24. óra	[58,83]
Mitoticus aktivitás csúcsértéke	36-48. óra	24-30. óra	[67,86]
Sejtosztódás korai génjeinek aktiválódása Egr-1 PAI-1	későbbi/mérsékeltebb aktiválódás	korábbi/jelentősebb aktiválódás	[86]
Ciklin D1/E/A mRNS expresszió csúcsértéke	24-36. óra	18-24. óra	[58]
Aktivin receptor II A mRNS expresszió csúcsértéke	12. óra	72. óra	[88]
Interleukin-6; Interleukin-1β mRNS expresszió	mérsékeltebb fokozódás	jelentősebb fokozódás	[67]
Kupffer sejt akkumuláció (első 24 órában)	mérsékeltebb	jelentősebb mértékű	[67]
Glukóz-6-foszfátáz mRNS expresszió	enyhe csökkenés	jelentős csökkenés	[87]
Vércukor szint	megtartott	csökkent	[87]
Máj glikogén tartalma	enyhe csökkenés	jelentős csökkenés	[87]
Tumornövekedés a regenerálódó májban	szupprimált (vitatott)	fokozott	[89]
A tumort tartalmazó májszövetnek regeneratív kapacitása	megtartott	csökkent	[89]

Ezen eltérések ellenére a regeneráció molekuláris szabályozásának főbb elemei partialis hepatectomia és vena portae okklúzió során közel azonosak [90]. Röviden [91], vena portae okklúziót követően különböző gyulladáshoz vezető citokinek (tumor necrosis faktor alfa (TNF α), interleukin-6 (IL-6)) szabadulnak fel a májban, melyek transzkripciós faktorok (nuclearis faktor-kappa B (NF- κ B), szignál transzducer és transzkripció aktivátor protein 3 (STAT-3)), korai gének (protoonkogének: c-fos, c-myc, c-jun) aktivációján keresztül a hepatocyták sejtciklusba lépéséért felelősek (G0-G1 átmenet). Ezt az ún. "*priming*" fázist követően a hepatocyták fogékonyá válnak növekedési faktorokra, mint hepatocytá növekedési faktor (HGF), epidermalis növekedési faktor (EGF) és transzformáló növekedési faktor alfa (TGF α), melyek DNS replikációt és sejtosztódást indukálnak (sejt-ciklus progresszió, S, G2, M fázis). A regeneráció e korai fázisában, mint egy 185 gén aktivációját mutatták ki, beleértve számos transzkripciós faktort, protoonkogéneket, sejtciklust szabályozó fehérjéket (ciklinek, a ciklindependens kinázok) és egyéb gyulladáshoz, metabolizmushoz köthető molekulákat. Később a regenerációs folyamat teljessé válásával a sejtek visszatérnek nyugvó állapotba, melyben különböző gátló molekulák (interleukin-1b (IL-1b), transzformáló növekedési faktor béta (TGF β), aktivin) szerepét feltételezik. A regeneráció e többlépcsős szabályozása és a fent felsorolt mediátorok kulcsfontosságú szerepe az utóbbi évtizedekben egyértelműen igazolást nyert, a folyamat fiziológias "*triggere*" körül azonban a mai napig viták folynak.

1.5.2.2. A májregeneráció "*trigger*" mechanizmusai - főbb hipotézisek

1.5.2.2.1. A funkcionáló májtérfogat elvesztése

A májregeneráció indukciójára vonatkozó kezdeti hipotézis alapján a regeneráció a parenchyma vesztésre adott kompenzatórikus válasz, melynek célja a funkcionáló májtömeg fenntartása [37]. Ezt az elméletet támasztja alá Rozga megfigyelése is, miszerint különböző mennyiségű májtömeget érintő portalis okklúzió során az ellenoldali hypertrophia arányos a kirekesztés mértékével és a következtében fellépő atrophia nagyságával, melynek köszönhetően a máj teljes tömege változatlan marad [55]. Ugyan az atrophia, hypertrophia közti szoros korreláció a májtömegvesztés regeneráció szabályozásában betöltött szerepét egyértelművé teszi, Lambotte igazolta, hogy a hepatocyták osztódása a regenerálódó lebenyekben már azelőtt megkezdődik, mielőtt a portalis keringéstől megfosztott lebenyek atrophijája

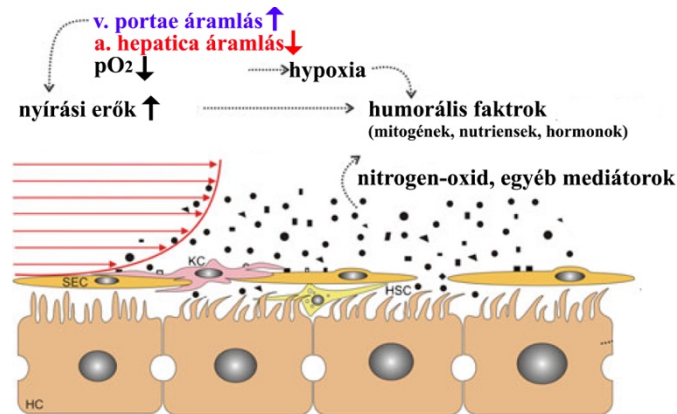
bekövetkezne [83]. Ez alapján úgy tűnik, hogy a regeneráció kezdeti fázisa független a funkcionális parenchyma elvesztésétől és más korábban manifesztálódó szignál/ok szerepe feltételezhető.

1.5.2.2.2. "Blood flow" teória

A szelektív portalis okklúziót követő egyik legkorábbi esemény a máj keringésében bekövetkező hirtelen és szembetűnő változás. Ligatúra, embolizáció során az okklúzió oldalán a teljes hepaticus áramlás 45-50%-kal lecsökken [92]. Tekintve, hogy a kieső portalis keringés a teljes vérellátás 75-80%-áért felelős, e méréskeltebb áramláscsökkenést az artériás véráramlás 3-4 szerez növekedése magyarázhatja. E kompenzatórikus folyamatban egy endogén szabályozó mechanizmus, az úgynevezett "*hepatic artery buffer response*" (HABR) játssza a fő szerepet. HABR során a portalis áramlás megszűnésével csökken a konstitutív módon termelődő adenozin kimosódása, mely a Mall-féle térben felhalmozódva - mint erős artériás vasodilatator - az artériás áramlás fokozódását eredményezi [93]. Ezzel párhuzamosan az okklúzióval ellentétes oldalon a teljes hilaris véráramlás közel 230%-kal fokozódik (egységnyi májtömegre jutó portalis áramlás jelentős növekedése, portalis "*overflow*"), mely megnövekedett áramlás több mint 96%-a a portalis rendszer felől érkezik. A vénás vérellátás túlsúlyához a portalis áramlás fokozódása mellett az artériás véráramlás párhuzamos csökkenése is hozzájárul (reciprok HABR) [94]. A fenti keringési változások a beavatkozást követően azonnal fellépnek és különböző utakon képesek a regenerációs kaszkád aktiválódását kiváltani: (1) a vascularis falra ható nyírófeszültség ("*shear stress*") növekedése, (2) a portalis vér szállította szignál molekulák fokozott hozzáférhetősége és (3) az artériás hypoperfusio okozta csökkent oxigén kínálat által (7. ábra).

A portalis áramlásfokozódás következtében fellépő nyírófeszültség a sinusoidalis endohel sejteken, illetve a perisinusoidalis (Disse) térben helyet foglaló hepatocytákon és Kupffer-sejteken különböző biológiai és biokémiai eseményeket kiváltva képes aktiválni a regenerációs kaszkádot [95]. A nyírási erők fokozódása közvetlenül befolyásolja adhaesios molekulák, növekedési faktorok (TGf α), protoonkogének (c-fos, c-myc) és a nitrogén-oxid szintáz (NOS) kifejeződését, fokozza az urokináz aktivitását, s ezek a folyamatok meghatározó szereppel bírnak a regeneráció indukálásában [96]. Ezenfelül a megnövekedett sinusoidalis áramlás következtében a

sinusoidalis endothel sejtek fenestratioja, permeabilitása megnövekszik, fokozva a hepatocyták portalis vérben jelen lévő hepatotrophicus molekulákhoz (mitogének, nutriensek, hormonok) való hozzáférését [97]. A portalis áramlásnövekedés további következménye az artériás hypoperfusio (reciprok HABR) és a szöveti oxigenizáció csökkenése. A szöveti hypoxia májregenerációban betöltött szerepe ma még nem teljesen tisztázott. A hypoxia különböző adaptív mechanizmusokat indukálva (hypoxia indukálta faktor-1 alfa útvonal) támogathatja a regenerációs folyamatot. Ugyanakkor, mivel a regeneráció - a DNS szintézis és sejt proliferatio fokozott metabolikus szükséglete következtében - enormis mennyiségű oxigént igényel, az artériás áramlás és oxigenizáció csökkenése a regeneratív válasz elhúzódását is eredményezheti [98].



7. ábra A "blood flow" hipotézis sematikus ábrázolása.
(forrás: Abshagen K. et al: Langenbecks Arch Surg 2012; 397:579–590.)

1.5.2.2.3. Humorális teória

Ugyan a fent részletezett "blood flow" hipotézis széles körben elfogadott, számos tanulmány azt sugallja, hogy a megnövekedett sinusoidalis áramlás önmagában nem elégséges májregeneráció kiváltásához, a vérnek splanchnicus eredetűnek kell lennie [99,100]. Az elképzelés miszerint a vér kvalitása meghatározóbb, mint a vér kvantitása képezi az alapját a májregeneráció humorális teóriájának [101]. Mostanra számos növekedési faktort (HGF, EGF, TGF α) és egyéb szignál-molekulát (norepinefrin, prosztaglandin, inzulin és mások) azonosítottak, melyek szérumszintje jelentősen megemelkedik közvetlenül a vena portae okklúziót követő órákban. Ezek az úgynevezett véreredetű, "blood borne" faktorok, mint potens mitogének az előzetesen aktivált hepatocyták sejtciklusának progresszióját eredményezik (G1-S átmenet). A

sejtciklus növekedési faktor függő ellenőrzési pontja a G1-fázisban található [102]. A G1 fázisban bekövetkező változások jelentőségét bizonyítja Starkel tanulmánya is [103], aki hepatocyták "*priming*"-jában (G0-G1 átmenet) meghatározó szerepet játszó citokinek (IL-6), transzkripciós faktorok (NF-kB, STAT-3) és korai gének (c-sos, c-nyc, c-jun) expresszióját vizsgálva kimutatta, hogy ezen szabályozó molekulák korai (30-120 perc) indukciója, mind az atrophian keresztül menő, mind a regenerálódó lebenyekben bekövetkezik. Ennek alapján feltételezhető, hogy e korai események nem-specifikus ingerek (pl. sebészi stressz) hatására is bekövetkezhetnek és a hepatocyták sorsát - apoptosis vagy mitosis - csak későbbi, a késő G1 fázisban ható ingerek határozzák meg. Ennek megfelelően Starker egy későbbi tanulmánya igazolta, hogy specifikus változások a vena portae elzárását követő 12. órától vannak jelen [104]. Ekkor a regenerálódó lebenyben szelektíven fokozódik a c-Ha-ras és a ciklin E/ciklin-dependens kináz 2, valamint a ciklin D és A aktiváció, melyek a sejt ciklus progresszióját eredményezik [58]. A folyamat kiváltásában a portalis vérben megemelkedett növekedési faktorok és egyéb mitogének szerepe feltételezhető. Ezzel szemben a zsugorodó lebenyekben a portalis hepatotrophicus faktorok és nutriensek hiányában gátló mediátorok (TGFb, IL-1b) indukciója és így a sejt ciklus leállása következik be, mely eredményeként a folyamat apoptosis irányába tolódik el.

1.6. Nyitott kérdések

A vena portae okklúzió első klinikai alkalmazása óta eltelt közel 30 év alatt a májdaganatok sebészi kezelésében progresszív fejlődésnek lehettünk szemtanúi. Ugyanakkor egy nemrégiben megjelent a klinikai eredményeket összefoglaló tanulmány alapján, a szelektív vena portae elzárását követően tervezett májresectiok közel 20%-a elmarad, s ennek hátterében döntően a primer betegség progressziója és az elégtelen mértékű regeneráció áll [21]. Ez a viszonylag jelentős sikertelenségi arány felhívja a figyelmet számos, a vena portae okklúzióval kapcsolatos ma még nem tisztázott kérdés jelentőségére.

Mint a fenti összefoglaló is mutatja, az elmúlt évtizedek alap kutatásainak köszönhetően az indukált májregeneráció számos aspektusa ismertté vált, így többek közt a folyamat hátterében lévő számtalan molekuláris útvonal és különböző mediátor. Ugyanakkor a regeneráció szabályozásában résztvevő faktorok forrása (máj vagy

extrahepaticus szövetek), a felszabadulásukat kiváltó fiziológias trigger továbbra is élénk vita tárgyát képezi. Ugyancsak tisztázatlan az atrophian keresztülmenő lebeny regeneráció szabályozásában betöltött szerepe, a két folyamat közti finom egyensúly szabályozásának mechanizmusa. Vitatott a regenerációt követő funkcionális változások mértéke, a funkcionális és morfológiai regeneráció viszonya. Kérdéses számos a regenerációt befolyásoló kórállapot (cirrhosis, cholestasis, steatosis) jelentősége, kórleletani háttere. Tisztázatlan a szelektív okklúzió hatására bekövetkező intrahepaticus tumor progresszió mértéke. Továbbá számos technikai kérdés is válaszra vár: melyik okklúziós technika az effektívebb (ligatúra, vagy embolizáció), melyik embolizációs anyag a legmegfelelőbb (permanens vagy tranziens), befolyásolható-e a regeneráció a máj keringésének további modulálásával (többlépcsős vena portae okklúzió, szekvenciális vena hepatica-, arteria hepatica okklúzió), illetve egyéb növekedést serkentő anyagok (TNFa, IL-6, őssejt) adásával.

Ezen kérdések megválaszolásához, a technika további finomításához a jövőben újabb jól megtervezett, standardizált állatkísérletek szükségesek.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Ugyan a vena portae okklúziós technikák széles körben elterjedtek és mára a világ vezető májsebészeti centrumaiban mindennapos beavatkozássá váltak, számos, az indukált májregenerációval kapcsolatos kérdés ma még tisztázatlan. Azon túl, hogy a háttérben lévő mechanizmusok pontosabb megismerése elősegítheti a májregeneráció komplex folyamatainak megértését, jelentősen hozzájárulhat a sebésztechnikai módszer további finomításához is.

Jelen tanulmány célja a vena portae ligatúra indukálta regeneratív és atrophias folyamat vizsgálatára alkalmas kisállat modell felállítása és az indukált keringési, morfológiai és funkcionális változások vizsgálata volt.

Kísérleteink során a következő kérdésekre kerestük a választ:

1.) Patkánymodellben biztonsággal és eredményesen kivitelezhető-e, standardizálható-e a májparenchyma jelentős részét ellátó (70%, 80%, 90%) vena portae ágak lekötése? Miként befolyásolják e kiterjedt portalis okklúziók a májregeneráció ütemét, mértékét és a portalis vénás nyomást? Kimutatható-e összefüggés a portalis vénás nyomásváltozás és a regeneratív folyamat aktivitása között?

2.) A máj állományának 80%-át érintő vena portae ligatúra miként befolyásolja a szervezet keringési viszonyait, beleértve a szisztémás (artériás középnyomás), a splanchnicus (portalis vénás nyomás) és a máj mikrokeringését (lézer Doppler áramlásmérés) jellemző paramétereket?

3.) A 80%-os vena portae ligatúra hatására fellépő atrophias, illetve regeneratív folyamatot milyen szövettani (morfológiai) változások kísérik, mi jellemző e jelenségek dinamikájára? A portalis lekötés miként befolyásolja az egyes lebenycsoportok (lekötött, nem-lekötött) mikrostruktúráját (lobulus méretváltozás)?

4.) A 80%-os vena portae ligatúra miként befolyásolja a máj és az egyes lebenycsoportok funkcionális kapacitását? Miként változnak a globális májfunkciót jellemző laboratóriumi tesztek (transzamináz, albumin, bilirubin) és kvantitatív májfunkciós vizsgálatok (ICG clearance teszt) eredményei? Miként változik az egyes lebenycsoportok kiválasztó funkciója, beleértve az epe és ICG kiválasztó képességüket? A nem-lekötött (regenerálódó) lebenyek tömeggyarapodása miként viszonyul a lebenyek epe és ICG kiválasztásához? Milyen összefüggés mutatható ki a morfológiai (tömegnövekedés) és funkcionális regeneráció között?

5.) A nanoScan PET/MR készülék alkalmas-e kisállatokban a vena portae ligatúrát követő rapid térfogatváltozások monitorozására?

6.) Miként befolyásolja a vena portae ligatúra a máj és az egyes lebenycsoportok FDG (2-deoxi-2-(¹⁸F)fluoro-D-glükóz) felvételét, glükóz metabolizmusát?

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti elrendezés - Műtéttechnika

3.1.1. Törvényi háttér

Kísérleteink során az állatok védelméről és kíméletéről szóló 1998. évi XXVIII. törvény, valamint a 40/2013 (II.4) Kormányrendelet szerint elvárt követelményeknek megfelelően jártunk el. Munkánkat a PEI/001/313-4/2014 számú Egyetemi Állatkísérleti Bizottság (Semmelweis Egyetem, Budapest) által jóváhagyott, a Pest Megyei Kormányhivatal, Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága által kiadott engedély alapján végeztük.

3.1.2. Állatok

Kísérleteink során 200-250g súlyú, hím Wistar patkányokat használtunk ($\Sigma n=150$, Semmelweis Egyetem Központi Állatház, Budapest). Az állatok tartása standard körülmények közt, a napszaki változásokat követő mesterséges megvilágítás mellett, 22-24°C-os hőmérsékleten történt. Az állatok száraz tápot és vizet kaptak *ad libitum*. Az emésztési folyamatok májkeringésre és epe kiválasztásra gyakorolt hatásának minimalizálása érdekében a fenti paraméterek vizsgálatát megelőző 12 órában az állatok csak vizet kaptak.

3.1.3. Csoportbeosztás

Az állatok csoportonként az alábbi elrendezésben, illetve számban kerültek bevonásra a kísérletekbe:

I. Kísérlet: A különböző mértékű ligatúra (70%, 80%, 90%) májregenerációra gyakorolt hatásának vizsgálata (n=64) (5. táblázat). A kísérlet során a következő paramétereket vizsgáltuk:

- portalis vénás nyomás
- májlebenyek tömegváltozása (regenerációs ráta)
- májlebenyek szövettani képe (hematoxin-eozin festés, sejtosztódás)
- lép tömegváltozása

5. táblázat I. Kísérletben felhasznált állatok száma.

Lekötött vena portae ágak által ellátott lebenyek tömegaránya teljes májtömeghez viszonyítva	Vena portae ligatúra után eltelt idő						
	Kontroll (0. óra)	akut*	24. óra*	48. óra	72. óra	120. óra	168. óra
70%	4	4	4	4	4	4	4
80%		4	4	4	4	4	4
90%		4	4	4	4	4	4

*: közvetlenül a vena portae ligatúra után történt a portalis vénás nyomás akut változásának meghatározása, majd 24 óra elteltével ismételt nyomás mérést követően került sor a szövettani mintavételre

II. Kísérlet: a humán műtéti helyzetet leginkább modellező (egészséges májparenchyma mellett a major resectio felső határa, lásd korábban) 80%-os vena portae ligatúra indukálta morfológiai változások részletes vizsgálata (n=44) (6. táblázat):

- májlebenyek tömegváltozása - makroszkópos megjelenése
- májszöveti nedvességtartalom
- májlebenyek szövettani képe:
 - rutin hematoxilin-eozin festés
 - mitosis (Ki-67 immunfestés)
 - apoptosis (Kaspáz-3 immunfestés)
 - necrosis (szemikvantitatív score rendszer)
 - cellularis glikogén tartalom (perjódsav-Schiff (PAS) festés)
- lobulus méret változás:
 - lobulus terület
 - lobulus kerület

6. táblázat II. Kísérletben felhasznált állatok száma.

Vizsgált paraméterek	Vena portae ligatúra után eltelt idő					
	Kontroll (0. óra)	24. óra	48. óra	72. óra	120. óra	168. óra
Makro-, mikroszkópos változások	6	6	6	6	6	6
Lobulus méret változások	4	-	-	-	-	4

III. Kísérlet: 80%-os vena portae ligatúra indukálta keringési és funkcionális változások vizsgálata (n=42) (7. táblázat). A kísérlet két részre tagolódott, mely során két külön állatcsoportban (n=36 és n=6) vizsgáltuk a vena portae ligatúra hatására bekövetkező:

- (III/A.) keringési, valamint a máj kiválasztó funkcióját érintő változásokat:
 - artériás középnyomás
 - portalis vénás nyomás
 - máj mikrocirkuláció
 - konvencionális laboratóriumi vértesztek
 - epekiválasztás
 - ICG clearance
 - biliaris ICG kiválasztás
 - máj morfológia (tömeg és szövettani változások)
- (III/B.) a máj glükóz metabolizmusában bekövetkező változásokat (nanoScan PET/MR)

7. táblázat III. Kísérletben felhasznált állatok száma.

Vizsgált paraméterek	Vena portae ligatúra után eltelt idő					
	Kontroll (0. óra)	24. óra	48. óra	72. óra	120. óra	168. óra
A.) Kiválasztó funkció, keringési paraméterek	6	6	6	6	6	6
B.) Glükóz metabolizmus (PET/MR)*	+	+	+	+	-	+

* Sorozat mintavétel/képkalkotás: + történt / - nem történt

3.1.4. A műtét ideje

A cirkadián ritmus esetleges zavaró hatásainak kizárása végett a műtéteket mindig azonos időben indítottuk (9:00-10:00).

3.1.5. Anesztézia

Az anesztézia indukciója intraperitoneálisan beadott 75mg/ttkg ketaminnal (Calypsol®) és 7,5mg/ttkg xilazinnal (Xylasin®) történt. Kísérleti elrendezéstől

függően - amennyiben az adatgyűjtési periódus hossza azt szükségessé tette - az altatás fenntartására 25mg/ttkg/óra ketaminnal és 2,5mg/ttkg/óra xilazinnal került sor infúziós pumpa segítségével a jobb oldali vena jugularison keresztül. Ez esetekben, a mérési szakasz teljes ideje alatt az intraoperatív folyadékvesztés pótlására 4 ml/ttkg/óra fiziológiás sóoldatot adtunk intravénásan.

3.1.6. Hőmérséklet

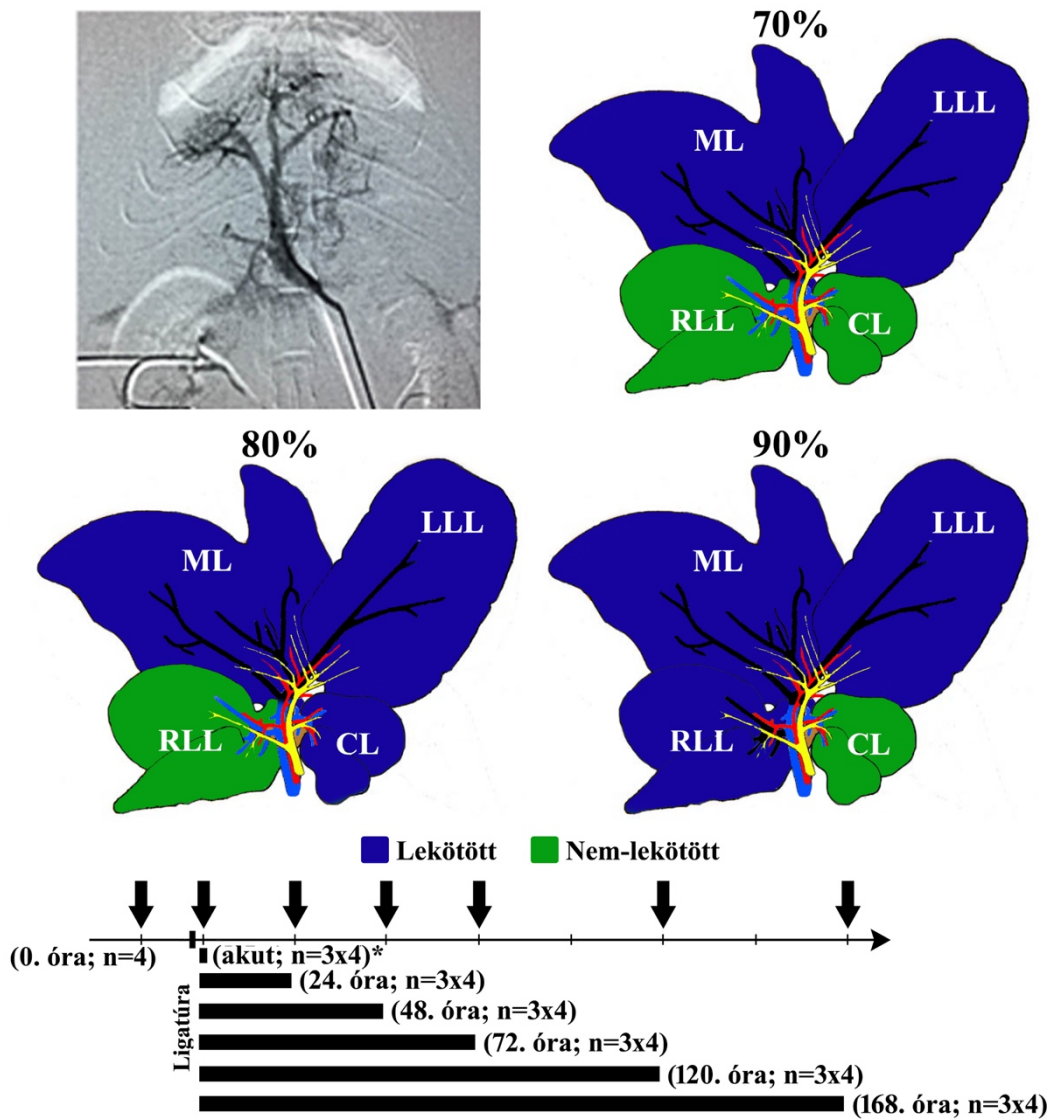
Az állatok hőmérsékletét fűthető műtőasztal (Homeothermic Blanket Control Unit, Harvard Apparatus, Holliston, MA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével a kísérletek alatt mindvégig 36,5-37,5°C között tartottuk.

3.1.7. A műtét menete

3.1.7.1. I. Kísérlet

Intraperitoneális anesztézia indukciót követően median laparotomiát végeztünk. A máj rögzítő szalagjainak átvágásával, a középső (median liver lobe, ML) és bal oldalsó (left lateral liver lobe, LLL) májlebenyek óvatos megemelésével a portalis nyél a benne futó arteria hepaticaval, vena portaeval és ductus hepaticussal könnyen látótérbe hozható. Ezt követően operációs mikroszkóp (Zeiss Opmi, Jena, Németország) alatt a lekötenő lebenyeket ellátó vena portae ágak felszabadítását és a vénák szelektív lekötését végeztük 6-0 sebészi fonal (Atramat, Internacional Farmaceutica, S.A. De C.V., Coyoacán, Mexikó) segítségével. A művelet során nagy gondot fordítottunk az atraumatikus műtéti technikára, az arteria hepatica illetve a közös epevezeték sérülésének elkerülésére.

Az állatok csoportbeosztásától függően a következő májlebenyek portalis beömlését kötöttük le (8. ábra): **PVL-70%** - középső (ML), bal lateralis (LLL) májlebenyek, melyek előkísérleteink alapján a teljes májtömeg 68,88±4,5%-át alkotják, **PVL-80%** - középső (ML), bal lateralis (LLL) és caudalis (caudate lobes, CL) májlebenyek, melyek a teljes májtömeg 77,38±3,4%-át képezik, **PVL-90%** - jobb lateralis (right lateral liver lobes, RLL), középső (ML) és bal lateralis (LLL) májlebenyek, melyek a teljes májtömeg 89,54±1,7%-át teszik ki.



8. ábra I. Kísélet - a) Patkány máj portogram. b-d) 70%-, 80%-, 90%-os lekötések sémás ábrázolása, e) kísérleti elrendezés. Nyíl: vizsgálati időpontok, *: csak a portalis vénás nyomás akut változásának meghatározása történt.

Vena portae ligatúrát követően, a májlebenyek eredeti anatómiai helyzetének visszaállítása és a hasüreg fiziológias sóoldattal való alapos átöblítése után, a hasfal két rétegben, tova futó varratsor (4-0, Atramat, Internacional Farmaceutica, S.A. De C.V., Coyoacán, Mexikó), segítségével zárásra került, majd az állatok további vizsgálatokig visszakerültek ketrecükbe. A posztoperatív (első 3 nap) fájdalomcsillapítás napi 0,1 mg/ttkg buprenorfin szubkután adásával történt. Megfelelő regenerációs idő elteltével (lásd csoportbeosztás, 3.1.3. fejezet, 5. táblázat, illetve 8. ábra) anesztézia indukcióját követően a hasüreg újbóli megnyitásával a vena portae fő törzsének direkt punkcióját (27G injekciós tű, Dispomedicor Zrt, Debrecen, Magyarország) végeztük a portalis

vénás nyomás meghatározása céljából. 5 perc regisztrációs periódus leteltével a jobb kamra punkcióján keresztül az állatok kivéreztetését végeztük, majd szöveti mintavételre került sor.

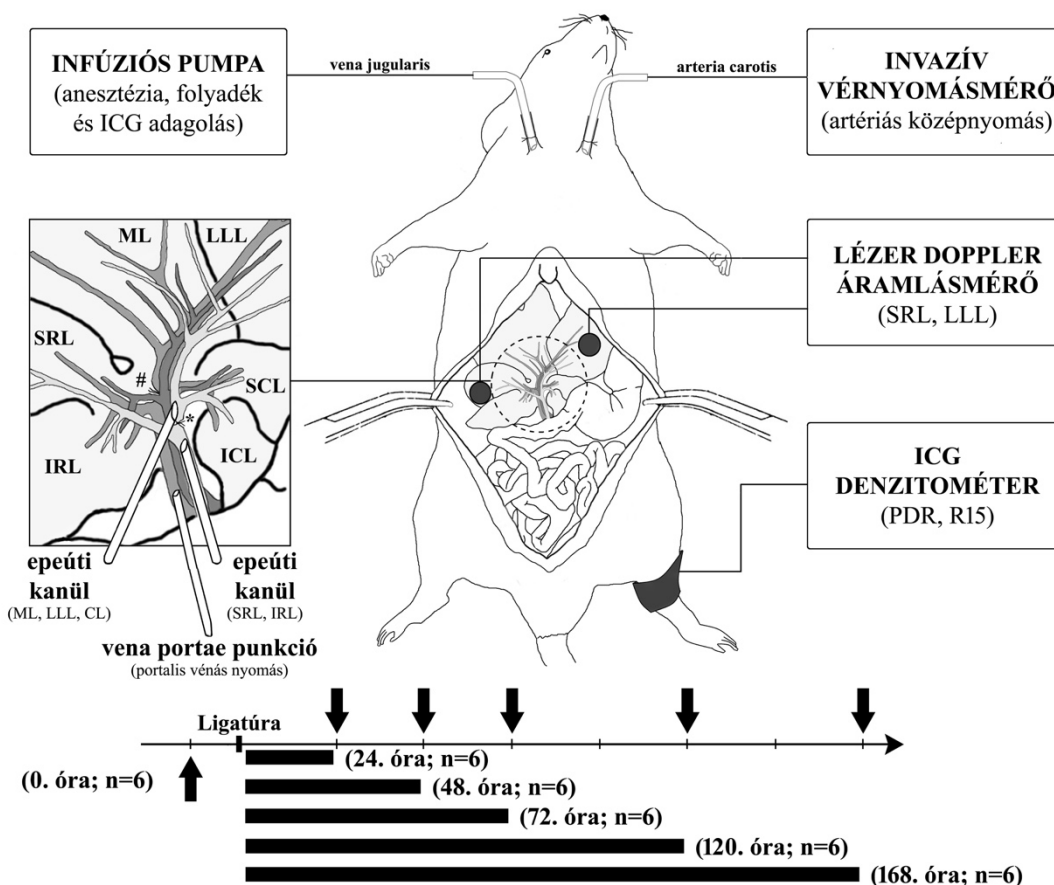
3.1.7.2. II. Kísérlet

Vena portae ligatúra alkalmával az I. kísérlethez hasonló módon jártunk el, mely során a teljes májtömeg 80%-át képző középső (ML), bal lateralis (LLL) és caudalis (CL) lebenyeket ellátó vena portae ágak kerültek lekötésre. Megfelelő regenerációs idő elteltével (lásd csoportbeosztás, 3.1.3. fejezet, 6. táblázat) anesztézia indukcióját követően a hasüreg újbóli megnyitásával a jobb kamra punkcióján keresztül az állatok kivéreztetését végeztük, majd szöveti mintavételre került sor.

3.1.7.3. III. Kísérlet

III./A Kísérlet - epetermelés és biliaris ICG exkréció meghatározása: Vena portae ligatúra során az I. és II. kísérlethez hasonló módon jártunk el, azaz a teljes májtömeg 80%-át képző középső (ML), bal lateralis (LLL) és caudalis (CL) lebenyeket ellátó vena portae ágak lekötését végeztük. A műtétet követően az állatok visszakerültek ketrecükbe. A csoportbeosztásnak megfelelő regenerációs időszak elteltével (lásd csoport beosztás, 3.1.3. fejezet, 7. táblázat, illetve 9. ábra) anesztézia indukciót követően, a jobb oldali vena jugularisba, illetve az ellenoldali arteria carotisba polietilen kanüloket (22G, Harvard Apparatus, Holliston, MA, Amerikai Egyesült Államok) helyeztünk be, anesztézia fenntartása, folyadékvesztés pótlása (fiziológias sóoldat, 4ml/ttkg/h), indocianin zöld adagolása, illetve a keringési paraméterek monitorozása céljából. Ezt követően relaparotomiát végeztünk és a portalis keringésüktől megfosztott (továbbiakban lekött) (LLL), valamint a portalisan továbbra is keringő (továbbiakban nem-lekött) (RLL) májlebenyek felszínére mikrocirkulációs áramlásmérőt helyeztünk fel. A máj keringésében bekövetkező változások detektálását követően mikrosebészeti technikával az egyes lebenycsoportok szelektív epeúti drenázsát végeztük. Operációs mikroszkóp alatt, közvetlenül a jobb lateralis (RLL) lebenyek felől elvezető epeutak beszájadzása fölé lekötsést helyeztünk fel (6-0, Atramat, Internacional Farmaceutica, S.A. De C.V., Coyoacán, Mexikó). Az ily módon elkülönített jobb és bal oldali májlebeny-csoportok epevezetéseiket 30G-s polietilén kanülok (Harvard Apparatus, Holliston, MA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével szelektíven drenáltuk, majd a kanüloket pillanatragasztó segítségével rögzítettük. A bazális epetermelés

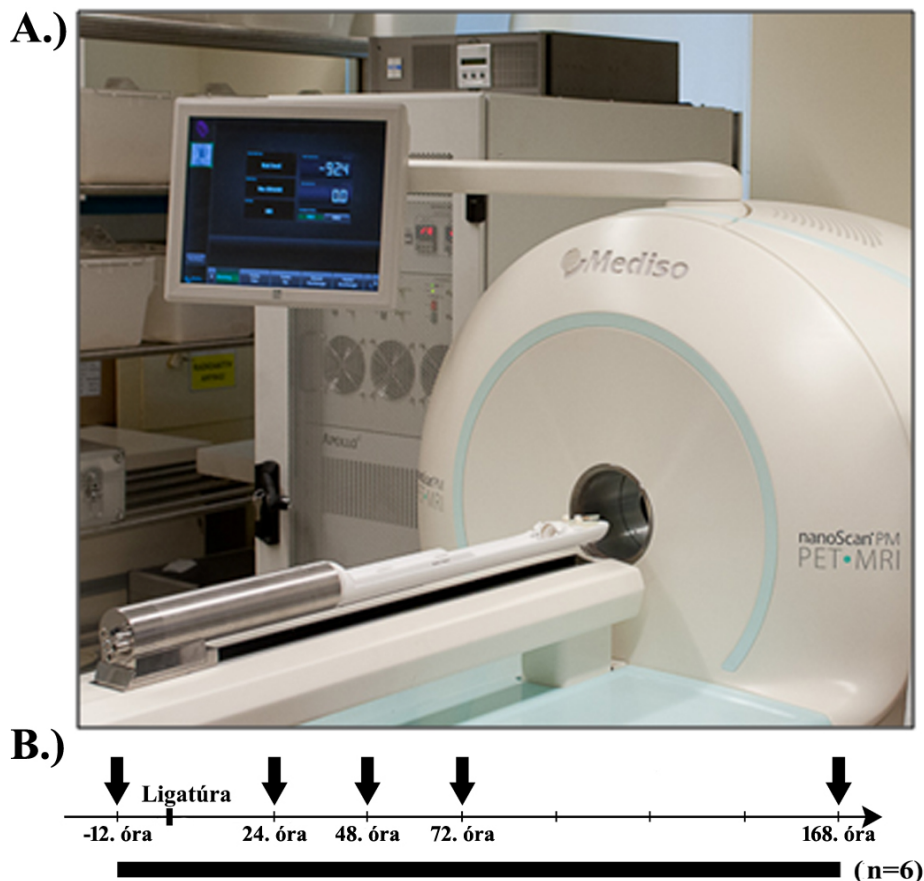
meghatározását (5 perc) követően a bal alsóvégtagra ICG denzitométer erősítettünk. ICG intravénás (vena jugularis) bolus injekciója után a festék plazma eltűnését és biliaris kiválasztását párhuzamosan vizsgáltuk. 150 perc epegyűjtési periódust követően a vena portae főtörzsének direkt punkciójával meghatároztuk a portalis vénás nyomást. A kísérlet végeztével az állatokat a jobb kamrán keresztül kivéztettük, majd szövettani mintavételt végeztünk (a kísérleti elrendezést a 9. ábra foglalja össze).



9. ábra III./A Kísérlet - Kísérleti elrendezés. ICG - indocyanine green (indocianin zöld), PDR - plasma disappearance rate (plazma eltűnési sebesség), R15 - ICG retenció ráta, IRL - inferior right lobe (alsó jobb lateralis lebeny), SRL - superior right lobe (felső jobb lateralis lebeny), ML - median lobe (középső lebeny), LLL - left lateral lobe (bal lateralis lebeny), SCL - superior caudate lobe (felső caudalis lebeny), ICL - inferior caudate lobe (alsó caudalis lebeny), #: vena portae ligatúra, *: epeúti lekötés, nyíl: vizsgálati időpontok.

III./B Kísérlet - glükóz-metabolizmus vizsgálata: a 80%-os vena portae ligatúra kivitelezése megegyezett a fent leírtakkal. A lekötést megelőzően 12 órával, illetve az azt követő 24., 48., 72. és 168. órában az állatok sorozatmérésen (a jelzett időpontokban egyazon állaton végzet mérésorozat) mentek keresztül, mely során a glükóz metabolizmusban bekövetkező változásokat fúziós képalkotásra alkalmas NanoScan

PET/MR készüléssel (Mediso Kft., Budapest, Magyarország, 10. ábra) vizsgáltuk. A mérések általános anesztézia (2vol%-os izoflurán) mellett történtek. A vizsgálatok alatt az állatok speciális ketrecben (MultiCell Imaging Chamber, Mediso Kft., Budapest, Magyarország) kerültek rögzítésre a mozgásból származó műtermék-képződés megelőzése és a megfelelő pozicionálás céljából. A dinamikus PET méréseket megelőzően 0,2ml, $6,5 \pm 1,0$ MBq radioaktivitású 2-deoxi-2- (^{18}F) fluoro-D-glükóz (FDG) került beadásra a farokvénán keresztül. A mérések között az állatok visszakerültek ketrecükbe és fájdalomcsillapításként napi 0,1mg/ttkg buprenorfint kaptak.



10. ábra A.) NanoScan PET/MR - Nanobiotechnológiai és In Vivo Képkalkotó Centrum, Semmelweis Egyetem.
B.) Kísérleti elrendezés (nyíl: PET/MR képkalkotás ideje).

(forrás: <http://semmelweis.hu/hirek/2012/10/30/kombinalt-petmri-kepalkoto-berendezes-a-biofizikai-es-sugarbiologiai-intezetben/>)

3.2. Morfológiai változások vizsgálata

3.2.1. Májtömeg mérés - Regenerációs ráta számítás

Az állatok terminálását követően a májat eltávolítottuk, majd az egyes lebenycsoportok (lekötött, illetve nem-lekötött) nedves tömegét laboratóriumi mérleg segítségével meghatároztuk (Mettler Toledo AG 245, Mettler-Toledo, LLC, Columbus, OH, Amerikai Egyesült Államok). Az adatok kiértékelése során a relatív lebeny tömeget a következő képlet segítségével fejeztük ki: máj tömeg (g) / 100 g testtömeg (terminálás előtti).

A tömegváltozás pontosabb jellemzése végett kiszámoltuk az egyes májlebenyekre jellemző regenerációs rátát, mely a termináláskor mért relatív májtömegnek a kontrol állatok (0. óra) relatív májtömegéhez viszonyított %-os aránya: regenerációs ráta (RR) = (termináláskori májtömeg / kontrol (0.óra) májtömeg) * 100

3.2.2. Májszöveti nedvességtartalom

A máj nedvességtartalmának meghatározása a szövettani mintavételt követően visszamaradt maradék májszövetből történt. A lebenyek nedves tömegét a mintavételt követően közvetlenül megmértük, majd a májszöveteket +80°C-on 3 napig szárítottuk. Ezt követően az kiszáradt májminták tömegét újra meghatározva, a következő képlet segítségével a májszövet nedvességtartalma meghatározható volt: (nedves tömeg – száraz tömeg) / nedves tömeg * 100

3.2.3. Szövettani változások vizsgálata

A lebenyek nedves tömegének meghatározását követően a lekötött (LLL) és nem-lekötött (RLL) lebenyek azonos anatómiai lokalizációjából szövettani mintavétel történt. A mintákat 4%-os formalinban való 24 órás fixálást követően paraffinba ágyasztuk. A szövettani vizsgálatok 3-5µm vastag metszeteken, hematoxilin-eozin (HE) festést követően konvencionális fénymikroszkóp (Olympus BX50 mikroszkóp Olympus DP70 kamerával felszerelve, Olympus Corporation, Tokió, Japán) segítségével történtek. A májsejt-károsodás szemikvantitatív kiértékeléséhez a Suzuki és munkatársai által leírt metodika módosított változatát alkalmaztuk, mely a necrosis súlyosságát egy 0-4 terjedő skála segítségével jellemzi [105,106]: 0 - necrosis hiánya,

1 - "egy sejtes" necrosis, 2 - a lobulusok kevesebb mint 30%-át érintő necrosis, 3 - a lobulusok 31-59%-át érintő necrosis, 4 - a lobulusok több mint 60%-át érintő necrosis.

Az apoptosis és mitotikus aktivitás megítélésére immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk. A deparaffinált szövetet rehidráltuk, az endogén peroxidáz aktivitást 3%-os hidrogén peroxidban blokkoltuk, majd TRIS-EDTA pufferes (pH 9,0) antigén feltárást végeztünk mikrohullámú sütővel (20 perc). PBS-es (Phosphate Buffered Saline) mosást követően - az aspecifikus kötődés megakadályozására - a szövetet 1,5%-os kecskeszérummal blokkoltuk (30 perc, szobahőmérsékleten), majd aktív kaszpáz-3 (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, Amerikai Egyesült Államok), illetve Ki-67 (DAKO, Glostrup, Dánia) ellenes antitestekkel inkubáltuk egy éjszakán át, 4°C-on. PBS-sel való bőséges mosást követően, a metszeteket biotinizált szekunder antitesttel kezeltük. Az immunreakciót avidin-biotin-peroxidáz komplex és diaminobenzidin segítségével tettük láthatóvá. A metszetek vizsgálata során 10 egymást nem fedő, véletlenszerűen kiválasztott látótérben (200x) határoztuk meg a pozitív sejtek számát, majd a kapott értékeket átlagoltuk.

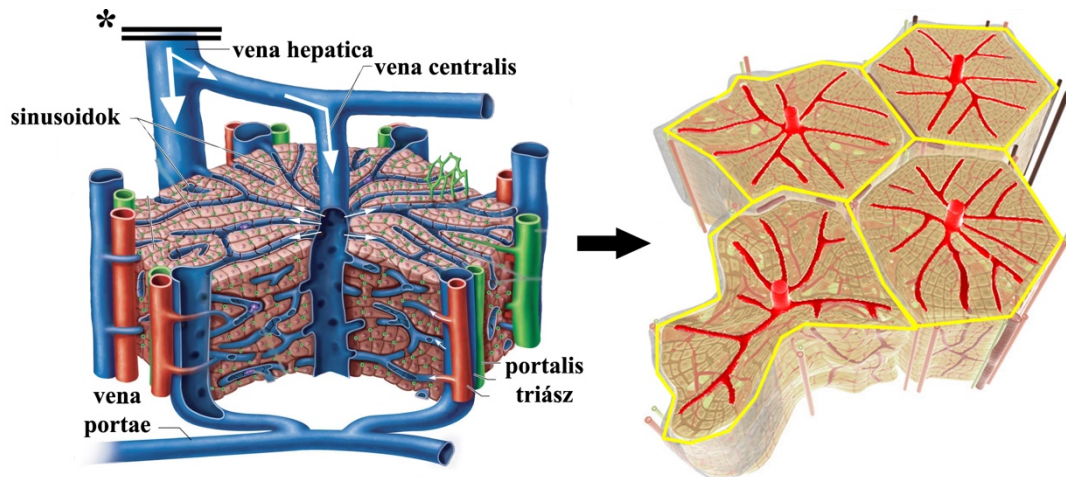
A májsejtek glikogén tartalmának meghatározásához perjódsvav-Schiff (PAS) festést végeztünk. A festés intenzitását egy 0-5 terjedő skálán (0: nincs festődés - 5: erősen pozitív festődés) értékeltük metszetenként három át nem fedő látótérben.

A fenti vizsgálatokat a máj kórszövetében jártas patológus végezte, aki a minták jelzését nem ismerte, a csoportbeosztás, a mintavétel ideje tekintetében nem volt tájékozott.

3.2.4. Lobulusok méretének meghatározása

A lobulusok méretének meghatározására a vena portae ligatúrát megelőzően (kontroll, 0. óra), illetve az azt követő 168. órában került sor Papp és munkatársai által korábban publikált metodika alapján [107,108]: a vena cava inferiorba heparinnal átöblített, 18G-s kanült helyeztünk, majd a vena portae átvágtuk és a vena cava inferiort suprahepaticusan lekötöttük. A vena cava kanülon keresztül - a lekötés következtében retrográd módon - a vena centralisokat egy fluoreszcens festéket tartalmazó polisztirol műgyantával feltöltöttük. A feltöltést - sztereomikroszkóp alatt ellenőrizve - akkor állítottuk le, mikor a gyanta a máj felszínén is látható sinusoidokat már részben kitöltötte. Ezt követően a vizsgálni kívánt lebenyeket (RLL (nem-lekötött) és LLL

(lekötött) eltávolítottuk és a lebenyek felszínéről inverz konfokális mikroszkóp (Bio-Rad MRC1024, Richmond, CA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével felvételeket készítettünk. A felvételeken a vena centralisokban és sinusoidokban lévő fluoreszcensen világító gyanta kirajzolta az interlobularis határvonalakat, így az elkészült képeken Image J program (NIH, Bethesda, MD, Amerikai Egyesült Államok) segítségével a lobulusok kerülete és területe könnyen meghatározhatóvá vált (11. ábra).



11. ábra A máj lobulusok méretbeli változásának meghatározása. A vena cava inferior suprahepaticus szakaszának lekötése (áramlási blokk, *) lehetővé teszi a máj lobulusok közepén elhelyezkedő vena centralisokon keresztül a máj sinusoidok retrográd feltöltését (bal oldal, fehér nyíl). Így a fluoreszcens gyantával feltöltött sinusoidok kirajzolják az intralobularis határvonalakat (jobb oldal, sárga vonal), lehetővé téve a lobulusok méretének meghatározását.

(ábra alapja: [https:// cms.webstudy.com/ WebstudyFileSystem/ testovaci/ GetFile/ 293875/ Ch%2022/ Ch22b/ Ch22b_print.html](https://cms.webstudy.com/WebstudyFileSystem/testovaci/GetFile/293875/Ch%2022/Ch22b/Ch22b_print.html))

3.3. Keringési változások vizsgálata

3.3.1. Artériás középnyomás

A III./A kísérletek során a máj keringési és funkcionális paramétereinek meghatározása közben az artériás középnyomást, egy az arteria carotisba vezetett polietilén kanülhöz csatlakoztatott vérnyomásmérő berendezés (Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, Amerikai Egyesült Államok) segítségével, folyamatosan regisztráltuk. A mérések végén az adatok rögzítése és statisztikai feldolgozása Microsoft Excell (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerikai Egyesült Államok) táblázatban történt. Az eredmények ábrázolása és a statisztikai számítások elvégzése kapcsán a kísérletek első 30 percében mért nyomásértékeknek az átlagát használtuk.

3.3.2. Portalis vénás nyomás

Az I., valamint III./A kísérletek alkalmával, közvetlenül az állatok leölését megelőzően a vena portae főtörzsének (a vena lienalis beömlésétől 1-2mm-re) direkt punkcióját végeztük az állatok portalis vénás nyomásának regisztrálása végett (Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, Amerikai Egyesült Államok). Az adatok rögzítésére és feldolgozására Microsoft Excell (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerikai Egyesült Államok) táblázatban került sor. Az eredmények kiértékelése során az 5 perces mérési periódus alatt kapott adatok átlagával számoltunk.

3.3.3. Máj mikrocirkuláció

A lekött (LLL) és nem-lekött (RLL) májlebenyek mikrocirkulációja lézer Doppler áramlásmérő (MOOR Instruments Ltd, London, Anglia, DRT4, kétcsatornás eszköz, $\lambda = 632,8$ nm, monokromatikus, 2 mW HeliumNeon lézer) segítségével került meghatározásra. A műszer Doppler-elv alapján működik. A készülék által kibocsátott lézerfény a mozgó vörösvértestekről visszaverődik, miközben a lézer frekvenciája megváltozik. A frekvenciaváltozás mértéke arányos a vizsgált szövetben mozgó vörösvértestek számával és áramlási sebességével. Így az eszköz on-line adatregisztrációval regisztrálja a mérőfej alatti kb. 1 mm³-es szövetben az átlagos áramlást, vörösvértest koncentrációt, továbbá a hőmérsékletet.

III./A. Kísérlet alkalmával a máj mikrocirkulációjának meghatározására a vena portae ligatúrát megelőzően, közvetlenül a lekötés után, illetve a beavatkozást követő 24., 48., 72., 120., 168. órában került sor. A has megnyitását követően a lekött és nem-lekött lebenyek áramlását párhuzamosan vizsgáltuk. Az áramlásmérő mérőfejét a lebenyek felszínén rögzítve, a mikrocirkulációt 5 percig detektáltuk. Egy-egy lebenyen legalább 4 különböző ponton történt áramlásmérés (teljes mérési idő 20 perc), mely mérési eredmények átlaga jó közelítéssel jellemzi a lebeny mikrocirkulációs állapotát [109].

3.4. Funkcionális változások vizsgálata

3.4.1. Konvencionális laboratóriumi vértesztek

A jobb kamrai punkcióból nyert vérminta 10 perces, szobahőmérsékleten történő centrifugálását (3000 rpm, Hermle Z 206 A centrifuga, Hermle Labortechnik

GmbH, Wehingen, Németország) követően, a sejtmentes felülúszót folyékony nitrogénben gyorsfagyasztottuk, majd -80°C -on tároltuk. A laboratóriumi mérések a mintavételt követően 24 órán belül megtörténtek, mely során laboratóriumi automata (Beckman Coulter AU480/2011, Beckman Coulter Inc, Brea, CA, Amerikai Egyesült Államok) segítségével meghatároztuk a szérum albumin, össz-bilirubin, valamint transzamináz (alanin-aminotranszferáz (ALAT), aszpartát-aminotranszferáz (ASAT)) szinteket.

3.4.2. ICG-clearance teszt

A globális májfunkció jellemzésére indocianin zöld (ICG) clearance tesztet végeztünk. A III/A. Kísérlet során az ICG plazma koncentrációját non-invazív módon, kereskedelmi forgalomban kapható denzitométer (PC5000 LiMON, Pulsion Medical Systems, München, Németország) segítségével detektáltuk. Az eszközhöz tartozó neonatalis mérőfejet (PV50200 egyszerhasználatos, neonatalis mérőfej, Pulsion Medical Systems, München, Németország) körkörös kötés segítségével az állatok előzetesen leborotvált bal alsóvégtagján rögzítettük, majd 1ml/ttkg, 1,5 mg/ml koncentrációjú ICG oldat beadására került sor a jobb oldali vena jugularison keresztül. Intravénás bolus injekciót követően a festék koncentrációja mono-exponenciálisan csökken. A görbe meredekségéből 6 perces regisztrációs periódust követően az eszköz automata módon kalkulálja az ICG plazma eltűnési sebességét (plasma disappearance rate, PDR, %/perc) valamint a beadást követő 15. percben visszamaradó ICG %-os arányát (ICG retenciós ráta, R15, %). Az adatok nyomtatását követően a kapott eredményeket digitálisan rögzítettük és elemeztük.

3.4.3. Epetermelés és biliaris ICG exkréció meghatározása

Az egyes lebenycsoportok epetermelését és az epeszekréció mértékét szelektív epeúti drenázs segítségével vizsgáltuk (lásd műtét menete, 3.1.7.2. fejezet). Az egyes lebenycsoportok által elválasztott natív (ICG-t még nem tartalmazó) epe 10 perces gyűjtését követően, ICG intravénás bolus injekciója történt. A fluoreszcens festék beadása után a kiválasztott epét előre meghatározott tömegű, fényvédett Eppendorf csövekben gyűjtöttük, kezdetben 5 (első 40 perc) majd 10 perces (40-150. perc) időintervallumokban. A kiválasztott epe mennyiségét (ml) az Eppendorf csövek tömegének újbóli lemérését követően, gravimetriás módszer segítségével határoztuk

meg, az epe 1g/ml-es sűrűségét alapul véve [110]. Az epe kiválasztás mértékét a percnként kiválasztott epe mennyiségével fejeztük ki, melyet részben a testtömeghez ($\mu\text{l}/\text{perc}/\text{ttkg}$), részben pedig az adott májlebens tömegéhez ($\mu\text{l}/\text{perc}/\text{g}$ máj) viszonyítottunk. Az epe mennyiségének meghatározását követően a mintákat centrifugáltuk (10 perc, 3000 rpm, Hermle Z 206 A centrifuga, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Németország), majd a felülúszót 1:4 arányban desztillált víz segítségével hígítottuk és további vizsgálatokig -80°C -on tároltuk. Az egyes minták ICG koncentrációjának vizsgálatára 24 órán belül sor került spektrofotometriás módszer segítségével 805 nm-es hullámhosszon (Zenith 200rt spektrofotométer; Anthos Labtec Instruments GmbH, Salzburg, Ausztria). A mérések során kapott koncentrációs görbék segítségével meghatároztuk az egyes lebenycsoportok által elválasztott epe maximális ICG koncentrációját (C_{MAX}) és a hozzá tartozó időt (T_{MAX}). Továbbá az ICG koncentrációt a kiválasztott epe mennyiségével megszorozva kiszámoltuk a biliaris ICG szekréció mértékét. A számítások során az adott lebenycsoport által az első 20 percen kiválasztott ICG mennyiségét a teljes beadott ICG mennyiségének százalékos arányában fejeztük ki (ICG exkréciós ráta, ICG_{EX}).

3.4.4. Glükóz metabolizmus vizsgálata (PET/MR)

PET/MR felvételeket szekvenciális kisállat képalkotó rendszer (nanoScan PET/MR, Mediso Kft, Magyarország) segítségével készítettük $6,5 \pm 1,0 \text{ MBq}$ aktivitású FDG intravénás beadását követően (0,2 ml). A tracer beadása előtt minden esetben megmértük az állatok vércukorszintjét. A dinamikus PET mérések adatait háromdimenziós adatrögzítési módban rögzítettük. A méréseket minden alkalommal 60 percig $10 \times 30\text{s}$, $10 \times 60\text{s}$, $10 \times 270\text{s}$ időablakkal (mérésenként összesen 30 időablak) végeztük. A voxel méret egységesen 0,3mm volt minden mérés esetében. Az MR képalkotást (mátrix felbontás 140×140 , 0,5mm, 30 szelet, 1,3mm, gap vastagság 0,5mm) 50 percig végeztük (25 perc minden egyes képalkotásra) T1 (FSE2D, TR/TE 800/10ms, FOV 70mm, NEX 4) T2 (FSE2D, TR/TE 4733/60ms NEX 2) súlyozott szekvenciákkal. A rekonstrukció OSEM 3D algoritmus szerint történt. A rekonstruált, reorientált és párhuzamosan regisztrált PET és MR képeket tovább elemeztük a Fusion (Mediso Kft, Magyarország) és VivoQuant (inviCRO LLC, Amerikai Egyesült Államok) dedikált képelemző szoftverek segítségével a megfelelő VOI (volume of interest) kijelölését követően. Szeletenként két VOI körülhatárolását végeztük

manuálisan a T1 súlyozott felvételeken, egy a nem-lekötött, egy a lekötött lebenyek területén. A volumetriai mérésekhez a VivoQuant szoftver beépített VOI elemző programját alkalmaztuk, mely a kérdéses VOI területén található voxelek számából és méretéből határozza meg a kérdéses térfogatot. Az FDG felvétel meghatározására kiszámoltuk a standardizált felvételi értéket (standardized uptake value, SUV), mely detektált átlagos radioaktivitás koncentráció (MBq/ml) és a testtömegre normalizált beadott dózis (MBq/g) hányadosa. A lekötött és nem-lekötött lebenyekre jellemző SUV-t egy referencia szövet (bal kamra, $SUV_{VOI}/SUV_{bal\ kamra}$) és a teljes máj átlagos SUV értékeihez viszonyítottuk ($SUV_{VOI}/SUV_{teljes\ máj}$).

3.5. Statisztika

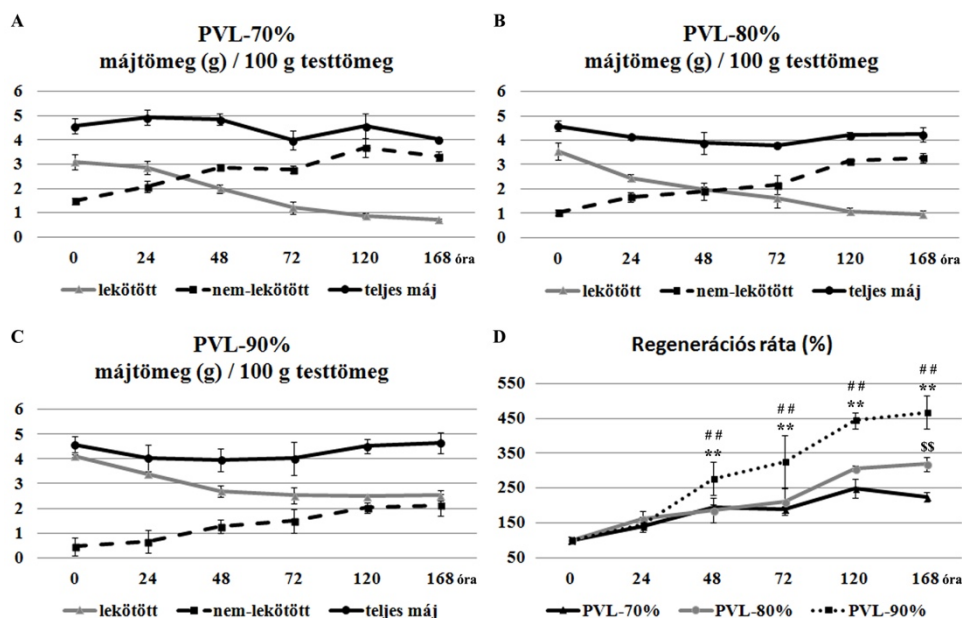
A minták normál eloszlását Sapiro-Wilk teszt segítségével vizsgáltuk. Ennek megfelelően a csoportok közötti, valamint egyes csoportokon belüli különbségek kimutatására egy-, illetve kétutas ANOVA-t alkalmaztunk, melynek során Bonferroni poszt hoc analízist végeztünk. A statisztikai vizsgálatok során IBM SPSS Statistics 20.0 szoftver (IBM Corporation, Armonk, NY, Amerikai Egyesült Államok) használtunk. A táblázatokban, grafikonokon a mérések eredményének átlagát és a standard deviációt ($\pm SD$) fejeztük ki. Az átlagértékek közötti különbségeket $p < 0,05$ konfidencia intervallum esetén tekintettük szignifikánsnak. Az adatok grafikus megjelenítését Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerikai Egyesült Államok) szoftver segítségével végeztük el.

4. EREDMÉNYEK

4.1. I. Kísérlet eredményei - különböző mértékű (70-80-90%) ligatúra májregenerációra gyakorolt hatásának vizsgálata

4.1.1. Májlebenyek tömegváltozása - regenerációs ráta

Technikailag mindhárom modell (70%-os, 80%-os, 90%-os ligatúra) megvalósíthatónk bizonyult, mortalitás egyik kísérleti csoportban sem volt megfigyelhető. Csoportbeosztástól függetlenül a máj össztömege szignifikáns mértékben nem változott a kísérletek alatt. Ezzel szemben a nem-lekötött lebenyek tömege mindhárom csoportban számottevően megnövekedett. A lebenyek 100 gramm testtömegre vonatkoztatott relatív tömege 70%-os, 80%-os, 90%-os lekötést követő 168. órára $1,50 \pm 0,13$, $1,00 \pm 0,12$, $0,50 \pm 0,05$ g/100g testtömeg kiindulási értékről rendre $3,30 \pm 0,2$, $3,20 \pm 0,21$, $2,10 \pm 0,22$ g/100g testtömeg értékre nőtt. Ezzel párhuzamosan a lekötött lebenycsoportban a májtömeg folyamatos csökkenése volt megfigyelhető, melynek eredményeképp a 70%-os, 80%-os, 90%-os lekötést követő 168. órára a lebenyek relatív tömege $3,10 \pm 0,32$, $3,55 \pm 0,36$, $4,12 \pm 0,36$ g/100g testtömeg értékről $0,72 \pm 0,05$, $0,97 \pm 0,16$, $2,55 \pm 0,43$ g/100g testtömeg értékre csökkent (12. ábra A-C).



12. ábra (A-C) A 100g testtömegre vonatkoztatott relatív májtömegek változása az egyes kísérleti csoportokban. (D) A nem-lekötött lebenycsoportra jellemző regenerációs ráta alakulása az egyes kísérleti csoportokban. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 4 állat átlagát jelenti meg. **= $p < 0,01$ vs. PVL-80% csoport az adott időpontban, ###= $p < 0,01$ vs. PVL-70% csoport az adott időpontban, \$\$= $p < 0,01$ vs. PVL-70% csoport az adott időpontban.

A nem-lekötött lebenyek tömeggyarapodására jellemző regenerációs rátákat kiszámítva megállapítható, hogy a PVL-90% csoportban a lebenyek regenerációja a műtétet követő 48. órától szignifikáns mértékben meghaladta mind a PVL-80% ($p<0,01$), mind a PVL-70% ($p<0,01$) csoportban látottakat, a kísérleti periódus végére a kiindulási érték 468 ± 48 százalékát érve el. A regenerációs ráta értéke a PVL-80% csoportban a posztoperatív 72. órától ugyancsak felülmúlta a PVL-70% csoportban tapasztalt értékeket, a műtétet követő 168. órára a kezdeti májtömeg 311 ± 37 százalékát érve el, szemben a PVL-70% csoportra jellemző 223 ± 13 százalékos tömegnövekedéssel ($p<0,01$) (12. ábra D).

4.1.2. Májlebenyek szövettani megjelenése - sejtosztódás

A nem-lekötött lebenyek HE festett szövettani metszeteinek vizsgálata során mindhárom kísérleti csoportban az osztódó sejthalakok számának erőteljes növekedését tapasztaltuk. A hepatocyták mitoticus aktivitása a PVL-70% és PVL-80% csoportokban a vena portae ligatúrát követő 48. órára érte el a csúcsertékét, míg a PVL-90% csoport esetén a sejtosztódás maximuma már a műtétet követő 24. órában megfigyelhető volt. Ekkor a PVL-90% csoportban tapasztalt mitoticus aktivitás ($96\pm 3,46$ osztódó sejt/látótér) szignifikáns mértékben meghaladta mind a PVL-80% ($54,67\pm 4,04$ osztódó sejt/látótér, $p<0,01$), mind a PVL-70% ($31,33\pm 4,04$ osztódó sejt/látótér, $p<0,01$) csoportban látottakat. A lekötést követő 24. és 48. órát követően a lebenyekre jellemző fokozott sejtosztódás folyamatosan lecsengett és az osztódó sejtek száma a 168. órában szignifikáns mértékben már egyik csoport esetén sem különbözött a műtét előtt tapasztalt értéktől (13. ábra A).

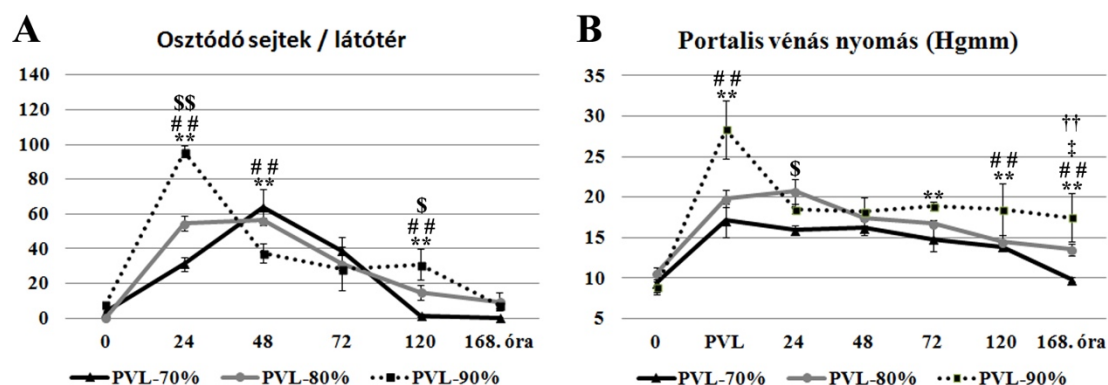
Ezzel szemben a lekötött lebenyekben egyik kísérleti csoport esetén sem tapasztaltunk fokozott mitoticus aktivitást. Ugyanakkor a műtétet követő 24. órában mindhárom csoportban jelentős kiterjedésű, többnyire centrolobularis lokalizációjú necroticus léziók jelentek meg, melyek a műtétet követő 168. órára teljesen felszívódtak, helyreállítva a normális májstruktúrát.

4.1.3. Portalis vénás nyomás

A vena portae ligatúra következtében mindhárom kísérleti csoportban a portalis vénás nyomás azonnali, drasztikus emelkedése volt detektálható (PVL-70%: $17,12\pm 2,03$ Hgmm, PVL-80%: $19,8\pm 1,05$ Hgmm, PVL-90%: $28,39\pm 3,6$ Hgmm). A

PVL-90% csoport nyomásemelkedése szignifikáns mértékben meghaladta mind a PVL-80% ($p<0,01$), mind a PVL-70% ($p<0,01$) csoportban látottakat. Ezt követően valamennyi vizsgálati csoportban a portalis vénás nyomás fokozatos csökkenése volt megfigyelhető. Ugyanakkor, amíg a PVL-70% csoportban a műtétet követő 168. órára visszatért a ligatúrát megelőzően tapasztalt nyomásérték, addig a PVL-80% és PVL-90% csoportokban a portalis vénás nyomás továbbra is szignifikáns mértékben meghaladta a kezdeti értékeket (PVL-80% $p=0,012$, PVL-90% $p<0,01$) (13. ábra B).

Az egyes kísérleti csoportokban a vena portae ligatúrát követő akut portalis vénás nyomásváltozás és a 24. órában tapasztalt sejtosztódás mértéke között Pearson féle korrelációs vizsgálattal szoros lineáris összefüggés ($r=0,932$) volt kimutatható.



13. ábra (A) A mitotikus aktivitás vena portae ligatúrát követő fokozódása az egyes kísérleti csoportokban. (B) Portalis vénás nyomás alakulása a vena portae ligatúrát követően az egyes kísérleti csoportokban. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 4 állat átlagát jeleníti meg. **= $p<0,01$ PVL-70% vs. PVL-90% csoport az adott időpontban, ###= $p<0,01$ PVL-80% vs. PVL-90% csoport az adott időpontban, \$= $p<0,05$ PVL-80% vs. PVL-70% csoport az adott időpontban, \$\$= $p<0,01$ PVL-80% vs. PVL-70% csoport az adott időpontban, ††= $p<0,01$ vs. PVL-90% csoport kontrol (0. óra) értéke, ‡ $p<0,05$ vs. PVL-80% csoport kontrol (0. óra) értéke.

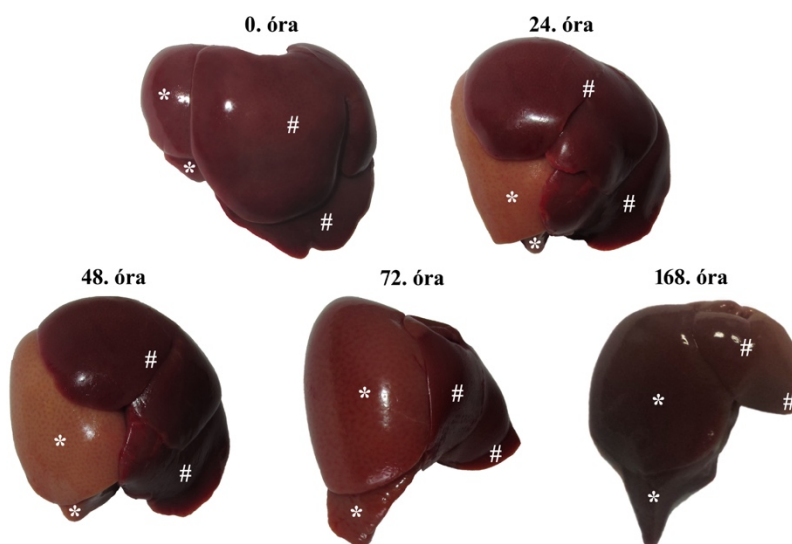
4.1.4. Lép tömegváltozás

A lép tömege ligatúrát követően mindhárom csoportban megnövekedett. A legnagyobb növekmény a PVL-90% csoportban volt megfigyelhető (0. óra: $0,3\pm 0,02$ g/100g testtömeg vs. 168.óra: $0,49\pm 0,07$ g/100g testtömeg, $p<0,01$), mely szignifikáns mértékben meghaladta mind a PVL-80% (PVL-80% 168. óra: $0,41\pm 0,02$ g/100g testtömeg, $p<0,01$), mind a PVL-70% csoportban (PVL-70% 168. óra: $0,44\pm 0,03$ g/100g testtömeg, $p<0,01$) látottakat.

4.2. II. Kísérlet - morfológiai változások részletes vizsgálata

4.2.1. A májlebenyek makroszkópos megjelenése - tömegváltozása

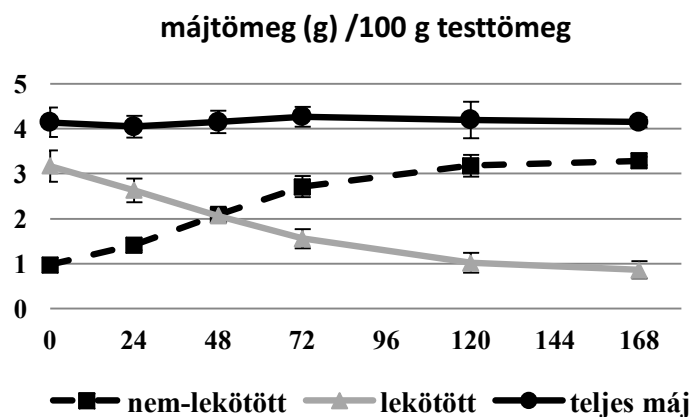
Vena portae ligatúrát követően az egyes lebenycsoportok makroszkópos megjelenése, anatómiai elhelyezkedés jelentősen megváltozott. A portalis keringésből továbbra is részesedő lebenyek mérete számottevően megnövekedett, melynek következtében a posztoperatív 168. órára a lebenyek a jobb hypochondriumot szinte teljesen kitöltve, a máj tengelyét enyhén jobbra rotálva, mélyen lenyúltak a bordaív alá. A lebenyek a leköttést követő kezdeti napokban törékenyek, világos színűnek mutatkoztak, felszínükön a vena centralisok rajzolata jól kivehető volt. Ezzel ellentétben a portalis keringéstől megfosztott lebenyek számottevően megkisebbedtek, sötét színűvé váltak. A lebenyek felszínén az első két posztoperatív napon kisebb-nagyobb kiterjedésű necroticus léziók voltak megfigyelhetők (14. ábra).



14. ábra A májlebenyek makroszkópos megjelenése a vena portae ligatúrát követő első egy hétben. *: nem-lekötött lebenyek, #: lekötött lebenyek.

Az egyes lebenycsoportok tömegének meghatározása során az I. kísérlet alkalmával látottakhoz hasonló mértékű változásokat tapasztaltunk. A lekötött lebenyek tömege a ligatúra hatására jelentősen lecsökkent, a posztoperatív 168. órára a kiindulási érték közel egy negyedét érve el (0.óra: $3,17 \pm 0,39$ g/100g testtömeg vs. 168. óra: $0,86 \pm 0,19$ g/100g testtömeg). Ezzel szemben a nem-lekötött lebenyek kompenzatórikus hypertrophiája volt megfigyelhető, melynek eredményeként a lebenyek kezdeti tömegük több mint háromszorosát érték el (0.óra: $0,97 \pm 0,08$ g/100g testtömeg vs. 168.

óra: $3,28 \pm 0,09 \text{g}/100 \text{g}$ testtömeg). Az atrophia és hypertrophia közti egyensúly következtében a máj teljes tömege szignifikáns mértékben nem változott a kísérlet alatt (15. ábra).



15. ábra A májlebenyek tömegváltozása a vena portae ligatúrát követő első egy hét alatt. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg.

4.2.2. Májszöveti nedvességtartalom változása

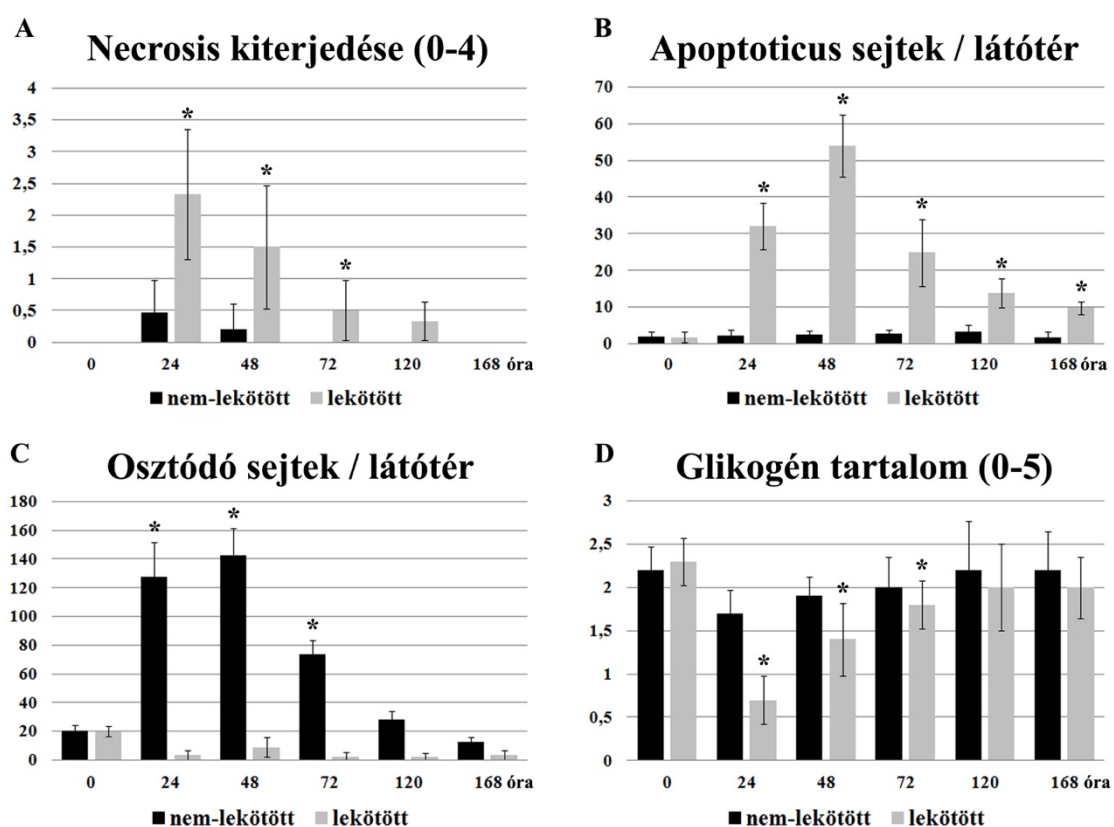
Vizsgálataink során enyhe nedvességtartalom növekedés mindkét lebenycsoport esetében megfigyelhető volt, mely maximális értékét a műtét követő 120. órában érte el (nem-lekötött lebeny 0. óra: $72,08 \pm 1,62\%$ vs. 120. óra $73,13 \pm 1,23\%$, lekötött lebeny 0. óra: $71,98 \pm 1,52\%$ vs. 120. óra $73,76 \pm 2,25\%$). Ugyanakkor szignifikáns nedvességtartalom változás sem a lekötött, sem a nem-lekötött lebenyekben tekintetében nem volt kimutatható.

4.2.3. A májlebenyek szöveti megjelenése

A hematoxin-eozin metszetek vizsgálata során, a lekötött lebenyekben intenzív, többnyire centrolobularis lokalizációjú, necroticus sejtpusztulás volt megfigyelhető. A necroticus területek legnagyobb kiterjedésüket a posztoperatív 24. órában érték el (szemikvantitatív score: $2,34 \pm 1,02$, a lebenyek összterületének közel 35-40%-a, 16. ábra A, 17. ábra A). Ezt követően gyulladással sejtek fokozott szöveti megjelenésével párhuzamosan a necroticus területek aránya fokozatosan csökkent és a műtétet követő 168. órára helyreállt a normális májstruktúra, postnecroticus fibrosis megjelenése nélkül. Ugyanakkor a lobulusok határán lévő portalis triádokra a vena

portae falának megvastagodása, az epeút és az arteria hepatica kifejezett tágulata volt a jellemző.

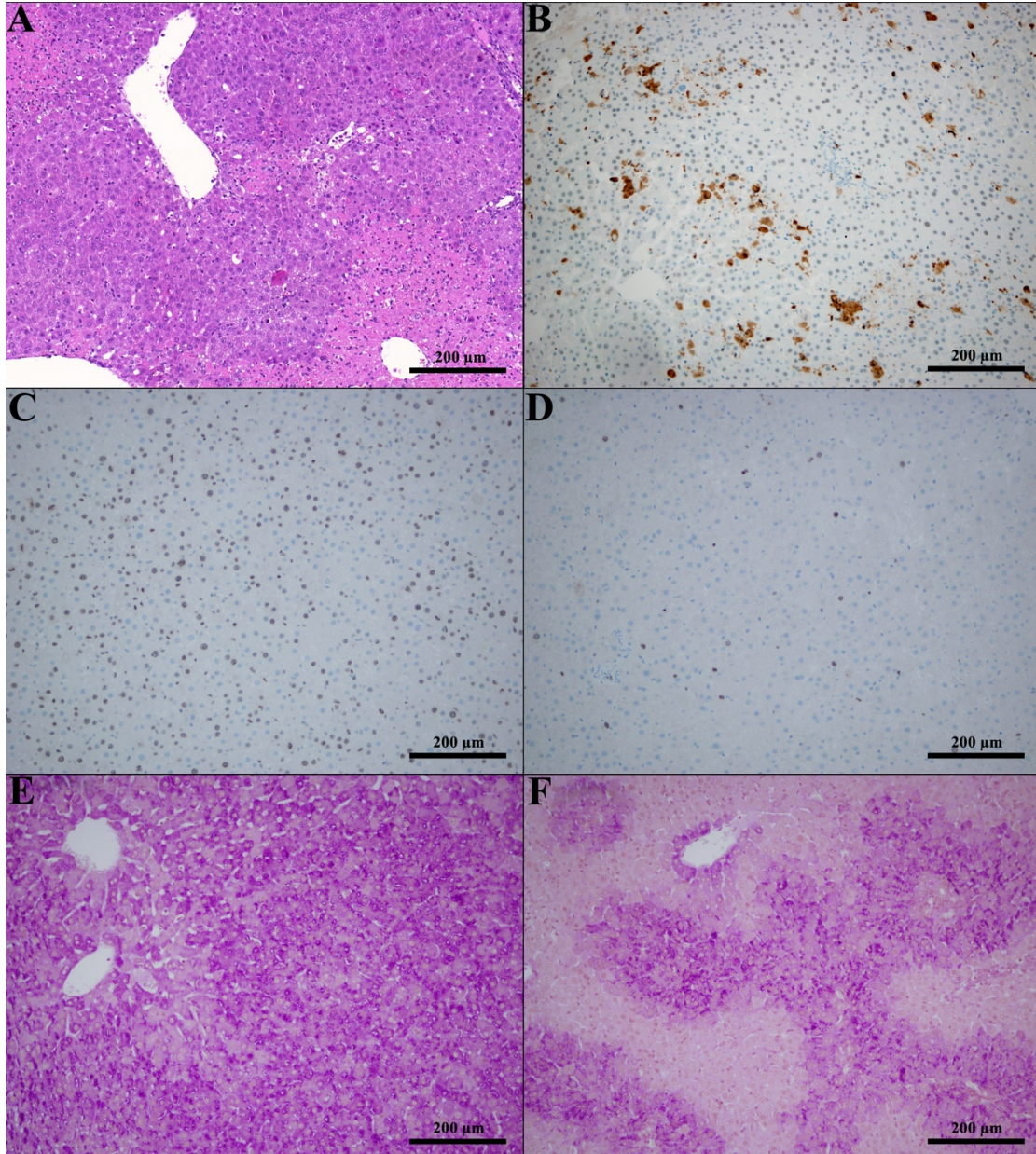
A necrosis mellett az apoptoticus sejtek száma szintén jelentős mértékben megemelkedett a lekötött lebenyek területén. Az aktív kaszpáz-3 ellenes antitestekkel végzett immunfestés alapján az apoptosis mértéke a posztoperatív 48. órára érte el csúcsertékét ($54 \pm 8,39$ pozitív sejt/látótér, 16. ábra B, 17. ábra B). Ezt követően a pozitív festődést mutató sejtek száma fokozatosan csökkent, ugyanakkor a vizsgált periódus végéig (168. óra) szignifikáns mértékben emelkedett maradt a lebenycsoport kiindulási értékéhez képest ($p=0,03$) (16. ábra B).



16. ábra Szöveti változások mértéke a vizsgált időpontokban. (A) Necrosis kiterjedése 0-4 terjedő szemikvantitatív skálán. (B) Apoptoticus sejtek száma kaszpáz-3 immunhisztokémiai festés alapján (10 random látótér (200x) átlaga). (C) Mitoticus sejtek száma Ki-67 immunhisztokémiai festés alapján (10 random látótér (200x) átlaga). (D) Sejtek glikogén tartalma 0-5 terjedő szemikvantitatív skálán (perjódsvav-Shiff festés). A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden oszlop 6 állat átlagát jeleníti meg. * = $p < 0,05$ vs. adott lebeny kontrol (0. óra) értéke.

Ezzel szemben a nem-lekötött lebenyekben a necroticus-apoptoticus sejtek száma szignifikáns mértékben nem változott. Ugyanakkor az elvégzett Ki-67 immunfestés alapján, a sejtek mitoticus aktivitása jelentősen fokozódott, csúcsertékét a

műtétet követő 48. órára érve el ($142,33 \pm 18,88$ pozitív sejt/látótér 16. ábra C, 17. ábra C). Ezt követően az osztódó sejtek száma fokozatosan csökkent és a posztoperatív 120. órában már nem különbözött szignifikáns mértékben a kiindulási értéktől (16. ábra C).

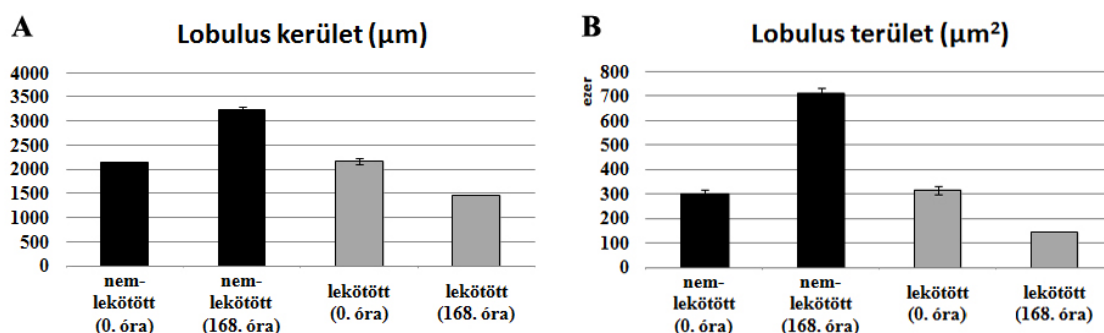


17. ábra (A) A lekötött lebenyekben kiterjedt centrilobularis necrosisok figyelhetők meg 24 órával a vena portae ligatúrát követően. (B) Ekkor az apoptoticus sejtek száma (kaspáz-3 immunfestés) szintén jelentős mértékben megemelkedett. (C) A nem-lekötött lebenyekben a sejtek mitotikus aktivitása drasztikus mértékben fokozódott (Ki-67 immunfestés), (D) míg a lekötött lebenyekben a pozitív festődést mutató (barna) sejtmagok száma szignifikánsan nem változott. (E) 24 órával a vena portae ligatúrát követően a nem-lekötött lebenyekben a perjódsav-Schiff (PAS) festés intenzitása csupán kis mértékben változott, szemben a lekötött lebenyekkel (F), melyekben a PAS pozitív granulumok száma jelentősen lecsökkent.

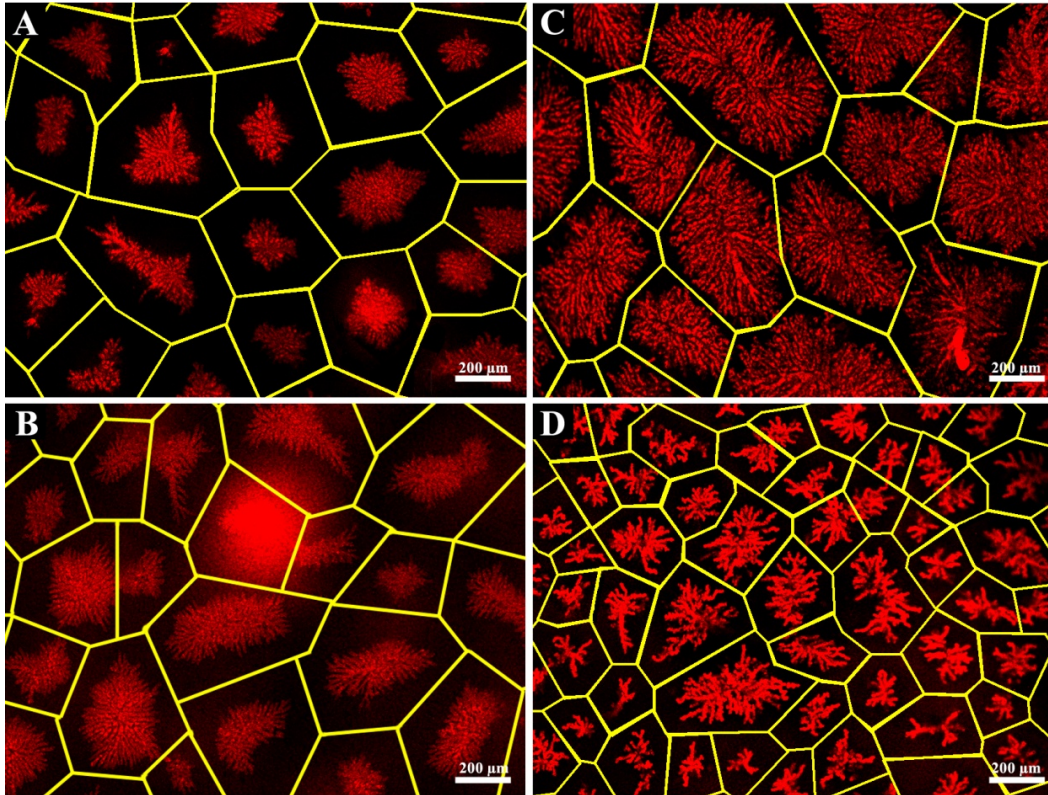
A cellularis glikogén tartalom meghatározására PAS festést végeztünk. A ligatúrát megelőzően a májsejtek egységes, mérsékelt festődését mutattak (nem-lekötött lebenyek: $2,20 \pm 0,27$, lekötött lebenyek: $2,30 \pm 0,27$). A műtétet követő 24. órára azonban a lekötött lebenyek glikogén tartalma csaknem teljesen eltűnt ($0,70 \pm 0,27$) és csak a lekötést követő 120. órára ($2,00 \pm 0,50$) tért vissza a kiindulási értékre. Ezzel szemben a nem-lekötött lebenyekben a PAS pozitív glikogén granulumok mennyisége csupán kis mértékben csökkent, szignifikáns változást egyik vizsgált időpontban sem találtunk (16. ábra D és 17. ábra E-F).

4.2.4. Lobulusok méretének változása

A májfelszíni lobulusok méretének meghatározása a vena centralisok fluoreszcens gyantával történő retrográd feltöltésének segítségével a ligatúrát megelőzően, illetve az azt követő 168. órában történt. Eredményeink alapján a nem-lekötött lebenyek hypertrophiájával párhuzamosan a máj lobulusok kerülete és területe szignifikáns mértékben megnövekedett, a kiindulási érték $1,52$ ($2129 \pm 33 \mu\text{m}$ vs. $3232 \pm 62 \mu\text{m}$), illetve $2,35$ -szörösét ($301428 \pm 13873 \mu\text{m}^2$ vs. $708553 \pm 25531 \mu\text{m}^2$) érve el. Ezzel szemben a lekötött lebenyek lobulusai összezsugorodtak, mialatt a lebenyek átlagos kerülete és területe a kiindulási érték $0,32$ ($2162 \pm 60 \mu\text{m}$ vs. $1467 \pm 9 \mu\text{m}$), illetve $0,54$ -szeresére ($314728 \pm 15693 \mu\text{m}^2$ vs. $145642 \pm 1183 \mu\text{m}^2$) csökkent (18. ábra, 19. ábra).



18. ábra A lobulusok kerületében (A) és területében (B) bekövetkező változások. A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden oszlop 6 állat átlagát jeleníti meg.



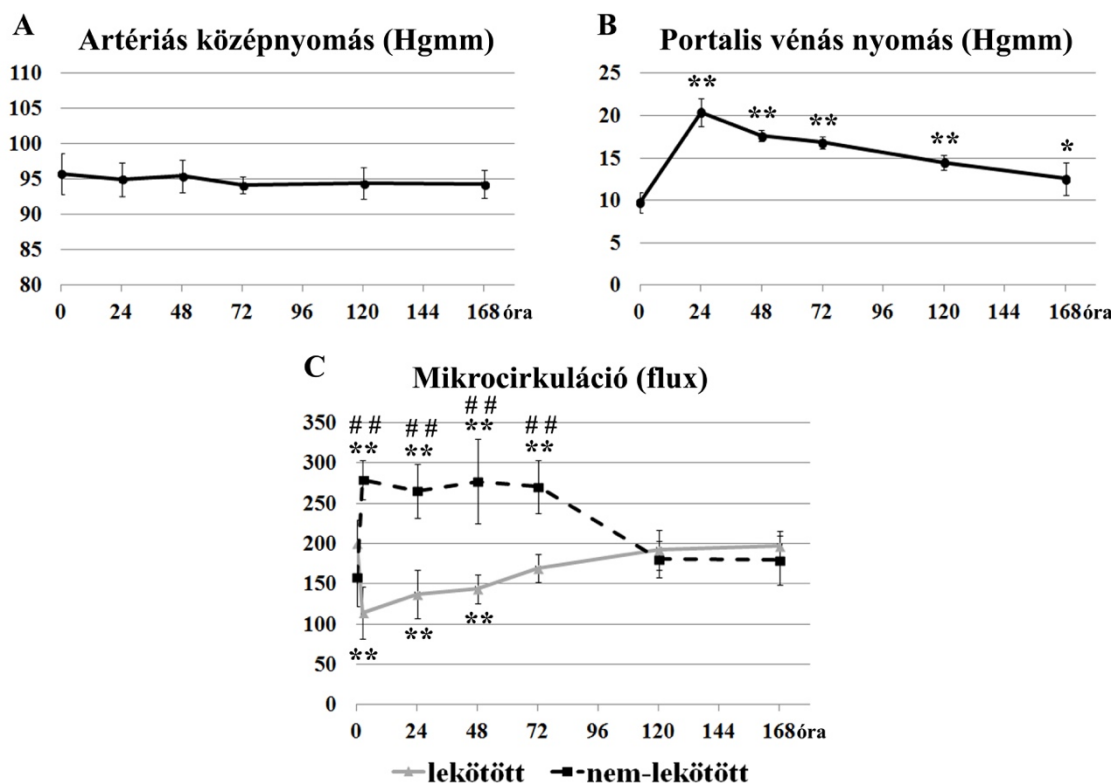
19. ábra Lobulusok méretének változása. (A) A felső jobb laterális (nem-lekötött) lebenyből származó kontroll minta vena portae ligatúrát megelőzően. (B) A bal laterális (lekötött) lebenyből származó kontroll minta vena portae ligatúrát megelőzően. (C) A felső jobb laterális (nem-lekötött) lebenyből származó minta a vena portae ligatúrát követő 168. órában. (D) A bal laterális (lekötött) lebenyből származó minta a vena portae ligatúrát követő 168. órában. Sárga vonal - interlobularis határvonalak.

4.3. III. Kísérlet - keringési és funkcionális változások vizsgálata

4.3.1. Keringési változások

Vena portae ligatúra hatására az artériás középnyomás tekintetében nem következett be szignifikáns mértékű változás. Az egyes vizsgálati időpontokban mért átlagos artériás középnyomás mindvégig a kiindulási érték körül ($95,73 \pm 2,88$ Hgmm) maradt (20. ábra A). Ezzel szemben (az I. kísérlet során megfigyeltékhez hasonlóan) a lekötést követő első napon a portális vénás nyomás szignifikáns mértékben megnövekedett ($20,42 \pm 1,65$ Hgmm, $p < 0,01$ vs. 0. óra) és tartósan a műtétet követő 168. óráig emelkedett maradt ($12,54 \pm 1,91$ Hgmm, $p = 0,02$ vs. 0. óra) (20. ábra B). A lézer Doppler áramlásmérések alapján a nem-lekötött lebenyek mikrocirkulációja a ligatúrát követően szignifikáns mértékben megnövekedett ($158 \pm 35,80$ AU-ról $278,91 \pm 24,46$ AU-ra, 1,76-szoros növekedés) és tartósan, a műtétet követő 72. óráig fokozott maradt. A 120. órától a lebenyek véráramlása azonban már nem különbözött a műtét előtt

tapasztalt értékektől (20. ábra C). Ezzel szemben a lekötött lebecyk mikrocirkulációjaja a ligatúra hatására közel 50%-al károsodott (199,83±29,26AU vs. 113,89±31,9AU), majd a lebecyk véráramlása folyamatosan normalizálódva, a műtétet követő 72. órára visszatért a kiindulási értékre (20. ábra C).



20. ábra (A) Az artériás középnyomás szignifikáns mértékben nem változott a vena portae ligatúrát követően. (B) Ezzel szemben a portális vénás nyomás a műtétet követő 24. órára szignifikáns mértékben megnövekedett és tartósan a kísérlet végéig emelkedett maradt. (C) A ligatúra hatására a nem-lekötött lebecyk mikrocirkulációjaja jelentős mértékben fokozódott, szemben a lekötött lebecykekkel, melyekben számottevő áramlásromlás volt megfigyelhető. A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. **= $p < 0,01$ vs. adott lebecyk kontrol (0. óra) értéke, *= $p < 0,05$ vs. adott lebecyk kontrol (0. óra) értéke, ###= $p < 0,01$ vs. lekötött lebecyk az adott időpontban.

4.3.2. Konvencionális laboratórium vértesztek eredményei

A vena portae ligatúrát követően szignifikáns mértékű változás sem az összbilirubin, sem az albumin szérúm szintjében nem mutatkozott. Ezzel szemben a szérúm transzamináz szintek tekintetében egy átmeneti emelkedést láthattunk, mely legmagasabb értékét a műtétet követő 24. órára érte el, a posztoperatív 72. órára visszatérve a lekötést megelőző, normál tartományba (8. táblázat).

8. táblázat Konvencionális laboratórium vértesztek és ICG clearance teszt eredményei

	0. óra	24. óra	48. óra	72. óra	120. óra	168. óra
Aszpartát-aminotranszferáz (U/l)	109,33 ±17,39	936,5 ±270,77 *	561,17 ±140,69 *	179,67 ±73,08	104,17 ±8,5	103,67 ±13,92
Alanin-aminotranszferáz (U/l)	55,67 ±12,68	592,5 ±203,63 *	386,33 ±93,8 *	86,83 ±41,35	58,33 ±12,13	56,5 ±10,65
Össz-bilirubin (µmol/l)	1,78 ±0,26	1,9 ±0,26	1,98 ±0,19	1,93 ±0,29	1,82 ±0,23	1,8 ±0,25
Albumin (g/dl)	2,23 ±0,18	2,15 ±0,27	2,5 ±0,26	2,33 ±0,15	2,41 ±0,19	2,21 ±0,34
PDR-ICG (%/min)	50,97 ±6,56	27,9 ±4,69 *	23,55 ±5,19 *	35,3 ±7,29 *	46,83 ±5,17	51,17 ±7,45
R15-ICG	0,3 ±0,2	2,67 ±0,69 *	2,88 ±0,49 *	1,23 ±0,65 *	0,33 ±0,33	0,21 ±0,39

PDR - ICG: indocianin zöld plazma eltűnési sebesség, R15 - ICG: indocianin zöld retenciós ráta. A táblázatban az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden esetben 6 állat átlagát jelenítettük meg. *= p<0,05 vs. 0. óra

4.3.3. ICG-clearance teszt - globális májfunkció változása

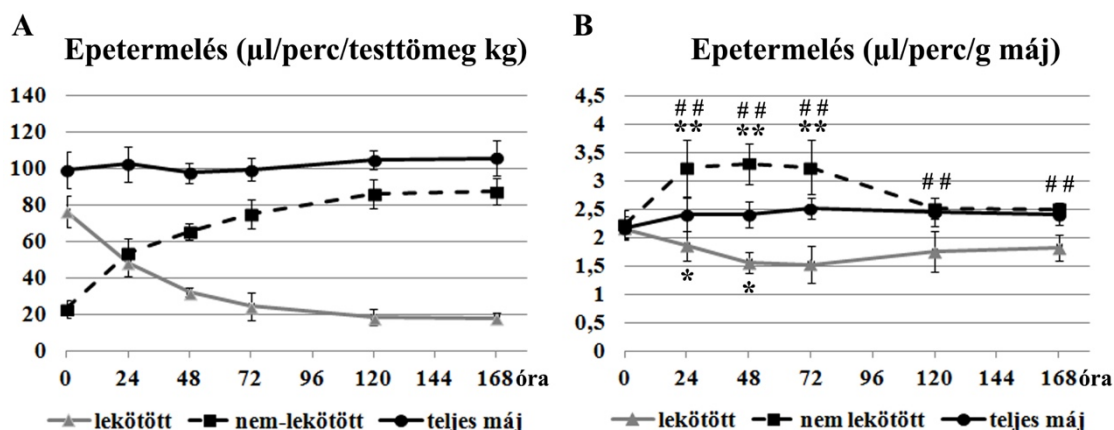
Vena portae ligatúra következtében a máj clearance funkciója átmenetileg jelentős mértékben károsult, mely az ICG plazma eltűnési sebességének (PDR) szignifikáns csökkenésében és a festék retenciós rátájának (R15) emelkedésében nyilvánult meg. A funkcióromlás a mélypontját a posztoperatív 48. órára érte el. Ezt követően a máj kiválasztó funkciója fokozatosan felépült, melynek eredményeként a műtétet követő 120. órában detektált PDR és R15 értékek szignifikáns mértékben már nem különböztek a ligatúra előtt mért értékektől (8. táblázat).

4.3.4. Epetermelés - szegmentális májfunkció változása

A nem-lekötött lebenyek testtömegre normalizált epetermelése már a műtétet követő első 24 órában ugrásszerűen megnövekedett (0.óra: 23±5,1µl/perc/ttkg vs. 24. óra: 53,94±7,45µl/perc/ttkg). Később az epe kiválasztás további fokozódása volt megfigyelhető, melynek eredményeként a nem-lekötött lebenyek epetermelése a kiindulási érték közel 380%-át érte el a ligatúrát követő 168. órára (87,49±7,42µl/perc/ttkg). Ezzel párhuzamosan a lekötött lebenyek testtömegre vonatkoztatott epe kiválasztása exponenciálisan csökkent a kezdeti érték kevesebb, mint

24%-ra (0.óra: $76,34 \pm 8,4 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{tkg}$ vs. 168. óra: $17,95 \pm 3,17 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{tkg}$). A két lebenycsoport epetermelésének az összege, azaz a teljes máj epetermelése szignifikáns mértékben nem változott a kísérlet teljes időtartama alatt (21. ábra A).

Amennyiben az egyes lebenycsoportok epeterválasztását az adott lebeny tömegére vonatkoztatva vizsgáltuk, a nem-lekötött lebenyek epetermelése szignifikáns mértékben megnövekedett, legmagasabb értékét a műtétet követő 48. órában érve el (0.óra: $2,24 \pm 0,25 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{g}$ máj vs. 48. óra: $3,3 \pm 0,36 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{g}$ máj, 1,48-szoros növekedés). Ezzel szemben a lekötött lebenyek epetermelése a 72. óráig fokozatosan csökkent, a kezdeti érték 0,7 szeresére (0.óra: $2,15 \pm 0,15 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{g}$ máj vs. 72. óra: $1,52 \pm 0,33 \mu\text{l}/\text{perc}/\text{g}$ máj). A ligatúrát követő 120. és 168. óra közt mindkét lebenycsoport májtömegre normalizált epeterválasztása visszatért közel a műtétet megelőző, kiindulási értékre. Ugyanakkor a vizsgálat periódus e végső időpontjaiban is a nem-lekötött lebenyek egységnyi májtömegre jutó epetermelése szignifikáns mértékben meghaladta a lekötött lebenyek esetében tapasztalt értékeket (21. ábra B).



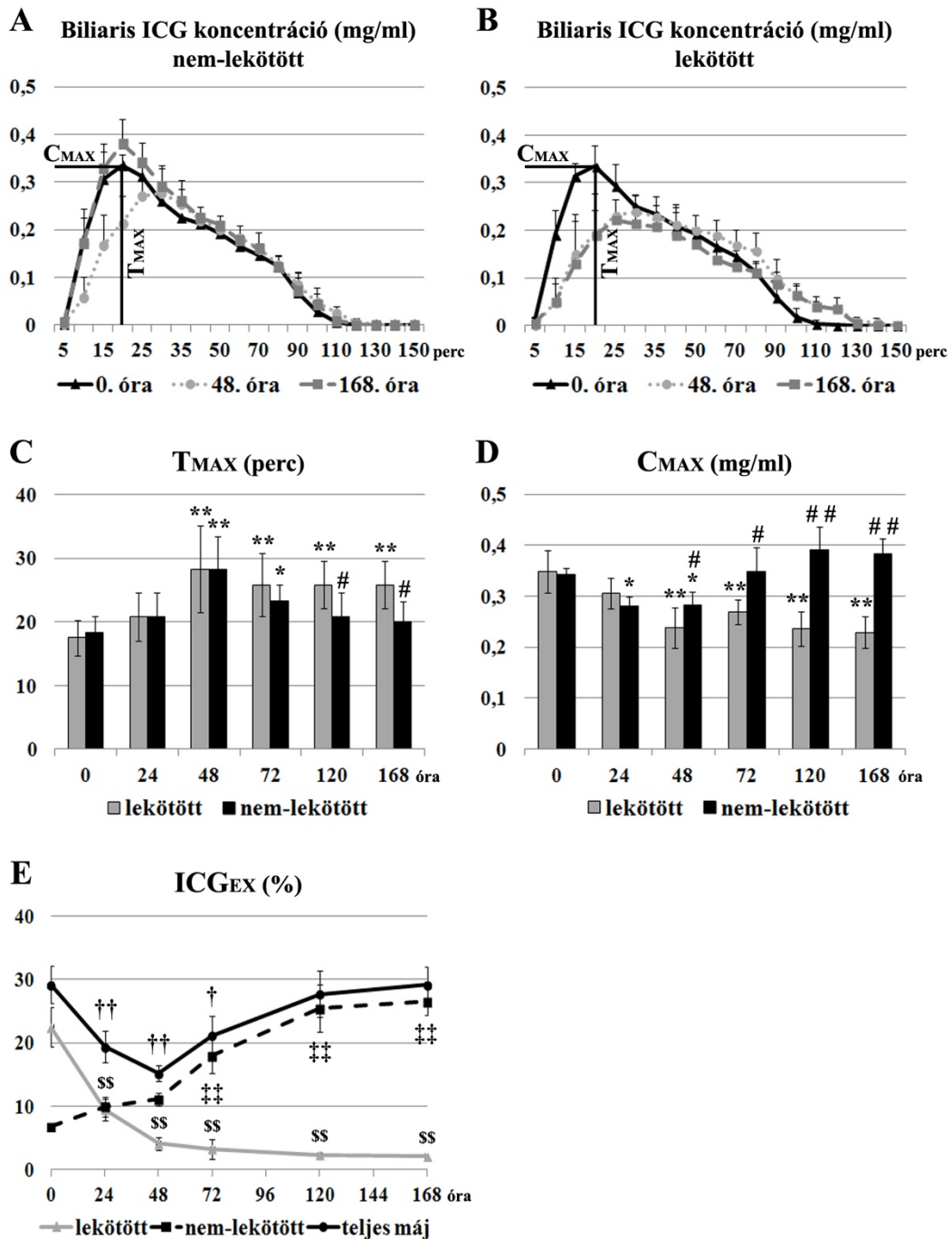
21. ábra A) A testtömegre normalizált epetermelésben bekövetkező változások a vena portae ligatúrát követő első héten. (B) Az egységnyi májtömegre jutó epeterválasztásban bekövetkező változások a vena portae ligatúrát követő első héten. A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. **= $p < 0,01$ vs. adott lebeny kontrol (0. óra) értéke, ##= $p < 0,01$ vs. lekötött lebeny az adott időpontban.

4.3.5. Biliaris ICG exkréció - szegmentális májfunkció változása

A biliaris ICG koncentrációs görbék elemzésével megállapítható az epe ICG koncentrációjának maximális értéke (C_{MAX}) és az eléréséhez szükséges idő (T_{MAX}). A műtétet követő első 48 órában a nem-lekötött lebenyek ICG kiválasztása átmenetileg károsult, ami C_{MAX} kezdeti értékhez viszonyított szignifikáns csökkenésében (0. óra:

0,34±0,01mg/ml vs. 48. óra: 0,28±0,03mg/ml, p=0,049) és T_{MAX} szignifikáns mértékű megnyúlásában (0. óra: 18,33±2,58perc vs. 48. óra: 28,33±5,16perc, p<0,01) mutatkozott meg. Később, a ligatúrát követő 120. órára a nem-lekötött lebenyek kiválasztó funkciójának folyamatos javulásával, C_{MAX} és T_{MAX} visszatért a műtétet megelőzően tapasztalt értékre, sőt előbbi nem szignifikáns mértékben (C_{MAX} 120. óra: 0,39±0,05mg/ml p=0,27 vs. 0. óra) ugyan, de meg is haladta azt. A lekötött lebenyek biliaris ICG koncentrációs görbéi az első 48 órában a nem-lekötött lebenyekben látottakhoz hasonlóan változtak (C_{MAX} 0.óra: 0,35±0,04mg/ml vs. 48. óra: 0,24±0,04mg/ml és T_{MAX} 0. óra: 17,5±2,74perc vs. 48. óra: 28,33±6,83perc). Ezt követően azonban a lebenycsoport funkciójában javulás nem volt megfigyelhető, melynek következtében C_{MAX} és T_{MAX} tartósan, a vizsgált periódus végéig szignifikáns mértékben elmaradt a kiindulási értékhez képest (C_{MAX} 168. óra: 0,23±0,03mg/ml, p<0,01 vs. 0. óra és T_{MAX} 168. óra: 25,83±3,76perc, p=0,01 vs. 0. óra) (22. ábra A-D).

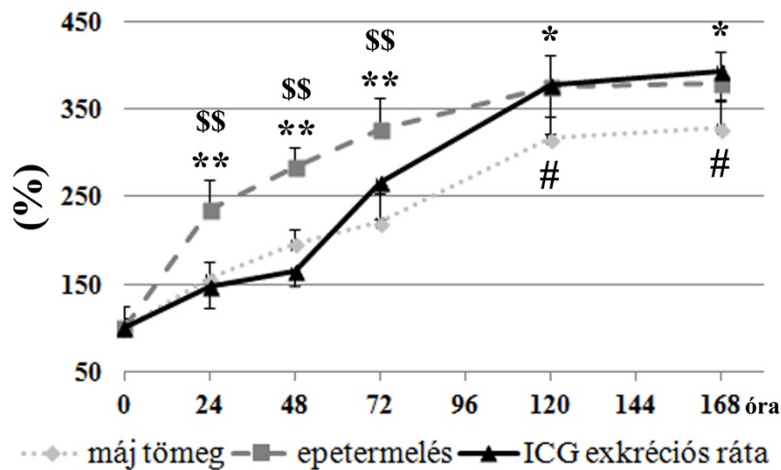
Az ICG exkréciós ráta (ICG_{EX}) az egyes lebenycsoportok által az ICG beadását követő első 20 percben az epébe kiválasztott ICG mennyiségének és a festék teljes beadott mennyiségének százalékos arányát fejezi ki. A teljes máj ICG_{EX} a műtétet követően átmenetileg károsult, mélypontját a posztoperatív 48. órában érve el (0. óra: 29,23±2,98% vs. 48. óra: 15,17±1,22%, p<0,01). Ezt követően a teljes máj ICG_{EX}-ja fokozatosan javulva a műtétet követő 120. órára visszatért a kiindulási értékre (120. óra: 27,7±3,65%, p=0,89 vs. 0. óra). A nem-lekötött lebenyek ICG_{EX}-ban a posztoperatív első 48 órában nem következett be szignifikáns mértékű változás (0.óra: 6,74±0,53% vs. 48. óra: 11,09±1,05%; p=0,07). A lekötés utáni 48. órát követően azonban a lebenycsoport ICG_{EX}-ja ugrásszerűen megnövekedett és a 168. órára a kiindulási érték 394%-át érte el (168. óra: 26,53±2,17%). Ezzel szemben a lekötött lebenyek ICG_{EX}-ja a ligatúrát követően folyamatosan csökkent és a kísérlet végére a kezdeti érték 10%-át sem érte el (0. óra: 22,49±3,14% vs. 168. óra: 2,11±0,3%,) (22. ábra E).



22. ábra (A) A nem-lekötött lebezyből származó ICG koncentrációs görbék a vena portae ligatúrát megelőzően, illetve az azt követő 48. és 168. órában. (B) A lekötött lebezyből származó ICG koncentrációs görbék a vena portae ligatúrát megelőzően, illetve az azt követő 48. és 168. órában. (C-D) Az ICG koncentrációs görbék elemzéséből származó C_{MAX} és T_{MAX} értékek változása a vena portae ligatúrát követő első egy hétben. (E) Az ICG exkréciós ráta (ICG_{EX}) alakulása a vena portae ligatúrát követő első egy hétben. A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. * = $p < 0,05$ vs. adott lebezy kontrol (0. óra) értéke, ** = $p < 0,01$ vs. adott lebezy kontrol (0. óra) értéke, # = $p < 0,05$ vs. lekötött lebezy az adott időpontban, ## = $p < 0,01$ vs. lekötött lebezy az adott időpontban, † = $p < 0,05$ vs. teljes máj kontrol (0. óra) értéke, †† = $p < 0,01$ vs. teljes máj kontrol (0. óra) értéke, \$\$ = $p < 0,01$ vs. a nem-lekötött lebezyek kontrol (0. óra) értéke, ††† = $p < 0,01$ vs. a lekötött lebezyek kontrol (0. óra) értéke.

4.3.6. A máj tömegében és kiválasztó funkciójában bekövetkező változások összehasonlítása

A nem-lekötött lebenyek epetermelésében bekövetkező változás valamennyi vizsgált időpontban szignifikáns mértékben meghaladta a lebenycsoport tömegnövekedését. Ezzel szemben a lebenyek ICG exkréciós rátájának növekedése kezdetben, nem szignifikáns mértékben ugyan (máj tömeg 48. óra: $196,24 \pm 17,46\%$ vs. ICG exkréciós ráta 48. óra: $164,65 \pm 15,62\%$, $p > 0,05$), de elmaradt a lebenyek tömeggyarapodásának ütemétől. A ligatúrát követő 72. órától az ICG exkréció azonban ugrásszerűen megnövekedett és a 120. órától kezdve már szignifikánsan felülmúlta a lebenyek tömegében bekövetkező változásokat (23. ábra).



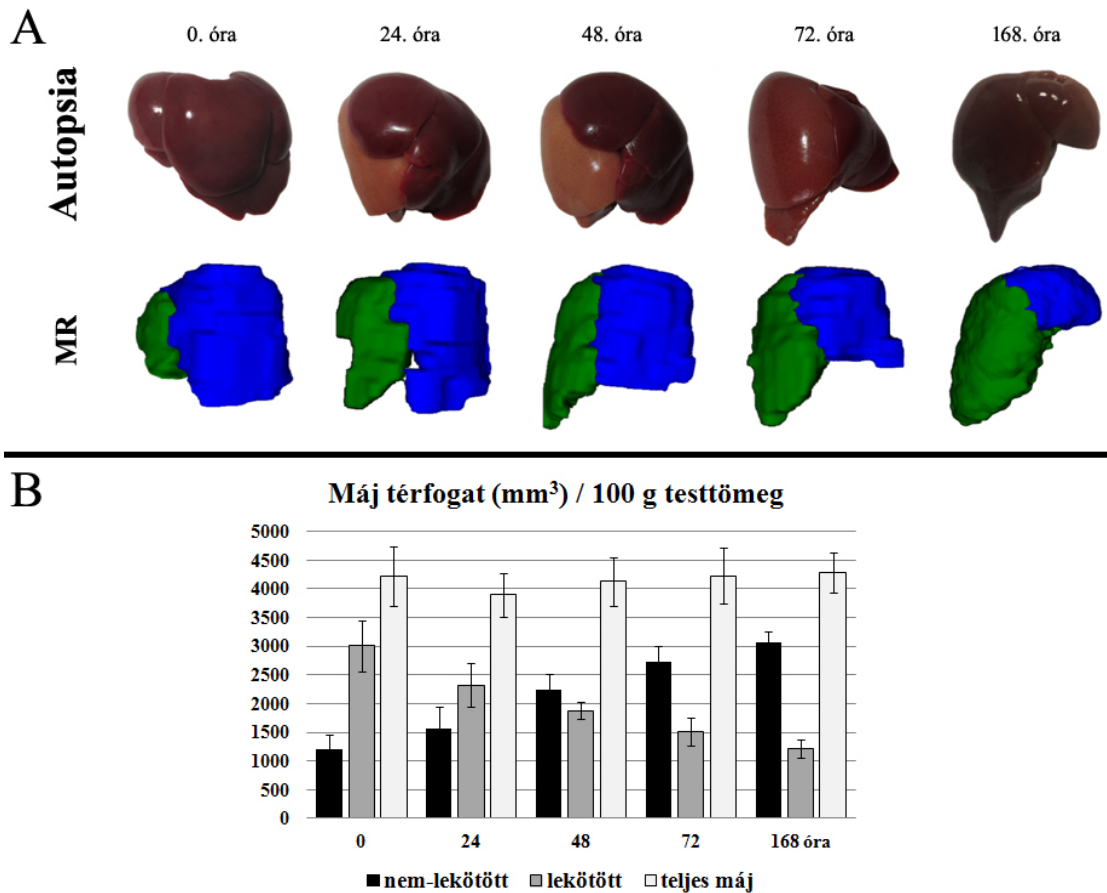
23. ábra A nem-lekötött lebenyek tömegében, epetermelésében és ICG exkréciós rátájában bekövetkező változások a kiindulási érték (0.óra) százalékában kifejezve. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. *= $p < 0,05$ vs. máj tömege az adott időpontban, **= $p < 0,01$ vs. máj tömege az adott időpontban, #= $p < 0,05$ vs. ICG exkréciós ráta az adott időpontban, \$\$= $p < 0,01$ vs. ICG exkréciós ráta az adott időpontban.

4.4. III. Kísérlet - Glükóz metabolizmus vizsgálata (PET/MR)

4.4.1. A májlebenyek térfogat változása - MR volumetria

A kisállat MR felvételek elemzése alapján a májlebenyek térfogatváltozása követte a lebenyek tömegében bekövetkező változásokat (szoros pozitív korreláció, $r = 0,842$; $p < 0,01$), azaz a nem-lekötött lebenyek látványos volumennövekedésével párhuzamosan a lekötött lebenyek jelentős volumenvesztése volt megfigyelhető. A két

folyamat közti egyensúly következtében a máj teljes térfogata szignifikáns mértékben nem változott a kísérlet során (24. ábra).

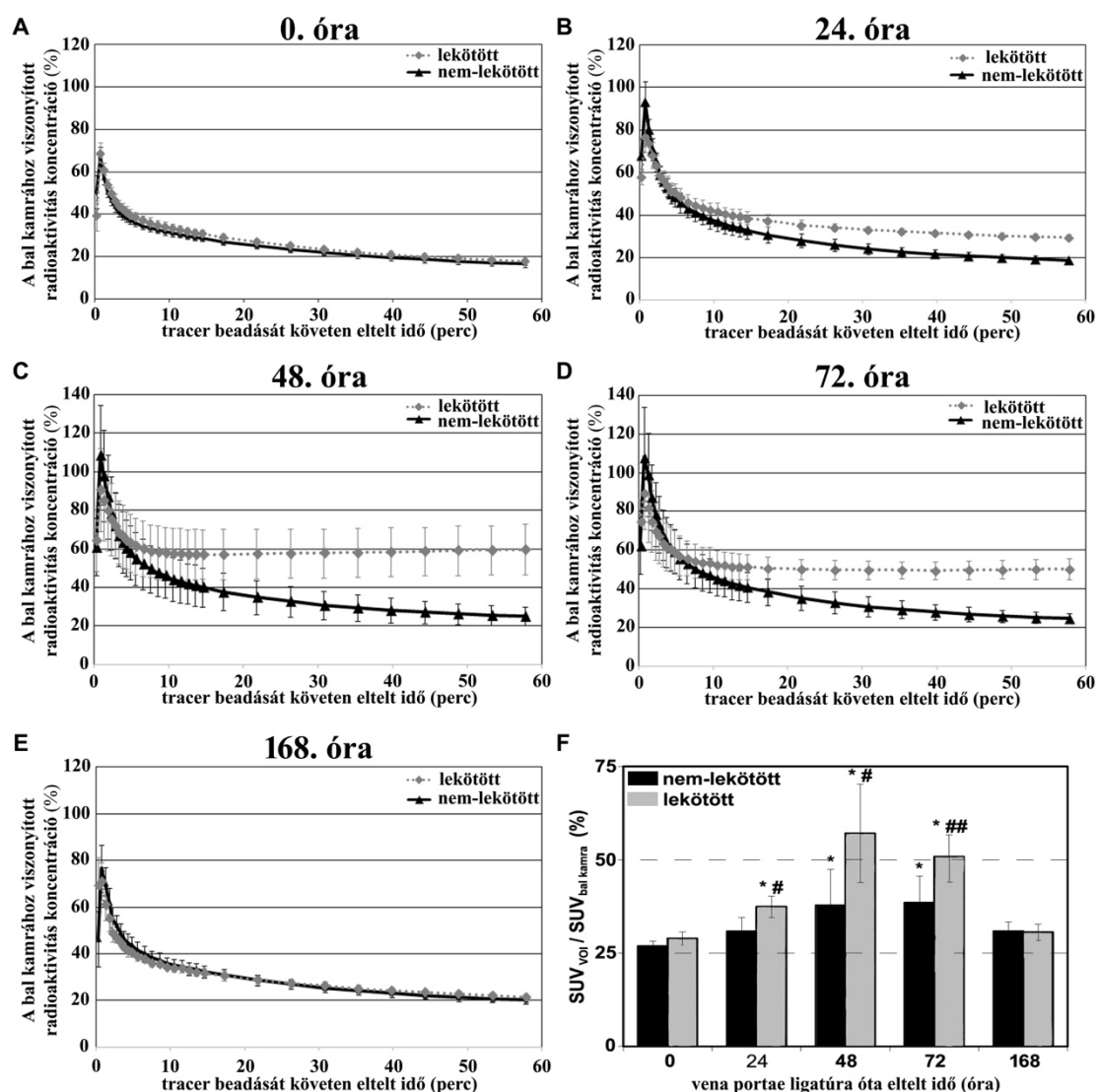


24. ábra (A) A máj boncolási leletének és az elkészült MR felvételek összehasonlítása. (B) A májlebenyek térfogat változása a vena porta ligatúrát követő első héten. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg.

4.4.2. A glükóz metabolizmus változása - FDG-PET

A méréseket megelőzően az állatok vércukorszintjeit kontrolláltuk, s ezek az értékek minden esetben a normál tartományon belül voltak. A dinamikus PET felvételek kiértékelése során az adott lebeny felett detektált radioaktivitást a bal kamrában (referencia szövet), a tracer beadását követő első 30 másodpercben mért radioaktivitás koncentráció százalékában fejeztük ki. Az így kapott idő-aktivitás görbék (time-activity curves, TAC) alapján elmondható, hogy a ligatúra mindkét lebenycsoport esetében jelentős mértékben megváltoztatta a görbék karakterisztikáját, melyre a farmakon kiürülésének elhúzódása volt a jellemző. A fenti változások a lekötött lebenyek

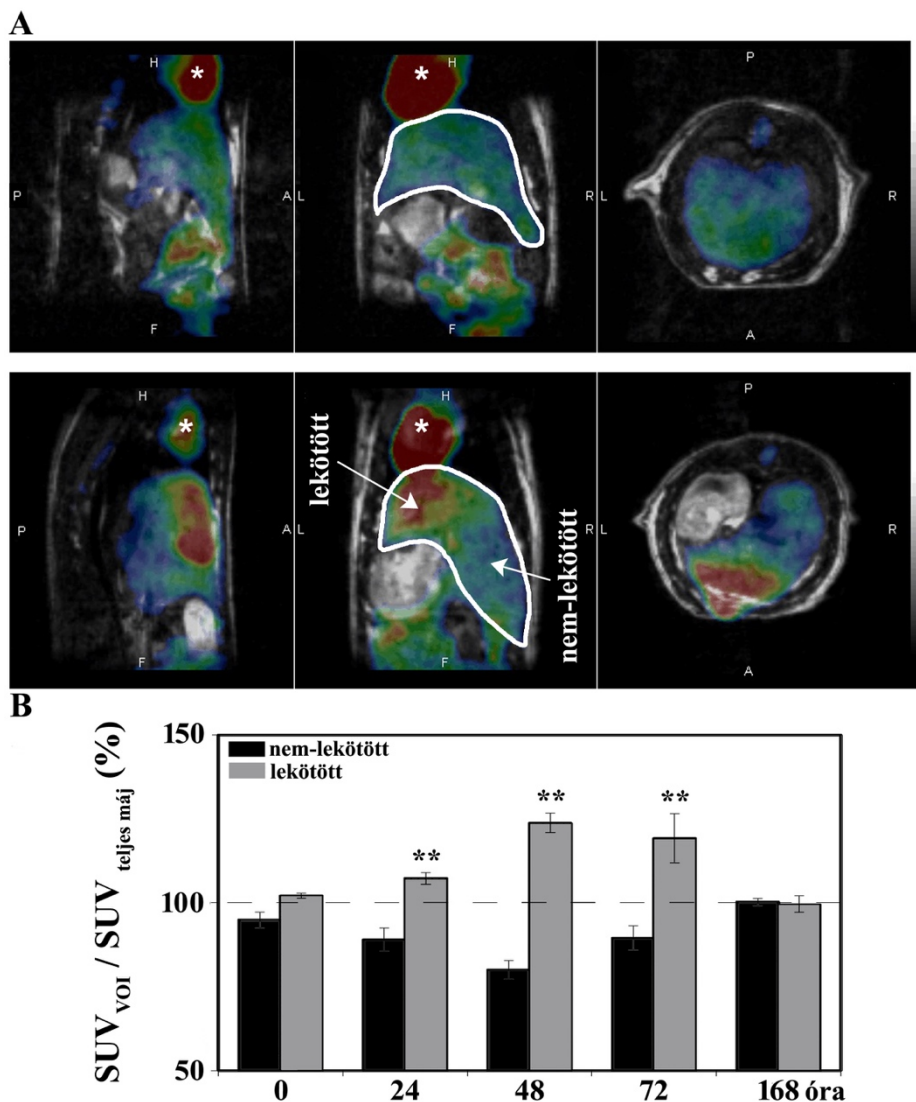
tekintetében kifejezettebbnek mutatkoztak a nem-lekötött lebenycsoporthoz képest, a legmarkánsabb eltérést a műtétet követő 48. órában mutatva (25. ábra A-E).



25. ábra (A-E) Az egyes lebenycsoportokra jellemző idő-aktivitás görbék a vena portae ligatúrát megelőzően, illetve az azt követő 24.-, 48.-, 72.-, 168. órában. (F) Az egyes lebenycsoportokra jellemző standard felvételi érték (SUV) a bal kamra SUV-nak százalékában kifejezve a vena portae ligatúrát követő első egy héten. A diagramokon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. * = $p < 0,05$ vs. az adott lebenyek kontrol (0. óra) értéke, # = $p < 0,05$ vs. nem-lekötött lebenyek az adott időpontban, ## = $p < 0,01$ vs. nem-lekötött lebenyek az adott időpontban.

Az eredmények (görbék) statisztikai összehasonlítása érdekében meghatároztuk az egyes lebenycsoportokra jellemző standard felvételi értékeket (SUV), melyet a bal kamra, illetve a teljes máj SUV-jához viszonyítottunk. Vena portae ligatúrát megelőzően a májat mérsékelt fokú, homogén tracer felvétel jellemezte. Ligatúrát követően mindkét lebenycsoportban szignifikáns mértékben megnövekedett a

$SUV_{VOI}/SUV_{bal\ kamra}$ arány, maximális értékét a műtétet követő 48. órában érve el (25. ábra F). Az FDG felvételében bekövetkező változás a lekötött lebenyek tekintetében szignifikánsan nagyobb mértékűnek mutatkozott a nem-lekötött lebenyekhez képest. Ennek következtében a máj tracer felvétele inhomogénná vált, mely a $SUV_{VOI}/SUV_{teljes\ máj}$ arány lekötött lebenyek irányába történő eltolódásában is megmutatkozott. A műtétet követő 168. órában azonban mindkét lebenycsoport FDG felvétele visszatért a kiindulási értékre, visszaállítva a beavatkozás előtt jellemző homogén radiofarmakon eloszlást (26. ábra).



26. ábra (A) Radioaktív tracer eloszlás a májban. A fúziós PET és MR felvételeken a vena portae ligatúrát megelőzően (felső kép) homogén tracer eloszlás figyelhető meg. Az apróbb egyenlőtlenségek a máj morfológiájához köthetők. A ligatúrát követően (alsó kép) a tracer eloszlás inhomogénná válik, melyre a lekötött lebenyek erőteljesebb FDG halmozása a jellemző, míg a bal kamra tracer felvétele (csillag) nem változik. (B) A fenti változások következtében a lekötött lebenyekre jellemző $SUV_{VOI}/SUV_{teljes\ máj}$ arány szignifikánsan megnövekszik a nem-lekötött lebenyekhez képest. A diagramon az eredmények átlagát és a standard deviációt ábrázoltuk. Minden pont 6 állat átlagát jeleníti meg. **= $p < 0,01$ vs. nem-lekötött lebenyek az adott időpontban.

5. MEGBESZÉLÉS

A hepatobiliaris daganatok előfordulása világszerte növekvő tendenciát mutat. A primer májdaganatok többsége hepatocellularis carcinoma, ami a hatodik leggyakrabban diagnosztizált daganatos megbetegedés, és a harmadik leggyakoribb halált okozó daganatféleség [1]. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a máj rosszindulatú elváltozásai döntően másodlagosak (a máj szekunder, áttéti daganatai mintegy 20-szor gyakoribbak a primer májráknál), többnyire colorectalis carcinoma áttétei [111].

A máj malignus betegségeinek kezelésében - legyen az primer vagy szekunder eredetű - szinte kizárólag a sebészi resectio jelenti az egyetlen kuratív ellátást, mely egyben biztosítja a hosszú távú túlélést is. Az esetek jelentős részében a tumormentes resectios szél eléréséhez kiterjesztett hepatectomia szükséges. A májparenchyma ilyen mértékű, excesszív eltávolítása azonban gyakran a beteg életét veszélyeztető posztoperatív májelégtelenség kialakulásával fenyeget. A hepatectomiát követő májelégtelenség megelőzésére leggyakrabban használt módszer a műtét után visszamaradó májállomány (FLR) volumenének preoperatív megnövesztése vena portae okklúziós technikák segítségével [43]. A vena portae egyes ágainak szelektív elzárása a teljes portalis vérmennyiség várható FLR felé történő átírányításával, a visszamaradó parenchyma hypertrophiáját (májregeneráció), míg a portalis keringéstől megfosztott májlebenyek atrophiját idézi elő. Ennek a „volumenmanipulációs” lehetőségnek köszönhetően mára a nagy kiterjedésű tumor állományok eltávolítása is biztonságosan kivitelezhetővé vált.

A klinikai gyakorlatban végrehajtott első sikeres vena portae okklúzió publikációja (1986) óta eltelt közel 30 év alatt a módszer és annak különböző módosulatai lényegében az egész világon elterjedtek [112]. Ugyanakkor egy nemrégiben megjelent szisztematikus összefoglaló alapján vena portae okklúziót követően a tervezett resectiok közel 20% elmarad, döntően a primer betegség progressziója, illetve az elégtelen mértékű regeneráció következtében [21]. Ez a relatív magas sikertelenségi arány felhívja a figyelmet számos, az indukált májregenerációval kapcsolatos kérdés megválaszolatlanságára.

A fentieket figyelembe véve jelen dolgozat célja a vena portae okklúzió okozta elváltozások tanulmányozására alkalmas állatmodell felállítása és az indukált májregenerációt jellemző keringési, morfológiai és funkcionális változások vizsgálata volt. A kutatás klinikai kérdésfelvetéseken túl alapkutatási jelentőséggel is bír, hiszen a májregeneráció vizsgálatára klasszikusan alkalmazott partialis hepatectomia modelljével szemben, vena portae okklúziót követően a regenerációval párhuzamosan, attól élesen elkülönülve egy atrophias folyamat is lejátszódik, egyedülálló lehetőséget teremtve a két ellentétes élettani jelenség egyidejű tanulmányozására.

Az utóbbi években számos, a vena portae okklúzió vizsgálatára alkalmas állatmodell került leírásra. A méretbeli, anatómiai és fiziológiai hasonlóságok következtében a sertések és kutyák a legalkalmasabbak a humán szituáció megjelenítésére. Ugyanakkor ezen fajokon végzett kísérletek költségei (beszerzés, tartás, labor és műtéti háttér) jelentős megterhelést rónak a kutató laboratóriumokra. Ennek következtében a legtöbb kutatás során - jelen tanulmányhoz hasonlóan - kisállatok, döntően patkányok kerülnek felhasználásra [90]. Ugyan az anatómiai és élettani különbségekből adódóan a patkánykísérletekből fakadó eredmények csak részben ültethetők át a klinikai gyakorlatba (s ez a tény jelen tanulmánynak is legfőbb limitációját képezi), ezen fajok olcsó tartása, rövid reprodukciós ideje, az elérhető specifikus antitestek nagy száma és a regeneratív folyamatok gyorsasága kiváló lehetőséget teremt a vena portae okklúzió indukálta májregeneráció preklinikai vizsgálatára.

A patkánymáj lebonyozott szerkezete elviekben lehetővé teszi különböző mértékű vena portae okklúziók látszólag egyszerű kivitelezését. Az irodalomban fellelhető patkánykísérletekben szinte kizárólag a máj teljes állományának 70%-át ellátó középső és bal oldalsó véna ágak kerülnek elzárásra (ennek feltehető magyarázata, hogy a májregeneráció vizsgálatára legelterjedtebben használt 2/3-os hepatectomia modelljében, ugyanezen lebenyek resectioja történik) [113]. Ugyanakkor a mindennapi klinikai gyakorlatban a máj állapotának, illetve a tumor lokalizációjának, méretének függvényében ettől merőben eltérő portalis okklúzióra is sor kerülhet: klasszikusan a jobb portalis főtrzs (5-8. segmentum) okklúzióját végzik, ami szükség esetén a 4. segmentum vénáinak elzárásával is kiegészülhet (hozzávetőlegesen a máj volumenének 60-80%-a). Ugyanakkor a nemrégiben publikált monosegment ALPPS

során lehetőség van csupán egyetlen májsegmentum portalis beömlésének megtartására, ami a teljes máj volumenének alig 5-15%-a [114-116]. Tekintve, hogy a patkánymáj 70%-át meghaladó mértékű vena portae okklúzióról irodalmi adatok nem állnak rendelkezésre, így jelen tanulmány első fázisában a különböző mértékű, kiterjedt portalis okklúziók megvalósíthatóságát, májregenerációra gyakorolt hatását vizsgáltuk.

Kísérleteink során a máj teljes állományának 70-, 80-, illetve 90%-át ellátó vena portae ágak szelektív lekötését végeztük. A megfelelő mikrosebészeti technika elsajátítást követően, a lebenyek artériás vérellátásának és biliaris drenázsának megőrzésével mindhárom műtéti modell standard módon reprodukálhatónak bizonyult, mortalitás egyik csoportban sem volt megfigyelhető. A lebenyek tömegváltozása alapján megállapítható, hogy a ligatúrát követő első hét alatt a teljes májtömeg egyik vizsgálati csoportban sem változott szignifikáns mértékben, mely háttérben az indukált hypertrophia és atrophia kiegyensúlyozottsága állt. A két folyamat közti egyensúlyt számos, egyéb fajon végzett korábbi vizsgálat is alátámasztja, s mindezek az eredmények a lekött és nem-lekött lebenyek közti szoros homeosztatikus kapcsolatra utalnak [90]. Ugyanakkor a nem-lekött lebenyek tömeggyarapodását megvizsgálva, a regeneráció mértékében, dinamikájában jelentős különbségek mutatkoztak az egyes kísérleti csoportok között. Eredményeink alapján a regenerációs ráta (hypertrophia mértéke) és a lekött erek által ellátott parenchyma mennyisége közt szoros összefüggés mutatkozott (a 90%-os portális okklúziót követően a tömeggyarapodás mértéke szignifikánsan meghaladta mind a 80%-os, mind a 70%-os csoportban tapasztaltakat). A lekött erek nagysága (portalis okklúzió mértéke) és a regeneráció mértéke közti korrelációt korábban Rozga tanulmány is igazolta, aki vizsgálatait a máj tömegének 24-, 34-, valamint 70%-át ellátó vena portae ágak lekötésével végezte [55]. A jelenséget a májregeneráció ún. "blood-flow" hipotézise magyarázhatja. A vena portae egyes ágainak ligatúráját követően a gyomor, bélrendszer, pancreas és lép felől érkező vénás vérnek egy beszűkült vascularis keresztmetszeten, nagyobb ellenálláson kell áthaladnia, mely részben a portalis nyomás átmeneti emelkedéséhez, részben a nem-lekött lebenyekben az egységnyi májtömegre jutó vérmennyiség jelentős növekedéséhez vezet. A lebenyek fokozott véráramlásának következtében a sinusoidokra ható nyírófeszültség ("*shear stress*") megsokszorozódik, mely az endothel-, máj- és Kupffer sejtekben mechano-kémiai szignál utakat aktiválva

vezet a regeneratív válasz elindításához [98]. Elméleti számítások és kísérletes eredmények alapján a nyírófeszülésben bekövetkező növekmény jól tükröződik a portalis vénás nyomás akut változásaiban [96]. Eredményeink alapján a vena portae okklúzió kiterjedésének növelése a portalis vénás nyomás párhuzamos emelkedéséhez vezet, mely a fentiek alapján a nyírófeszülés fokozódásán keresztül egy erőteljesebb regeneratív választ indukált. Ezt a hipotézist támasztja alá a portalis vénás nyomás akut változása és az első 24 órában tapasztalt sejtosztódás mértéke közötti szoros korreláció is. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy teoretikusan a portalis vénás nyomás (és ezzel arányosan a nyírófeszülés) túlzott emelkedése (portalis hyperperfusio) egy kritikus ponton túl már a sejtek károsodásához vezethet, mely gátat szabhat a kellő mértékű májregenerációnak és elősegítheti a posztoperatív májelégtelenség kialakulását. A szöveti hyperperfusio károsító hatását először részleges (split) májátültetés, illetve kiterjesztett májresectio kapcsán írták le. A jelenséget mint "*small for size*", újabban "*small for flow*" szindróma említi az irodalom, mely kórképre elhúzódó cholestasis, coagulopathia, ascites kialakulása a jellemző [18]. Patkánykísérletek alapján a májparenchyma 90%-ának eltávolítását követően számolni kell a tünetegyüttes felléptével, mely magas mortalitással (több mint 70%), sinusoidalis endothel sérüléssel, szöveti bevérzéssel és lokális gyulladás kialakulásával jár együtt [117]. A fentiekkel ellentétben a májállomány 90%-át ellátó vena portae ágak okklúzióját követően sem tapasztaltunk elhullást, valamint a nem-lekötött lebenyek szövettani elemzés során enyhe sinusoidalis dilatációt leszámítva sejtkárosodásra utaló elváltozások sem voltak megfigyelhetők. Ezt az ellentmondást több tényező is magyarázhatja. Részben a lekötött lebenyek egyfajta "*auxiliáris*" májként viselkedve támogatják a nem-lekötött lebenyek működését a regeneráció kritikus első napjaiban, megelőzve a posztoperatív májelégtelenség kialakulását. Másrészt, mivel a lekötött lebenyek artériás véráramlása megőrződik (egyes tanulmányok alapján a HABR következtében vena portae ligatúra után a teljes artériás vérmennyiség 90%-a lekötött lebenyek felé irányul [94]) a nem-lekötött lebenyek áramlásnövekedése, és így a szöveti hyperperfusio mértéke valamelyest elmarad a májresectio során tapasztaltaktól, mely magyarázhatja a markáns endothel sérülés és szöveti károsodás hiányát [118]. Mindazonáltal kisméretű FLR mellett végzett vena portae okklúzió során számolni lehet egy, a regeneráció szempontjából már hátrányos portalis vénás nyomásemelkedéssel (bár saját kísérletes

eredményeink ezt nem támasztják alá). Ezt a feltételezést támasztja alá Hahn és munkatársainak klinikai vizsgálata (előadás absztrakt [119]), mi szerint amennyiben a vena portae embolizációt követő akut portalis vénás nyomásváltozás egy kritikus értéket meghalad, úgy a máj regenerációs képességének csökkenése figyelhető meg mind normál, mind cirrhotikus betegek esetében.

Összegezve tehát megállapítható, hogy patkánymájban a különböző mértékű, nagy parenchyma mennyiséget érintő vena portae ligatúrák biztonsággal, reprodukálható módon kivitelezhetők és a jól ismert, kiegyensúlyozott atrophia-hypertrophia komplex létrejöttét eredményezik. A portalis keringéstől megfosztott májállomány méretével arányosan fokozódik a májregeneráció, illetve az akut portalis nyomásváltozás mértéke, mely két változó között szoros összefüggés áll fenn.

A további kísérleteinkben a vena portae ligatúra hatására bekövetkező morfológiai, keringési és funkcionális változások részletes vizsgálatát végeztük. Figyelembe véve, hogy a klinikai gyakorlatban normál, egészséges májparenchyma mellett a FLR kritikus, alsó határértéke a teljes májvolumen 20%-a, így a további vizsgálataink során a 80%-os portalis ligatúra modelljét vettük alapul.

Vizsgálataink alapján a vena portae ligatúra a szisztémás keringési paramétereket, mint artériás középnyomás számottevő mértékben nem befolyásolta. Ugyanakkor a splanchnicus keringésben szignifikáns változások következtek be, melyek feltételezhetően jelentős szerepet játszanak mind a májregeneráció, mind az atrophia kialakulásában. A ligatúra hatására a lekötetéstől proximalisan - az első kísérletsorozatban megfigyeltekhez hasonló módon - a portalis vénás nyomás átmeneti emelkedése jött létre. Vena portae okklúziót követő átmeneti portalis hypertensio kialakulását egyéb kísérletes és klinikai adatok is alátámasztják [73,74,120,121]. A megnövekedett portalis vénás nyomás részben a klasszikus myogen válaszon keresztül a splanchnicus artériás rezisztencia növekedését, részben pedig a porto-szisztémás shunt keringés fokozódását eredményezi [94]. A shunt keringés fokozódására utalhat a lép tömegében bekövetkező - saját kísérletes munkák során megfigyelt - közel 1,5 szerez növekedés is. A splenomegalia (és következményes hypersplenia/thrombocytopenia) létrejöttét ugyan klinikai megfigyelések is alátámasztják [45], ugyanakkor e változások jelentősége ma még kevésbé vizsgált,

annak ellenére, hogy egyre több irodalmi adat utal a lép-máj tengely és a thrombocyták (elsősorban a vérlemezke eredetű szerotonin) májregenerációban betöltött szerepére [122]. A fenti, visszacsatoló ("*backward*") hatásokon túl a leköttéstől distalisan is jelentős keringésváltozások jönnek létre ("*forward*" hatások). Irodalmi adatok alapján vena portae okklúzió következtében a leköttött lebenyek hilaris véráramlása közel 45-50%-al csökken. Figyelembe véve, hogy a kieső portalis vérmennyiség a máj teljes vérellátásának 75-80%-át képezi, ezt a mérsékelt fokú áramlás-csökkenést az artériás véráramlás párhuzamos, 3-4 szerez növekedése magyarázhatja (hepatic artery buffer response, HABR, lásd korábban) [92]. Ezzel szemben a nem-leköttött lebenyek véráramlása közel 2-3 szorosára növekszik, ami a portalis vérellátás jelentős fokozódásának az eredménye [94]. Ugyan a lebenyek hilaris véráramlásában bekövetkező fenti változások jól ismertek, a ligatúra máj mikrokeringésére gyakorolt hatása kevésbé vizsgált.

Kísérleteink során a máj mikrocirkulációját lézer Doppler áramlásmérő segítségével detektáltuk. Eredményeink alapján a leköttött lebenyek keringése a ligatúrát követően közel 50%-al romlott. Irodalmi adatok alapján a lebenyek mikrocirkulációjának károsodásában a perfundált sinusoidok arányának drasztikus csökkenése, a keringés heterogénné válása is szerepet játszik (tekintve hogy az általunk alkalmazott lézer Doppler készülék csupán egy hozzávetőlegesen 1mm³ nagyságú szövethegy áramlását jellemzi, a fenti változások megkérdőjelezzik méréseink pontosságát, ennek kiküszöbölésére minden lebeny keringését legalább 4 különböző pont áramlásának átlagával jellemeztük). Ugyanakkor Kollmar vizsgálatai alapján a perfundált sinusoidok aránya már röviddel a műtétet követően (60 perc) jelentős mértékben megnövekszik, mely háttérben a korábban már említett HABR állhat [92]. A leköttött lebenyek mikrocirkulációjában az első 24 órában bekövetkező számottevő javulást saját kísérletes eredményeink is alátámasztják. A gyors artériás kompenzáció ellenére azonban, az oxigénben gazdag, de alacsony vérhozamú arteria hepatica képtelen fenntartani a hepatocyták szempontjából optimális tápanyag és oxigén ellátást. Ennek eredményeként a portalis triászoktól legtávolabbi (így legrosszabb vérellátású), pericentralis régiókban súlyos hypoxia (ischaemia) jön létre. Hypoxia kialakulását támasztja alá, a leköttött lebenyek szövettani elemzése során látott kiterjedt centrolobularis necrosisok jelenléte, valamint az apoptoticus sejtek számának

megnövekedése. A sejtpusztulás a 24-48. posztoperatív óra között érte el maximális mértékét, majd ezt követően gyulladással sejtek fokozott szöveti megjelenésével megkezdődött az elhalt sejtek, szövettörmelék eltávolítása, melynek eredményeképp a ligatúrát után 120-168 órával a necroticus területek csaknem teljesen eltűntek, miközben - gyantafeltöltéses módszerünk alapján - a májlobulusok mérete közel a felére zsugorodott. Ez idő alatt az apoptoticus sejtek előfordulása szintén jelentős mértékben lecsökkent, ugyanakkor a kísérleti periódus végéig emelkedett maradt. Ikeda tanulmánya alapján az apoptózis az atrophia e késői stádiumában a feleslegessé vált hepatocyták eltávolításában és a májsejt-gerendák helyreállításában (szöveti "*remodelling*") játszik szerepet [56]. A fenti folyamatok végeredményeként a lekötött lebenyek tömege közel a harmadára csökkent, minek következtében az egységnyi májparenchymára jutó optimális vérmennyiséget már az alacsonyabb vérhozamú arteria hepatica is biztosítani tudta, így egy új egyensúlyi állapot kialakulásával, helyreállt a normális, ligatúra előtt tapasztalt szöveti mikrocirkuláció. A lebenyek mikrokeringésének helyreállításában tehát két adaptív mechanizmus: egy gyors artériás kompenzáció és egy elhúzódóbb szöveti átrendeződés játszhatott szerepet.

Ezzel szemben a nem-lekötött lebenyekben a ligatúra hatására megnő az egységnyi májtömegre jutó vérhozam mennyisége, mely a lézer Doppler készülékkel regisztrált mikrocirkuláció fokozódásához, csaknem megduplázódásához vezetett, mialatt a lebenyek tömege és térfogata egyaránt ugrásszerűen megnövekedett. Az elvégzett szöveti nedvességtartalom vizsgálat alapján a lebenyek rapid tömeggyarapodása nem a keringésváltozásból fakadó passzív vérvolumen növekedés, ödéma képződés eredménye, hanem egy aktív, szárazanyag-tartalom gyarapodással járó valódi regeneratív folyamat. Ezt támasztja alá az osztódó sejtekre specifikus Ki-67 immunfestés is, mely alapján a mitoticus sejtek száma átmenetileg, drasztikus mértékben megemelkedett, csúcsertékét a műtét utáni 48. órában érte el. Az osztódó sejtek számának hasonló mértékű és ütemű növekedését számos korábbi tanulmány is kimutatta [90]. Ugyanakkor a vena portae okklúzió indukálta dinamikus sejtosztódás lobularis májstruktúrára gyakorolt hatása ma még kevésbé ismert. Kísérletünk során a gyantafeltöltéses módszerrel határoztuk meg a májlebenyek méretében bekövetkező változásokat [107]. Eredményeink alapján a regeneratív folyamat végére a lobulusok kerülete a kiindulási érték 1,52-, míg területe 2,35-szörösére növekedett. Hasonló

mértékű lobularis hypertrophiát írt le Papp, illetve Dezső különböző regenerációs modellek vizsgálata kapcsán (partialis hepatectomia, 2-acetilaminofluorén kezelés/hepatectomia) [107,108]. E két tanulmány alapján - szemben az újszülött korban jellemző májfejlődéssel - a májregenerációt a már meglévő májlebenyek megnövekedése (hypertrophia), nem pedig új lobulusok képződése, osztódása (hyperplasia) jellemzi, mely folyamat együtt jár a máj mikrostruktúrájának jelentős mértékű megváltozásával (megnyúlt, elágazóbb szerkezetű portalis és centralis vénák, szerteágazóbb, arborescens megjelenésű zonálisan expresszálódó enzimek). Eredményeink alapján feltételezhető, hogy vena portae ligatúrát követően a nem-lekötött lebenyekben hasonló mikroarchitekturális változások mennek végbe. A cellularis hyperplasia és a következményes lobularis hypertrophia eredményeként a nem-lekötött lebenyek tömege a kísérlet periódus végére megháromszorozódott. Ennek következtében a megnövekedett mennyiségű májparenchyma és a fokozott portalis vérhozam között - hasonlóan a lekötött lebenyekhez - egy új egyensúlyi állapot alakult ki és így a lebenyek mikrocirkulációja visszatért a műtét előtt detektált értékre.

A vena portae ligatúra hatására a máj keringésében és struktúrájában kialakuló változások alapvetően befolyásolhatják az egyes lebenycsoportok funkcionális állapotát. Ennek következtében a máj tömegében/térfogatában (morfológiai regeneráció) bekövetkező növekmény nem feltétlenül tükrözi a májfunkció változásait (funkcionális regeneráció) [21]. Ugyan a ligatúra által előidézett morfológiai jelenségek jól ismertek, a párhuzamosan fellépő funkcionális változások kevésbé tisztázottak. Az irodalomban két ellentmondásos teória olvasható a vena portae okklúziót követő funkcionális regenerációval kapcsolatban. Néhány tanulmány feltételezi, hogy a nagy energiaigényű sejtosztódási folyamatok következtében a regeneráció a májfunkció rovására megy végbe, aminek következtében a funkcionális regeneráció elmarad, illetőleg időben elhúzódik a rapid tömeggyarapodáshoz képest [59,123,124]. Más, nukleáris képalkotáson alapuló vizsgálatok (hepatobiliaris szcintigráfia [125], hepatocytá tömeg szcintigráfia (hepatocyte mass scintigraphy) [126,127]) alapján a nem-okkludált lebenyek funkcionálnövekedése kifejezettebb, mint azt a morfológiai regeneráció alapján gondolnánk. Ugyanakkor ezt az elképzelést más, széleskörűen elfogadott kvantitatív funkcionális teszttel még nem igazolták.

A máj, mint vitális szerv, több ezer részfunkcióval bír, melyeket a legegyszerűbben a következőképpen oszthatjuk fel: epetermelés, fehérje szintézis, metabolizmus (szénhidrát, koleszterin, egyéb), raktározás és detoxifikáció. Sajnálatos módon ma még nem áll rendelkezésre olyan ideális májfunkciós teszt, mely jól jellemzi a máj ezen sokrétű működését. A mindennapi klinikai és kísérletes gyakorlatban alkalmazott funkcionális tesztek többnyire inkább limitált, indirekt információt szolgáltatnak a máj komplex folyamatairól [128].

Jelen kísérletsorozat során a globális májfunkció megítélésére konvencionális laboratóriumi vértesztet végeztünk. Eredményeink alapján elmondható, hogy a májfunkció a vena portae ligatúrát követően stabil maradt, a jellemző biokémiai paraméterek (albumin, össz-bilirubin) szérumszintje szignifikáns mértékben nem változott. A máj szintetikus-, felvevő-, konjugációs-, exkréciós funkcióját jellemző laborparaméterek (úm. albumin, össz-fehérje, protrombin idő, bilirubin, alkalikus-foszfátáz) vena portae okklúziót követő stabilitását számos korábbi tanulmány is alátámasztja [62,65,69]. Ugyanakkor kísérleteinek során a szérumszint alanin-aminotranszferáz és aszpartát-aminotranszferáz szintek tekintetében - irodalmi adatokkal [61,67,129] összeecsengve - megfigyelhető volt egy átmeneti emelkedés, ami a műtétet követő 24. órában érte el legmagasabb értékét. E változások azonban a lekötött lebenyekben kialakuló necroticus sejtpusztulás eredményeként jönnek létre, így nem valódi funkcióromlást jeleznek. Összességében tehát elmondható, hogy a rutin laboratóriumi paraméterek alapján a vena portae ligatúra számottevő mértékben nem befolyásolta a máj funkcionális állapotát. Fontos azonban megjegyezni, hogy a májhoz köthető biokémiai anyagok szérumszintjének meghatározása csupán limitált információt szolgáltat a tényleges májfunkcióról, tekintve, hogy végső koncentrációjukat számos egyéb tényező (megoszlási térfogat, a májsejtek hozzáférhetősége, egyéb úton történő elimináció, felhasználás) is jelentős mértékben befolyásolhatja [26].

A hagyományos laboratóriumi vizsgálatoknál egy-egy speciális májfunkció kifinomultabb, kvantitatív meghatározását teszik lehetővé az úgynevezett kvantitatív funkciós tesztek, melyek egy meghatározott, döntően a májon keresztül kiválasztódó, exogén szubsztrát (pl. lidokain, antipirin, galaktóz, ICG, stb.) eliminációjának sebességével jellemzik a máj működését [130]. Jelen kísérletsorozatban a klinikai

gyakorlatban legelterjedtebb ICG-clearance tesztet alkalmaztuk, melynek során a fluoreszcens festék intravénás bolus injekcióját követően non-invazív módon, denzitometriás módszerrel határoztuk meg az ICG plazma eltűnési sebességét (PDR) és retenciós rátáját (R15). Előbbi egyenes, utóbbi fordított arányosságot mutat a máj organikus anion kiválasztó képességével [131]. Eredményeink alapján elmondható, hogy a rutin laboratóriumi paraméterekkel szemben, az elvégzett clearance teszt a máj kiválasztó kapacitásának átmeneti beszűkülését jelezte, ami mélypontját a műtétet követő 48. órában érte el. Ezt követően a májfunkció fokozatosan normalizálódott és a leköttést követő 120. órától szignifikáns mértékben már nem különbözött a kiindulási értéktől. Az ICG kiválasztás hasonló, átmeneti károsodását írta le Hashimoto patkányokon végzett kísérletei kapcsán, melyek során az ICG plazma koncentrációjának változását invazív vérvételek sorozatával határozta meg [132]. Ugyan az ICG clearance teszt rutinszerűen alkalmazott a máj állapotának megítélésére, ugyanakkor a módszer egyik legjelentősebb hátránya, hogy csupán a globális májfunkciót jellemzi és nem veszi számításban a máj kvalitásában bekövetkező esetleges regionális változásokat [133]. Tekintve, hogy eredményeink alapján vena portae ligatúra következtében a máj keringése és szerkezete egyaránt heterogénné válik, így az ICG clearance teszt során kapott eredmények nehezen értelmezhetőek az egyes lebenycsoportok tekintetében.

A fenti problémát kiküszöbölendő szelektív epekanulálást végeztünk. A patkány máj anatómiája - a máj lebenyezett felépítése és hogy minden lebenynek megvan a maga extrahepaticus portalis nyele a bennfutó epevezetékkel - egyszerűen kivitelezhetővé tette az egyes lebenycsoportokat (lekötött, nem-lekötött) drenáló epeutak elkülönítését és kanulálását. Ily módon lehetőség nyílt a lebenyek epe- és ICG kiválasztásának meghatározására, a szegmentális májfunkcióban bekövetkező változások megítélésére.

Érdekes módon a máj testtömegre vonatkoztatott összesített epe kiválasztása szignifikáns mértékben nem változott a kísérlet teljes időtartalma alatt. Ennek hátterében a nem-lekötött lebenyek epetermelésében bekövetkező jelentős növekedés játszott szerepet, mely teljes mértékben képes volt egyensúlyozni a lekötött lebenyek drasztikus mértékben lecsökkent epe kiválasztását. Meglepően a nem-lekötött lebenyek epetermelésének fokozódása a májregeneráció kezdeti szakaszában (első 72 óra) számottevően meghaladta a lebenyek tömeggyarapodását, aminek következtében az

egységnyi májtömegre vonatkoztatott epe kiválasztásuk megnövekedett, csúcspontját a műtétet követő 48. órában érve el (közel 1,5-szörös növekmény). Ez az eredmény nagyon hasonló a partialis hepatectomia kapcsán tett megfigyelésekhez, miszerint a 2/3-os resectio után visszamaradó máj epe termelése a műtétet követő kritikus első 72 órában jelentős mértékben fokozódik [134-137]. A jelenség hátterében a resectio hatására bekövetkező "epesav-túlterheléssel" szemben fellépő gyors adaptációs válasz feltételezhető. A májparenchyma nagyobb részének eltávolítását követően a portalis keringésben recirkuláló epesavak egységnyi májtömegre jutó mennyisége ugrásszerűen megnövekszik, mely az epesavak szérumban és májszöveti koncentrációjának emelkedését eredményezi [135,138]. Hasonló a helyzet a vena portae ligatúráját követően, amikor a splanchnicus szervek felől érkező, epesavban gazdag portalis vér teljes mennyisége a nem-lekötött lebenyek felé irányul, s ennek következtében a regenerálódó lebenyek szöveti epesav koncentrációja a resectiohoz hasonlóan megsokszorozódik [139,140]. Tekintve hogy az epesavak magas koncentrációban toxikusak [141], így a hepatocyták kénytelenek „alkalmazkodni” a megváltozott körülmények okozta stresszhelyzethez. Irodalmi adatok alapján a fenti, a májregeneráció szempontjából is meghatározó, adaptációs válaszban az epesav szenzor farnesoid X receptor (FXR) kulcsfontosságú szerepet tölt be [142]. Az epesavak szöveti akkumulációjának hatására bekövetkező FXR aktiváció számos cél gén transzkripcióját befolyásolja. FXR szignál hatására a májsejtek csökkentik az epesavak *de novo* szintézisét, részben az epesav-szintézis kulcsenzimének, a koleszterin-7-alfa-hidroxiláz (CYP7a1) expressziójának csökkentése, részben az alternatív metabolikus útvonalak (CYP27a1, CYP8b1) gátlása révén [143]. Továbbá fokozódik az epesavak basolaterális effluxában szerepet játszó transzporterek (multidrog rezisztencia-asszociált fehérje 3 (MRP-3) és organic solute transporter-alpha (OSTa)) aktivitása, ami az epesavak szérumban koncentrációjának emelkedésében is megnyilvánul [135]. Ugyancsak jelentős változás következik be az epesavak canalicularis kiáramlásában, mely a májsejtek apicalis felszínén elhelyezkedő transzportfehérjék (epesó export pumpa (bile salt export pump, BSEP) és MRP-2) fokozott működésének az eredménye. Érdekes megfigyelés továbbá, hogy májregeneráció során az epesavak feldolgozására jellemző zonális heterogenitás elmosódik. Normális körülmények között döntően a periportal hepatocyták vesznek részt az epesavak metabolizmusában [144]. A májregeneráció kezdeti fázisában

azonban a midzonalis és pericentralis hepatocyták is bevonódnak az epesavak felvételébe és kiválasztásába [145]. A fenti változások eredményeképp fokozódik az egységnyi májtömegre jutó epesav-kiválasztás mértéke, mely célja feltételezhetően a mitoticusan aktív, periportalisan elhelyezkedő májsejtek védelme a toxikus epesavak felhalmozódása ellen [134]. Tekintve, hogy az epetermelés döntően az ozmotikusan aktív epesavak kiválasztásának függvénye [146], a fent részletezett adaptációs folyamat magyarázhatja a nem-lekötött lebenyekre jellemző fokozott epekiválasztást.

A fent leírtak alapján a nem-lekötött lebenyek epetermelésében bekövetkező változás egy komplex adaptációs válasz részének tekinthető, megkérdőjelezve jelen kísérleti elrendezésben az epetermelés, mint májfunkciós paraméter megbízhatóságát. A fenti feltételezést támasztják alá azon kísérletes és klinikai tanulmányok, melyek kimutatták, hogy különböző patológiás állapotokban (elzáródásos sárgaság [147], sepsis [131], meleg/hideg ischaemiás károsodás [148,149]) az ICG epeúti kiválasztása az epetermelésnél megbízhatóbban tükrözi a májsejtek viabilitását, funkcióját (diszfunkcióját), intracelluláris ATP tartalmát és így energetikai státuszát. Ezen irodalmi adatokat figyelembe véve vizsgálatainkat az egyes lebenycsoportok biliaris ICG kiválasztásának meghatározásával egészítettük ki.

Eredményeink alapján a máj összesített ICG kiválasztó képessége - a festék plazma eltűnési sebességéhez hasonló mértékben, azzal szoros korrelációt mutatva ($p=0,87$) - a ligatúrát követően átmenetileg károsult, mélypontját a műtétet követő 48. órában érve el (közel 50%-os redukció). E funkcióromlás hátterében feltételezhetően az ICG hepatobiliaris transzportjának ideiglenes zavara állhat, mely különböző dinamikával, de mindkét lebenycsoportban megfigyelhető volt. Az ICG hepatobiliaris transzportját számos tényező befolyásolja, úgymint szérum bilirubin (transzportproteinek kompetitív gátlása) és albumin (fehérjekötődés befolyásolása) koncentráció, a máj keringési állapota, a festék sinusoidalis membránon történő átjutása, intracelluláris transzportja, canalicularis effluxa, valamint az epetermelés mértéke [150]. Jelen kísérlet során a lekötés számottevő mértékben nem befolyásolta a szérum bilirubin és albumin koncentrációt, így ezen tényezők esetleges zavaró hatás kizárható. Ugyanakkor a nem-lekötött lebenyek mikrocirkulációja a portalis véráramlás fokozódásának megfelelően jelentős mértékben megnövekedett, mialatt a lebenyek egységnyi májtömegre jutó epekiválasztása csaknem a kiindulási érték másfélszeresét

érte el. Ugyan a hepatocyták ICG feldolgozását a festék eredete (azaz, hogy az artériás vagy a portalis rendszeren keresztül éri-e el a sinusoidokat) nem befolyásolja [151], a számottevően megnövekedett portalis influx és epe kiválasztás ellenére a lebenyek ICG exkréciós rátája a kísérlet kezdeti szakaszában (első 48 óra) nem növekedett. Sőt, a biliaris ICG koncentrációs görbék kiértékelése során a festék maximális koncentrációjának csökkenését (C_{MAX}) és az ennek eléréséhez szükséges idő megnyúlását (T_{MAX}) tapasztaltuk, ami az ICG hepatobiliaris transzportjának károsodására utal. Az ICG májsejtekből történő eliminációjában a sebesség-meghatározó lépés a festék cytoplasmaticus transzportja és canalicularis exkréciója [150]. Mivel mindkét folyamat nagy mennyiségű ATP-t igényel (mikrotubulusok, illetve a transzportproteinek működése), így az ICG epeúti kiválasztását döntően a sejtek energia-metabolizmusa, a hepatocyták ATP tartalma határozza meg [152] [153]. Mindezek alapján a vena portae ligatúrát követően a nem-lekötött lebenyek energetikai állapotának átmeneti károsodása feltételezhető. Irodalmi adatokkal alapján a ligatúra hatására a nem-lekötött lebenyekben a mitochondrialis DSN replikáció és így a mitochondrialis légzési lánc energiatermelése ugyan fokozódik, ez azonban nem képes lépést tartani a májregeneráció (sejtosztódás) enormis energetikai szükségletével [154]. Ennek következtében a nem-lekötött lebenyekben az ATP tartalom és a hozzáférhető energiataralékról reflektáló energiátöltés (energy charge, EC) átmenetileg lecsökken és csupán a sejtosztódás legaktívabb (első 24-48 óra) fázisát követően tér vissza a normál tartományba [78,155]. A fenti eredményekkel összhangban, kísérletünk során az ICG kiválasztást jellemző értékek (T_{MAX} , C_{MAX}) a mitoticus aktivitás csúcsával egy időben (48. óra) jelezték a májfunkció legjelentősebb mértékű romlását. Ezt a kritikus pontot követően azonban a máj ICG kiválasztása folyamatosan helyreállt, mialatt a T_{MAX} és C_{MAX} visszatért a kiindulási értékre, sőt utóbbi nem szignifikánsan, de meg is haladta azt. Ennek következtében a nem-lekötött lebenyek ICG exkréciós rátája a második napot követően ugrásszerűen megnövekedett, arányaiban szignifikáns mértékben felülmúlva a lebenyek tömeggyarapodását (túlkompensáció). Májreseciót követően a maradék máj ICG clearance funkcióját vizsgálva Hashimoto a regenerációt jellemző hasonló "hiperfunkciós" állapotot írt le [156]. Ezt azonban a visszamaradó májparenchyma fokozott keringésének, nem pedig valódi funkció növekménynek tartotta. Jelen vizsgálat eredményei a fenti megállapítást nem támasztják alá.

Kísérletünk során a nem-lekötött, regenerálódó lebenyek mikrocirkulációja valóban fokozódott, ez a változás azonban csak átmenetinek bizonyult és a műtétet követő 120-168. óra közt a lebenyek véráramlása már nem különbözött szignifikáns mértékben a kiindulási értéktől. Így a kísérleti periódus végén tapasztalt "*hiperfunkciós*" állapot valószínűleg nem keringés függő, háttérében egyéb, feltételezhetően kompenzációs folyamatok állhatnak, melynek célja a lekötött lebenyekben tapasztalt funkcionális hanyatlás kiegyensúlyozása.

Mint az a fejezet elején megvitásra került, a vena portae ligatúra hatására a lekötött lebenyek mikrocirkulációja jelentős mértékben károsodott, ami a centrolubularis régiókban súlyos fokú hypoxiához és ennek következtében a sejtek necro-apoptoticus halálához vezetett. Mindezek következtében a lebenyek kiválasztó funkciója (mind epe, mind ICG kiválasztás) röviddel a műtétet követően drasztikus mértékben lecsökkent. A 48. óra után azonban a lebenyek keringése fokozatosan felépült, mialatt helyreállt a normális májszöveti kép (necroticus szövettörmelék eltávolítása, gyulladás megszűnése). Ugyanakkor a lebenyek kiválasztó funkciója tartósan a műtétet követő 168. óráig szupprimált maradt. Ekkor a lebenyekre a lobulusok zsugorodás és a sinusoidok beszűkülése volt a jellemző. Tanaka és Yamasaki korábbi vizsgálatai kimutatták, hogy e beszűkült sinusoidokban a lebenyek arterializációja következtében (portalis vérben lévő nutriensek, hormonok és egyéb mediátorok hiánya miatt) ún. "*pseudocapillarizatio*" játszódik le, mely a fenestratio, porozitás csökkenése mellett részleges bazálmembrán kialakulásában nyilvánul meg [66,157]. Ezek a strukturális, ultra-strukturális változások jelentős mértékben befolyásolhatják különböző nagy-molekulasúlyú anyagok (mint például a fehérjéhez kötött ICG) diffúzióját, májsejtekhez való hozzáférhetőségét, ezáltal károsítva a lebenyek kiválasztó működését. Mindezek alapján feltételezhető, hogy a nem-lekötött lebenyekben tapasztalt "*hiperfunkció*", a lekötött lebenyek funkciókiesésére adott, harmonikus kompenzatórikus válasz eredménye.

Összegezve: a máj kiválasztó funkciója (ICG clearance, ICG exkréción) vena portae ligatúrát követően átmenetileg károsodik, melyben a lekötött és nem-lekötött lebenyek funkcióromlása egyaránt szerepet játszik. Ennek alapján megállapítható, hogy a nem-lekötött lebenyek regenerációja kezdetben a májfunkció rovására megy végbe. A mitoticus aktivitás csúcserékét követően azonban a lebenyek "*túlkompenzálnak*",

melynek következtében kiválasztó funkciójuk a tömeggyarapodást meghaladó mértékben növekszik meg. Ennek eredményeként a máj funkcionális kapacitása, a térfogat változásnál jelentősebb mértékben tolódik át a nem-lekötött, regenerálódó lebenyek irányában, ami a májfunkció inhomogén megoszlásához vezet. A morfológiai és funkcionális regeneráció között megfigyelt diszkrepancia felhívja a figyelmet a CT-volumetriában, mint a klinikai gyakorlatban a májregeneráció monitorozásra alkalmazott standard metodikában rejlő esetleges hibákra és így egyéb a szegmentális májfunkció megítélésére alkalmas technikák kifejlesztésének szükségességére.

Kísérletsorozatunk utolsó fázisában a vena portae ligatúra indukálta metabolikus (funkcionális) változásokat a legkorszerűbb vizsgálati metodikák közé sorolható nanoScan PET/MR segítségével tanulmányoztuk.

Az MR felvételek három dimenziós rekonstrukciójának segítségével a ligatúra hatására bekövetkező morfológiai változások vizsgálatát az egyes lebenycsoportok térfogat változásának meghatározásával egészítettük ki. Az MR volumetria ismételt mérések sorozatával, non-invazív módon, káros röntgen sugárzás nélkül tette lehetővé a regeneratív folyamat monitorozását, mely során ugyanazon állat első méréséből származó eredmények szolgáltak önkontrollként. Ez jelen kísérleti elrendezésben kifejezett jelentőséggel bír, tekintve a májregeneráció dinamikus voltát, melynek következtében fontos paraméterek veszhetnek el, illetve változhatnak meg, amennyiben azok vizsgálatára az állatok leölését követően (időpontként más-más egyedből) kerül sor [158]. Eredményeink alapján a sorozat mintavétel és a vele járó addicionális megterhelés (naponta történő altatás, aktivitás csökkenés, stb.) számottevően nem befolyásolta a regeneráció dinamikáját. A kisállat MR szolgáltatása volumetriás adatok szoros korrelációt mutattak az állatok boncolása során tapasztalt tömegváltozásokkal (mind a lekötött, mind a nem-lekötött lebenyek tekintetében). Ezáltal az irodalomban elsők közt bizonyítottuk a módszer alkalmasságát, hatékonyságát a májregeneráció *in vivo*, kísérletes tanulmányozásában.

Az egyes lebenycsoportok glükóz metabolizmusában bekövetkező változásokat ^{18}F izotóppal jelzett glükóz analóg (FDG) segítségével vizsgáltuk. Egy metabolikus csapda jelenség következtében (foszforilációt követően az FDG-6-foszfát a glükóz-6-foszfátáz enzimnek nem szubsztrátja, így további metabolizmusban már nem tud részt

venni) az FDG az intenzív glükóz metabolizmust folytató sejtekben felhalmozódik, dúsulásának mértéke pedig arányos a glükóz metabolizmus intenzitásával [159]. Az elvégzett PET mérések alapján az idő-aktivitás görbék lefutása, az FDG dúsulás üteme (glükóz metabolizmus mértéke) mind a lekötött, mind a nem-lekötött lebenyek esetében jelentősen megváltozott a ligatúra hatására. A dinamikus mérési eredmények összehasonlítása érdekében meghatároztuk az egyes lebenycsoportokra jellemző standard felvételi értéket (SUV), melyet egy referencia szövet (bal kamra), illetve a teljes máj radioaktivitás-koncentrációjához viszonyítottunk. A ligatúrát követően az FDG felvételi érték mindkét lebenycsoportban számottevően megnövekedett, a lebenyek glükóz-metabolizmusának fokozódására utalva. A fenti változások azonban a lekötött lebenyek esetében szignifikánsan nagyobb mértékűnek mutatkoztak, melynek következtében az adott lebenycsoport teljes májra vonatkoztatott farmakon felvétele ($SUV_{VOI}/SUV_{teljes\ máj}$) a lekötött lebenyek irányában tolódott el, inhomogén radiofarmakon eloszlást eredményezve a májon belül. A lebenyek közti különbség a műtétet követő 48. órában mutatkozott a legmarkánsabbnak, majd a posztoperatív 168. órára az FDG felvétel mindkét lebenycsoportban visszatért a kiindulási, ligatúra megelőző értékre és a máj ismét homogén radiofarmakon eloszlást mutatott. A fenti változások fiziológiai hátterét korábbi vizsgálataink eredményei magyarázhatják.

Mint azt kísérleteink során igazoltuk, az atrophia hátterében a kieső portalis vérellátás hiányából adódó pericentralis hypoxia és a következményes necroticus sejthalál áll. Ugyan az életképes sejtek redukciónak az FDG felvétel csökkenésében kellene megnyilvánulni [160], ennek ellenére a lekötött lebenyekben a radiofarmakon felhalmozódása volt megfigyelhető. Ezt a látszólagos ellentmondást több tényező is magyarázhatja. (1) A pericentralis, necroticus régióktól távolodva, a hypoxia súlyosságának csökkenésével párhuzamosan nagyszámban apoptoticus sejtek is megjelentek. Az apoptosis - a necrosis szemben - energaintenzív folyamat, tekintve, hogy az effektor, kaspáz molekulacsalád működése ATP-t igényel. Ugyanakkor az oxigénellátás zavara következtében e sejtek metabolikus folyamatai feltehetően a kevésbé hatékony anaerob glikolízis irányába tolódtak el, ami összességében a glükóz és így az FDG fokozott felvételét tette szükségessé. (2) A necroticus területek határán - az apoptosis mellett - gyulladásosejtek fokozott jelenléte is megfigyelhető volt. A leukocyták a szöveti törmelék eltávolításában és az eredeti májstruktúra

helyreállításában játszanak szerepet, s ennek során működésüket jelentős energiaigény, glükóz-turnover és így az FDG felvétel fokozódása jellemzi [161]. Fontos megjegyezni, hogy a fent említett szöveti változások (apoptosis, szöveti gyulladás), az atrophia kezdeti, aktív fázisában (24-72. óra) jelentős egyéni változatosságot mutattak, mely nyilvánult a PET mérések során kapott adatok jelentős mértékű szórásában is. (3) A fenti energiaigényes folyamatok mellett a fokozott FDG dúsulást magyarázhatja a szervezet szénhidrát háztartásának megváltozása is. Eredményeink alapján vena portae ligatúrát követően a vércukor szint jelentősebb mértékben nem változott. A májregeneráció kezdeti fázisa alatt az optimális vércukor szint fenntartásában a lekötött lebenyek fokozott glikogén lebontása alapvető szerepet játszhat, ami nyilvánult a PAS pozitív glikogén granulomok műtétet követő rapid kiürülésében is. A glikogenolízis sebesség meghatározó lépése glükóz-6-foszfát működéséhez kötött. Ugyanakkor Mueller - jelen vizsgálathoz hasonló kísérleti elrendezésében - kimutatta, hogy a lekötött lebenyekben az enzim expressziója egy átmeneti (6-12 óra), nem jelentős megingást leszámítva, számottevő mértékben nem változik [87]. Mindezek következtében (fokozott glikogén lebontás, változatlan glükóz-6-foszfát expresszió) számolni lehet a glükóz-6-foszfát intracelluláris felhalmozódásával. Normál körülmények közötti a májsejtek relatív magas glükóz-6-foszfát aktivitásának köszönhetően a csapdába esett FDG-6-foszfát gyorsan defoszforizálódik, a radiofarmakon felszabadulását eredményezve. Vena portae ligatúrát követően azonban a lekötött lebenyek fokozott glikogenolízise (glükóz-6-foszfát felhalmozódás) következtében a fenti folyamat kompetitív módon gátolódhat. (4) A fent részletezett szöveti és metabolikus változások mellett a kieső portális véráramlás következtében fellépő mikrocirkulációs zavar - az FDG csökkent kimosódásán keresztül - szintén jelentős mértékben hozzájárulhatott a radiofarmakon szöveti akkumulációjához. Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a lebenyek keringésében bekövetkező változások közvetlenül a műtétet követően érték el maximális mértéküket, majd később fokozatosan mérséklődve, a posztoperatív 72. órára visszatért a kezdeti, normál véráramlás, mellyel szemben a lebenyek FDG felvétele épp a 48-72. óra között tetőzött, megkérdőjelezve a keringés változások jelentőségét.

A nem-lekötött lebenyekben az FDG felvétel szintén megnövekedett (maximális értéke időben egybeesett a mitotikus aktivitás csúcserkével), azonban a lekötött

lebenyekben látott változásokhoz képest szignifikánsan kisebb mértékben. A fenti eredmény meglepő, tekintve a nem-lekötött lebenyekre jellemző magas mitotikus aktivitást, valamint az FDG dúsulás és a sejtproliferáció markerei (úm. Ki-67 immunfestés) közti erős összefüggését [162]. Ugyanakkor irodalmi adatok (döntően hepatectomia vizsgálatán alapuló kutatások) alapján nem a glükóz jelenti a sejtek elsődleges energiaforrását a májregeneráció során. A hepatocyták metabolizmusa már a regeneratív folyamat nagyon korai fázisában átvált a szénhidrátok felhasználásáról a lipidek hasznosítására [163]. Ezzel összefüggésben Brinkman tanulmánya kimutatta, hogy a glikolízis sebesség meghatározó enzimjének (glükokináz) koncentrációja közel a harmadára csökken a májregeneráció első 72 órájában [164]. Tekintve, hogy az FDG felvétele (dúsulása) szintén glükokináz működéséhez kötött, a májregenerációt jellemző csökkent glikolitikus aktivitás magyarázhatja a nem-lekötött lebenyek magas mitotikus aktivitása ellenére észlelt, csupán mérsékelten megnövekedett radiofarmakon felvételt. Ugyanakkor, nem szabad megfeledkezni a lebenycsoport megváltozott keringési viszonyairól sem, melyek szintén befolyásolhatták azok FDG felvételét. Mint azt Rocheleau korábbi tanulmánya kimutatta, vena portae ligatúrát követően a nem lekötött lebenyek véráramlása közel 230%-al fokozódik, mely jelentősen megnövekedett áramlás 96%-a a vena portae rendszeréből származik [94]. Tekintve, hogy a portalis érhálózat közel háromszor annyi glükózt szállít percenként, mint az arteria hepatica, így a nem-lekötött lebenyek glükóz ellátása messze felülmúlja a szükséges mennyiséget [165]. A magas glükóz koncentráció, ugyanakkor jelentős mértékben csökkentheti az FDG felvételt a glükóz transzporterek kötőhelyének kompetitív gátlása révén [166], hozzájárulva a nem-lekötött lebenyekben tapasztalt mérsékeltebb FDG dúsuláshoz.

Az utóbbi időben a nukleáris képalkotás (úm. SPECT, PET vizsgálatok) egyre nagyobb szerepet tölt be a különböző intervenciók terápiás hatásának monitorozásában. Ugyanakkor vena portae okklúziós technikák nyomon követésében az FDG-PET vizsgálat és az általunk megfigyelt, az egyes lebenycsoportokat jellemző fokozott FDG felvétel (fokozott metabolikus aktivitás) klinikai jelentősége ma még tisztázatlan. A megnövekedett FDG felvétel egyrészt a máj regeneratív, illetve atrophias folyamatainak aktivitását (metabolikus igényét) jellemezheti, ezáltal alkalmas lehet az elégtelen terápiás választ adó betegek korai kiszűrésére, lehetőséget teremtve egyéb sebészeti intervenció ("*rescue-ALPPS*") kivitelezésére. Másrészt a FDG-PET

vizsgálat alkalmas lehet a vena portae okklúziót követő tumor progresszió követésére, mely a beavatkozás sikertelenségének legfőbb oka. E tekintetben azonban az általunk megfigyelt fokozott FDG felvétel, a májszöveti háttéraktivitás növekedése következtében, mint zavaró tényező jelentkezhethet, megnehezítve az esetleges daganatterjedés megítélését. A fentiek alátámasztására, az FDG-PET vizsgálat klinikai alkalmazhatóságának igazolására azonban további preklinikai és humán vizsgálatok szükségesek.

Összességében jelen tanulmány részletes leírást adott a vena portae ligatúrát követő keringési, morfológiai és funkcionális változásokról. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a ligatúra hatására a splanchnicus keringésben (portalis vénás nyomás, shunt keringés, máj mikrocirkuláció) jelentős változások következnek be, melyek szoros összefüggést mutatnak, feltételezhetően oki tényezőként szerepelnek az indukált atrophia-hypertrophia folyamatában. A bekövetkező volumenváltozásokat jellemző szövettani jelenségek (mitosis vs. necro-apototicus sejthalál) eredményeként az egyes lebenycsoportok tömege és térfogata mellett szöveti mikrostruktúrájuk (lobularis szerkezet) is megváltozik, miközben a máj adaptálódik új keringési körülményeihez. Mindezen változások számottevő mértékben befolyásolják a máj kiválasztó funkcióját. A folyamatot a lekötött lebenyek rapid funkcionális hanyatlása mellett, a nem-lekötött lebenyek funkciónövekedése jellemzi, mely meghaladja a tömeggyarapodás mértékét a máj funkcionális inhomogenitását eredményezve. Mindezzel párhuzamosan a lebenycsoportok FDG felvétele átmenetileg számottevően megnövekszik, jelezve a máj glükóz igényének, metabolikus aktivitásának fokozódását, az atrophia, illetve májregeneráció energiaigényes voltát.

A fenti kísérletes eredményekből a klinikumban is hasznosítható következtetéseket levonni azonban csak megfelelő kritikai hozzáállással lehetséges. A vizsgálatok során felhasznált patkányok mája ugyanis lebenyezett szerkezetű. Ennek következtében a lebenyek közti parenchymális összeköttetés és collateralis hálózat - szemben a humán szituációval - elhanyagolható, mely jelentős mértékben befolyásolhatja a ligatúra hatására fellépő keringési és egyéb változásokat.

Mindemellett fontos megemlíteni, hogy vizsgálatainkat egészséges állatokon végeztük. Ezzel szemben vena portae okklúzióra daganatos megbetegedésben, többnyire valamilyen parenchymás károsodás (cirrhosis, kemoterápiához társult májkárosodás, alkoholos, illetve nem alkoholos eredetű zsírmáj) megléte mellett kerül sor. Mind a tumor, mind a májállomány állapotromlása képes befolyásolni a máj regenerációs képességét, megváltoztatni annak keringési és funkcionális állapotát. A fenti limitáló tényezők ellenére azonban az elvégzett kísérletek megfelelő kiindulási alapot képezhetnek további vizsgálatoknak, lehetővé téve az indukált atrophia-hypertrophia folyamatának pontosabb megértését, a sebésztechnikai módszer további finomítását.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A következőkben a szerző a célkitűzések fejezetben megfogalmazott kérdésekre pontokba szedve válaszol, összegezve a kutatás során kapott eredményeket és a levont következtetések.

1.) Patkányokon a megfelelő mikrosebészeti készségek elsajátítása után a különböző mértékű, kiterjedt parenchyma mennyiséget érintő vena portae ligatúrák biztonságosan és eredményesen kivitelezhetők, lehetőséget teremtve standard, reprodukálható kisállat modellek felállítására, az indukált regeneratív folyamat további vizsgálatára. Az elzárt vena portae ágak által ellátott májparenchyma mennyiségének növelésével fokozódik az indukált májregeneráció (sejtosztódás üteme, aktivitása) és a portalis vénás nyomásváltozás mértéke. A két változó között szoros korreláció mutatható ki, mely megfigyelés a ligatúra okozta keringésváltozások májregeneráció indukációjában, szabályozásában betöltött szerepét támasztja alá.

2.) A vena portae ligatúra számottevő mértékben nem befolyásolja a szisztémás keringési paramétereket (artériás középnyomás), ugyanakkor hatására jelentős változások következnek be a splanchnicus véráramlásban. A leköttéstől proximalisan portalis vénás nyomásemelkedés és a shunt keringés fokozódásából adódóan splenomegalia jön létre ("*backward*" hatás). Ugyanakkor a ligatúra a máj mikrokeringését is jelentős mértékben befolyásolja ("*forward*" hatás). A leköttött lebenyekben fellépő mikrocirkulációs zavarral (közel 50%-os áramlás romlás) szemben, a nem-leköttött lebenyek véráramlásának fokozódása (1,76-szoros növekmény) figyelhető meg. A fenti keringési változások azonban csupán átmenetinek bizonyultak. Az indukált tömegváltozások előrehaladtával a máj adaptálódik megváltozott áramlási viszonyaihoz, mialatt egy új egyensúlyi állapot kialakulásával helyreállnak a ligatúrát megelőző keringési értékek.

3.) A vena portae ligatúra indukálta atrophia-hypertrophia komplex, szorosan kontrollált, kiegyensúlyozott folyamat, aminek eredményeképp a rapid

tömegváltozások ellenére a máj össztömege a leköttést követően nem változik. A makroszkópos változások háttérében a leköttött lebenyekben centrolobularisan elhelyezkedő necro-apoptoticus sejtpusztulás, míg a nem-leköttött lebenyekben a hepatocyták mitoticus aktivitásának fokozódása áll. A fenti hisztológiai változások patkánymájban a műtétet követő 24-48. órában érik el csúcserőértéküket, majd a posztoperatív 120-168. órára helyreáll a normális májszöveti kép. Ennek eredményeképp az indukált atrophia-hypertrophia jelensége a műtétet követő 120-168. óra között platófázist ér el, s ennek alapján feltételezhető, hogy patkánymájban a folyamat egy hét leforgása alatt komplettálódik. A ligatúra hatására fellépő szövettani változások következtében a lebenyek strukturális változásokon is keresztülmennek. A leköttött lebenyek atrophijája során a máj szerkezeti egységét képező májlebenyek (lobulusok) kerülete és területe egyaránt a töredékére csökken (a kiindulási érték 0,32-, illetve 0,54-szeresére). Ezzel ellentétben a nem-leköttött lebenyekben a lobulusok mérete szignifikánsan megnövekszik (a lebenyek kerület a kezdeti érték 1,52-, illetve 2,35-szörösére nő), mely alapján feltételezhető, hogy a regeneráció folyamatában elsősorban nem új lobulusok képződése, hanem a meglévő májlebenyek hypertrophijája játsza a fő szerepet.

4.) Vena portae ligatúrát követően a máj funkcióját jellemző laboratóriumi paraméterek számottevő mértékben nem változnak (kivéve transzamináz szintek - szöveti károsodás következtében), szemben az ICG clearance, mint kvantitatív májfunkciós teszt eredményeivel, ami a globális májfunkció átmeneti károsodását jelzi a műtétet követő első 72 órában. A fenti eredmények alapján az ICG clearance teszt a hagyományos laboratóriumi vérvizsgálatoknál megbízhatóbban jelzi a máj funkcionális állapotát.

Vena portae ligatúrát követően a leköttött lebenyek kiválasztó funkciója drasztikus mértékben lecsökken, ami mind az epe, mind az ICG kiválasztás mértékében megnyilvánul. Ezzel szemben a nem-leköttött lebenyek epe kiválasztása jelentős mértékben megnövekszik, mely változás már röviddel a leköttést követően észlelhető (feltételezhetően egy adaptív mechanizmus eredményeképp, nem valódi funkcionálnövekedés). Ugyanakkor a lebenycsoport ICG kiválasztása átmenetileg károsodik és csak a mitoticus aktivitás csúcserőértéke után (48. óra) következik be az ICG

exkréció fokozódása. Eredményeink alapján feltételezhető hogy a biliaris ICG kiválasztás az epetermelésnél megbízhatóbb paraméter a máj kiválasztó funkciója szempontjából.

A nem-lekötött lebenyek funkciónövekedése (ICG exkréció alapján) kezdetben elmarad a rapid tömeggyarapodástól. Később azonban, a sejtosztódási csúcs elérését követően, a lebenyek kiválasztó funkciója a tömeggyarapodást meghaladó mértékben növekszik meg, ennek eredményeként a máj funkcionális kapacitása, a térfogat változásnál jelentősebb mértékben tolódik át a nem-lekötött, regenerálódó lebenyek irányába, a májfunkció inhomogén megoszlását eredményezve.

5.) A PET/MR vizsgálatok során tapasztalt térfogati változások szoros korrelációt mutattak az állatok boncolása során mért tömegváltozásokkal. Ennek alapján megállapítható, hogy a módszer alkalmas kisállatokban a rapid térfogat változással járó májsebészeti intervenciók non-invazív vizsgálatára, a regeneratív folyamatok monitorozására.

6.) Vena portae ligatúra hatására mind a lekötött, mind a nem-lekötött lebenyekben szignifikáns mértékben megnövekszik az FDG felvétel mértéke. Az FDG dúsulásában bekövetkező változások időben egybeesnek az észlelt szövettani jelenségekkel (mitosis vs. necro-apoptoticus sejthalál, szöveti gyulladás). Mindezek alapján feltételezhető az atrophia és a regeneráció fokozott energiaigénye és ennek következtében a lebenycsoportok fokozott glükóz felvétele, metabolizmusa.

Új megállapítások

A dolgozat alapján az alábbi új megállapítások tehetők:

- 1.) Patkánymodellben a különböző, kiterjedt parenchyma mennyiséget érintő vena portae ligatúrák eredményesen kivitelezhetők. Az elzárt vena portae ágak által ellátott májtömeg növelésével fokozódik az indukált májregeneráció és a portalis vénás nyomásváltozás mértéke, s e két változó között szoros korreláció mutatható ki.
- 2.) A vena portae ligatúra indukálta szövettani változásokat a máj strukturális átrendeződése jellemzi, mely során a máj szerkezeti (funkcionális) egységét képző májlebenyek (lobulusok) jelentős méretbeli változáson mennek keresztül, mialatt számuk feltételezhetően állandó marad.
- 3.) Vena portae ligatúrát követően az egyes lebenycsoportok kiválasztó funkciója jelentős mértékben megváltozik, mely során - a regenerálódó lebenyek tömeggyarapodást meghaladó mértékű funkcionális regenerációja következtében - a máj funkcionális kapacitása a nem-lekötött lebenyek irányába tolódik át, inhomogén funkció megoszlást eredményezve.
- 4.) Az elvégzett PET/MR vizsgálatok alapján a vena portae ligatúrát jellemző folyamatokat (atrófia, illetve májregeneráció) fokozott energiaigény és ennek következtében a lebenycsoportok fokozott glükóz felvétele, metabolizmusa jellemzi.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Bevezetés: A primer és szekunder májdaganatok kezelésében az egyetlen valódi kuratív megoldást a tumor sebészi eltávolítása jelenti. Kiterjedt tumorállomány esetén azonban a műtét után visszamaradó májparenchyma elégtelen mennyisége gyakran a májresectio akadályát, ellenjavallatát képezi. Ez esetekben nyújt megoldást a szelektív vena portae okklúzió, ami a máj vénás vérellátásának redisztribúciójával a portalis keringéstől megfosztott lebeny atrophiját, míg az ellenoldali májfél kompenzatórikus hypertrophiáját (regeneráció) eredményezi, ezáltal lehetővé téve nagyméretű daganatoknak egy második lépésben történő biztonságos eltávolítását.

Célkitűzés: Munkánk célja a vena portae okklúzió indukálta májregenerációt jellemző keringési, morfológia és funkcionális változások vizsgálata volt.

Anyagok és módszerek: Kísérleteinket hím Wistar patkányokon végeztük. Különböző mértékű (a máj össztömegének 70-, 80-, 90%-át ellátó) vena portae ligatúrát követően (24, 48, 72, 120, 168 órával) vizsgáltuk a fellépő morfológiai (lebenytömeg, nedvességtartalom, hisztológia, lobulus méret), keringési (artériás középnyomás, portalis vénás nyomás, máj mikrocirkuláció), valamint funkcionális (laboratóriumi vértesztek, epetermelés, ICG kiválasztás, glükóz metabolizmus) változásokat.

Eredmények: Vena portae ligatúra hatására a splanchnicus keringésben jelentős változások következtek be, melyek szoros összefüggést mutattak, feltételezhetően oki tényezőként szerepeltek az indukált atrophia-hypertrophia folyamatában. A bekövetkező volumenváltozások során a lebenyek szöveti struktúrája (lobularis szerkezet) is megváltozott, miközben a máj adaptálódott az új keringési körülményeihez. Mindezen változások számottevő mértékben befolyásolták a máj funkcionális kapacitását. A folyamatot a lekötött lebenyek rapid funkcionális hanyatlása mellett a nem-lekötött lebenyek funkcionálnövekedése jellemezte, ami meghaladta a tömeggyarapodás mértékét.

Következtetés: Vena portae ligatúra a máj vénás keringésének redisztribúciójával a lekötéssel ellenoldali lebenyekben egy masszív regeneratív választ indukált, mely mértéke arányos az elzárt vena portea ágak által ellátott májparenchyma mennyiségével. A regeneráció során a lebenyek funkcionális kapacitása a tömeggyarapodást meghaladó mértékben növekedett meg.

8. SUMMARY

Introduction: Surgical removal of the tumor is the only curative therapeutic option for the management of primary and secondary liver malignancies. Excessive removal of liver parenchyma, however, is often contraindicated, due to the inadequate volume of the future liver remnant. The most commonly used methods to overcome this issue are the selective portal vein occlusion techniques. These procedures are applied to redirect portal blood flow away from the liver lobes designated for resection, towards the anticipated future liver remnant resulting in future liver remnant hypertrophy (regeneration), while the portal deprived lobes undergo atrophy.

Aims: The aim of present study was to assess the hemodynamic, morphological and functional alterations induced by portal vein ligation in a well-established rat model.

Materials and Methods: Male Wistar rats underwent portal vein ligation affecting different portions of the liver parenchyma (70-, 80-, 90%). Before the operation as well as 24-, 48-, 72-, 120 and 168 hours after, morphology (liver wet weight, wet to dry ratio, histology, lobules size), hemodynamics (mean arterial pressure, portal vein pressure, liver microcirculation), and function (laboratory blood test, hepatic bile flow, indocyanine-green excretion, and glucose metabolism) of the liver were examined.

Results: Portal vein ligation significantly affected the splanchnic circulation. Circulatory changes showed a close relationship with the induced atrophic-hypertrophic processes and are presumably one of the main causal factors behind this phenomenon. During the volumetric alterations (atrophy-hypertrophy) liver lobes (lobular structure) underwent architectural changes while the liver adapted to its new circulatory circumstances. All of these changes had significant effect on liver function. The process was characterized by a rapid functional decline in the ligated lobes, while the functional capacity of the non-ligated lobes has increased in a greater extent than the weight of the liver lobes.

Conclusion: Redistribution of venous inflow of the liver via portal vein ligation induced a massive regenerative response in contralateral lobes. The extent of hypertrophy was proportional to the amount of liver parenchyma supplied by the occluded portal vein branches. During the regenerative process functional increase of non-ligated lobes was more pronounced than expected based on the degree of the observed volume gain.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. (2012) EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 56: 908-943.
2. Kupcsulik P (2009) Surgical oncology of colorectal liver metastases. *Orvosképzés* 4: 255-265.
3. Macedo FI, Makarawo T (2014) Colorectal hepatic metastasis: Evolving therapies. *World J Hepatol* 6: 453-463.
4. Kupcsulik P (2012) [Liver surgery]. *Magy Seb* 65: 143-149.
5. Garcea G, Ong SL, Maddern GJ (2009) Predicting liver failure following major hepatectomy. *Dig Liver Dis* 41: 798-806.
6. Dimitroulis D, Nikiteas N, Troupis T, Patsouras D, Skandalakis P, Kouraklis G (2010) Role of surgery in colorectal liver metastases: too early or too late? *World J Gastroenterol* 16: 3484-3490.
7. Nathan H, Segev DL, Mayo SC, Choti MA, Cameron AM, Wolfgang CL, Hirose K, Edil BH, Schulick RD, Pawlik TM (2012) National trends in surgical procedures for hepatocellular carcinoma: 1998-2008. *Cancer* 118: 1838-1844.
8. Cescon M, Vetrone G, Grazi GL, Ramacciato G, Ercolani G, Ravaioli M, Del Gaudio M, Pinna AD (2009) Trends in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1500 consecutive unselected cases over 20 years. *Ann Surg* 249: 995-1002.
9. Mullen JT, Ribero D, Reddy SK, Donadon M, Zorzi D, Gautam S, Abdalla EK, Curley SA, Capussotti L, Clary BM, Vauthey JN (2007) Hepatic insufficiency and mortality in 1,059 noncirrhotic patients undergoing major hepatectomy. *J Am Coll Surg* 204: 854-862; discussion 862-854.
10. Allard MA, Adam R, Bucur PO, Termos S, Cunha AS, Bismuth H, Castaing D, Vibert E (2013) Posthepatectomy portal vein pressure predicts liver failure and mortality after major liver resection on noncirrhotic liver. *Ann Surg* 258: 822-829; discussion 829-830.
11. Jaeck D, Bachellier P, Oussoultzoglou E, Weber JC, Wolf P (2004) Surgical resection of hepatocellular carcinoma. Post-operative outcome and long-term results in Europe: an overview. *Liver Transpl* 10: S58-63.

12. Balzan S, Belghiti J, Farges O, Ogata S, Sauvanet A, Delefosse D, Durand F (2005) The "50-50 criteria" on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. *Ann Surg* 242: 824-828, discussion 828-829.
13. Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ (2005) The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 54: 289-296.
14. Dahm F, Georgiev P, Clavien PA (2005) Small-for-size syndrome after partial liver transplantation: definition, mechanisms of disease and clinical implications. *Am J Transplant* 5: 2605-2610.
15. Rahbari NN, Garden OJ, Padbury R, Brooke-Smith M, Crawford M, Adam R, Koch M, Makuuchi M, Dematteo RP, Christophi C, Banting S, Usatoff V, Nagino M, Maddern G, Hugh TJ, Vauthey JN, Greig P, Rees M, Yokoyama Y, Fan ST, Nimura Y, Figueras J, Capussotti L, Buchler MW, Weitz J (2011) Posthepatectomy liver failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). *Surgery* 149: 713-724.
16. Lee SS, Hadengue A, Girod C, Braillon A, Lebrec D (1987) Reduction of intrahepatic vascular space in the pathogenesis of portal hypertension. In vitro and in vivo studies in the rat. *Gastroenterology* 93: 157-161.
17. Kanematsu T, Takenaka K, Furuta T, Ezaki T, Sugimachi K, Inokuchi K (1985) Acute portal hypertension associated with liver resection. Analysis of early postoperative death. *Arch Surg* 120: 1303-1305.
18. Asencio JM, Vaquero J, Olmedilla L, Garcia Sabrido JL (2013) "Small-for-flow" syndrome: shifting the "size" paradigm. *Med Hypotheses* 80: 573-577.
19. Clavien PA, Oberkofler CE, Raptis DA, Lehmann K, Rickenbacher A, El-Badry AM (2010) What is critical for liver surgery and partial liver transplantation: size or quality? *Hepatology* 52: 715-729.
20. Kupcsulik P (2010) [Surgical oncology of hepatocellular carcinoma (HCC)]. *Orv Hetil* 151: 1483-1487.
21. van Lienden KP, van den Esschert JW, de Graaf W, Bipat S, Lameris JS, van Gulik TM, van Delden OM (2013) Portal vein embolization before liver resection: a systematic review. *Cardiovasc Intervent Radiol* 36: 25-34.

22. Urata K, Hashikura Y, Ikegami T, Terada M, Kawasaki S (2000) Standard liver volume in adults. *Transplant Proc* 32: 2093-2094.
23. Heinemann A, Wischhusen F, Puschel K, Rogiers X (1999) Standard liver volume in the Caucasian population. *Liver Transpl Surg* 5: 366-368.
24. Vauthey JN, Abdalla EK, Doherty DA, Gertsch P, Fenstermacher MJ, Loyer EM, Lerut J, Materne R, Wang X, Encarnacion A, Herron D, Mathey C, Ferrari G, Charnsangavej C, Do KA, Denys A (2002) Body surface area and body weight predict total liver volume in Western adults. *Liver Transpl* 8: 233-240.
25. Ribero D, Chun YS, Vauthey JN (2008) Standardized liver volumetry for portal vein embolization. *Semin Intervent Radiol* 25: 104-109.
26. Bennink RJ, Tulchinsky M, de Graaf W, Kadry Z, van Gulik TM (2012) Liver function testing with nuclear medicine techniques is coming of age. *Semin Nucl Med* 42: 124-137.
27. Szijarto A, Hargitai B, Fischer S, Darvas K, Kupcsulik P (2009) Two-staged procedure of portal ligation and hepatectomy monitored by ICG clearance. *J Invest Surg* 22: 63-68.
28. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M (2005) Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 12: 16-22.
29. Kauffmann R, Fong Y (2014) Post-hepatectomy liver failure. *Hepatobiliary Surg Nutr* 3: 238-246.
30. Frerichs FT, Murchison C (1879) *A Clinical Treatise on Diseases of the Liver*: William Wood.
31. van Gulik TM, van den Esschert JW (2010) James Cantlie's early messages for hepatic surgeons: how the concept of pre-operative portal vein occlusion was defined. *HPB (Oxford)* 12: 81-83.
32. Rous P, Larimore LD (1920) Relation of the portal blood to liver maintenance : a demonstration of liver atrophy conditional on compensation. *J Exp Med* 31: 609-632.
33. Honjo I, Suzuki T, Ozawa K, Takasan H, Kitamura O (1975) Ligation of a branch of the portal vein for carcinoma of the liver. *Am J Surg* 130: 296-302.

34. Makuuchi M, Takayasu K, Takuma T (1984) Preoperative transcatheter embolization of the portal venous branch for patients receiving extended lobectomy due to the bile duct carcinoma. *J Jpn Soc Clin Surg* 45: 1558-1564.
35. Kinoshita H, Sakai K, Hirohashi K, Igawa S, Yamasaki O, Kubo S (1986) Preoperative portal vein embolization for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 10: 803-808.
36. Zorzi D, Laurent A, Pawlik TM, Lauwers GY, Vauthey JN, Abdalla EK (2007) Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 94: 274-286.
37. Wilms C, Mueller L, Lenk C, Wittkugel O, Helmke K, Krupski-Berdien G, Rogiers X, Broering DC (2008) Comparative study of portal vein embolization versus portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant using a mini-pig model. *Ann Surg* 247: 825-834.
38. Broering DC, Hillert C, Krupski G, Fischer L, Mueller L, Achilles EG, Schulte am Esch J, Rogiers X (2002) Portal vein embolization vs. portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant. *J Gastrointest Surg* 6: 905-913; discussion 913.
39. Robles R, Marin C, Lopez-Conesa A, Capel A, Perez-Flores D, Parrilla P (2012) Comparative study of right portal vein ligation versus embolisation for induction of hypertrophy in two-stage hepatectomy for multiple bilateral colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 38: 586-593.
40. Aussilhou B, Lesurtel M, Sauvanet A, Farges O, Dokmak S, Goasguen N, Sibert A, Vilgrain V, Belghiti J (2008) Right portal vein ligation is as efficient as portal vein embolization to induce hypertrophy of the left liver remnant. *J Gastrointest Surg* 12: 297-303.
41. Capussotti L, Muratore A, Baracchi F, Lelong B, Ferrero A, Regge D, Delpero JR (2008) Portal vein ligation as an efficient method of increasing the future liver remnant volume in the surgical treatment of colorectal metastases. *Arch Surg* 143: 978-982; discussion 982.
42. Nagino M, Kamiya J, Nishio H, Ebata T, Arai T, Nimura Y (2006) Two hundred forty consecutive portal vein embolizations before extended hepatectomy for

- biliary cancer: surgical outcome and long-term follow-up. *Ann Surg* 243: 364-372.
43. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R (2007) Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* 356: 1545-1559.
 44. Ribero D, Abdalla EK, Madoff DC, Donadon M, Loyer EM, Vauthey JN (2007) Portal vein embolization before major hepatectomy and its effects on regeneration, resectability and outcome. *British Journal of Surgery* 94: 1386-1394.
 45. Hahn O, Dudas I, Pajor P, Gyorke T, Korom C, Zsirka-Klein A, Kupcsulik P, Harsanyi L (2013) [ALPPS (Associated Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy) -- faster and greater growth of liver]. *Magy Seb* 66: 21-26.
 46. Abulkhir A, Limongelli P, Healey AJ, Damrah O, Tait P, Jackson J, Habib N, Jiao LR (2008) Preoperative portal vein embolization for major liver resection: a meta-analysis. *Ann Surg* 247: 49-57.
 47. Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, Nadalin S, Baumgart J, Farkas SA, Fichtner-Feigl S, Lorf T, Goralcyk A, Horbelt R, Kroemer A, Loss M, Rummele P, Scherer MN, Padberg W, Konigsrainer A, Lang H, Obed A, Schlitt HJ (2012) Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings. *Ann Surg* 255: 405-414.
 48. de Santibanes E, Clavien PA (2012) Playing Play-Doh to prevent postoperative liver failure: the "ALPPS" approach. *Ann Surg* 255: 415-417.
 49. DeWeese M, Lewis Jr C, Mich A (1951) Partial hepatectomy in the dog: an experimental study. *Surgery* 30: 642-651.
 50. Weinbren K (1955) The portal blood supply and regeneration of the rat liver. *Br J Exp Pathol* 36: 583-591.
 51. Bax HR, Mansens BJ, Schalm L (1956) Atrophy of the liver after occlusion of the bile ducts or portal vein and compensatory hypertrophy of the unoccluded portion and its clinical importance. *Gastroenterology* 31: 131-155.
 52. Kraus GE, Beltran A (1959) Effect of induced infarction on rat liver implanted with Walker carcinoma 256. *Arch Surg* 79: 769-774.

53. Steiner PE, Martinez JB (1961) Effects on the Rat Liver of Bile Duct, Portal Vein and Hepatic Artery Ligations. *Am J Pathol* 39: 257-289.
54. Kerr JFR (1965) A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *The Journal of Pathology and Bacteriology* 90: 419-435.
55. Rozga J, Jeppsson B, Bengmark S (1986) Portal branch ligation in the rat. Reevaluation of a model. *Am J Pathol* 125: 300-308.
56. Ikeda K, Kinoshita H, Hirohashi K, Kubo S, Kaneda K (1995) The ultrastructure, kinetics and intralobular distribution of apoptotic hepatocytes after portal branch ligation with special reference to their relationship to necrotic hepatocytes. *Arch Histol Cytol* 58: 171-184.
57. Picard C, Starkel P, Sempoux C, Saliez A, Lebrun V, Horsmans Y (2004) Molecular mechanisms of apoptosis in the liver of rats after portal branch ligation with and without retrorsine. *Lab Invest* 84: 618-628.
58. Ueda J, Chijiwa K, Nakano K (2004) Cyclin expression in the atrophying and proliferating lobes of the liver after portal vein branch ligation and hepatectomy in rats. *J Surg Res* 120: 89-96.
59. Takemura S, Minamiyama Y, Hirohashi K, Kubo S, Funae Y, Kinoshita H (2006) Recovery of hepatic function determined by cytochrome P450-dependent drug metabolism lags after compensatory hepatic volume changes after portal vein ligation in rats. *J Surg Res* 134: 285-291.
60. Fulop A, Szijarto A, Harsanyi L, Budai A, Pekli D, Korsos D, Horvath I, Kovacs N, Karlinger K, Mathe D, Szigeti K (2014) Demonstration of metabolic and cellular effects of portal vein ligation using multi-modal PET/MRI measurements in healthy rat liver. *PLoS One* 9: e90760.
61. van den Esschert JW, van Lienden KP, de Graaf W, Maas MA, Roelofs JJ, Heger M, van Gulik TM (2011) Portal vein embolization induces more liver regeneration than portal vein ligation in a standardized rabbit model. *Surgery* 149: 378-385.
62. Liska V, Treska V, Mirka H, Kobr J, Sykora R, Skalicky T, Sutnar A, Bruha J, Fiala O, Vycital O, Chlumska A, Holubec L, Matejovic M (2009) Interleukin-6

- augments activation of liver regeneration in porcine model of partial portal vein ligation. *Anticancer Res* 29: 2371-2377.
63. Liska V, Slowik P, Eggenhofer E, Treska V, Renner P, Popp FC, Mirka H, Kobr J, Sykora R, Schlitt HJ, Holubec L, Chlumska A, Skalicky T, Matejovic M, Dahlke MH (2009) Intraportal injection of porcine multipotent mesenchymal stromal cells augments liver regeneration after portal vein embolization. *In Vivo* 23: 229-235.
 64. Bretagnol F, Maggiori L, Zappa M, Sibert A, Vilgrain V, Panis Y (2011) Selective portal vein embolization and colorectal liver metastases in rat: a new experimental model for tumor growth study. *J Surg Res* 171: 669-674.
 65. Ogasawara K, Uchino J, Une Y, Fujioka Y (1996) Selective portal vein embolization with absolute ethanol induces hepatic hypertrophy and makes more extensive hepatectomy possible. *Hepatology* 23: 338-345.
 66. Tanaka H, Ikeda K, Matsuyama M, Kubo S, Hirohashi K, Kinoshita H (1997) Morphological and functional changes after portal vein occlusion in rats. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery* 4: 365-372.
 67. Furrer K, Tian Y, Pfammatter T, Jochum W, El-Badry AM, Graf R, Clavien PA (2008) Selective portal vein embolization and ligation trigger different regenerative responses in the rat liver. *Hepatology* 47: 1615-1623.
 68. de Graaf W, van den Esschert JW, van Lienden KP, Roelofs JJ, van Gulik TM (2011) A rabbit model for selective portal vein embolization. *J Surg Res* 171: 486-494.
 69. van den Esschert JW, van Lienden KP, Alles LK, van Wijk AC, Heger M, Roelofs JJ, van Gulik TM (2012) Liver regeneration after portal vein embolization using absorbable and permanent embolization materials in a rabbit model. *Ann Surg* 255: 311-318.
 70. Ishikawa M, Yogita S, Iuchi M, Yagi K, Chikaishi H, Fukuda Y, Miyake H, Harada M, Tashiro S (2000) Experimental and clinical studies on liver regeneration following transcatheter portal embolization. *Hepatogastroenterology* 47: 226-233.

71. Huang JY, Yang WZ, Li JJ, Jiang N, Zheng QB (2006) Portal vein embolization induces compensatory hypertrophy of remnant liver. *World J Gastroenterol* 12: 408-414.
72. Tsoumakidou G, Theocharis S, Ptohis N, Alexopoulou E, Mantziaras G, Kelekis NL, Brountzos EN (2011) Liver hypertrophy after percutaneous portal vein embolization: comparison of N-butyl-2-cyanocrylate versus sodium acrylate-vinyl alcohol copolymer particles in a swine model. *Cardiovasc Intervent Radiol* 34: 1042-1049.
73. Duncan JR, Hicks ME, Cai SR, Brunt EM, Ponder KP (1999) Embolization of portal vein branches induces hepatocyte replication in swine: a potential step in hepatic gene therapy. *Radiology* 210: 467-477.
74. Lainas P, Boudechiche L, Osorio A, Coulomb A, Weber A, Pariente D, Franco D, Dagher I (2008) Liver regeneration and recanalization time course following reversible portal vein embolization. *J Hepatol* 49: 354-362.
75. Bilodeau M, Aubry MC, Houle R, Burnes PN, Ethier C (1999) Evaluation of hepatocyte injury following partial ligation of the left portal vein. *J Hepatol* 30: 29-37.
76. Kerr JF (1971) Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol* 105: 13-20.
77. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26: 239-257.
78. Kameoka N, Chijiwa K, Kozaki N, Makino I, Naito T, Tanaka M (1996) Hepatic adenine nucleotides and DNA synthesis during the regenerative and atrophic process of the liver lobes after selective portal vein ligation. *Eur Surg Res* 28: 212-221.
79. Goto A (1958) Regeneration of the experimental cirrhotic liver in rats. . *Nihon Gekagakkai Zasshi (Arch Jpn Chir)* 29 1622.
80. Michalopoulos GK, DeFrances MC (1997) Liver regeneration. *Science* 276: 60-66.
81. Picard C, Lambotte L, Starkel P, Sempoux C, Saliez A, Van Den Berge V, de Saeger C, Horsmans Y (2003) Retrorsine: a kinetic study of its influence on rat liver regeneration in the portal branch ligation model. *J Hepatol* 39: 99-105.

82. Takeuchi E, Nimura Y, Mizuno S, Nagino M, Shoji-Kawaguchi M, Izuta S, Yoshida S (1996) Ligation of portal vein branch induces DNA polymerases alpha, delta, and epsilon in nonligated lobes. *J Surg Res* 65: 15-24.
83. Lambotte L, Li B, Leclercq I, Sempoux C, Saliez A, Horsmans Y (2000) The compensatory hyperplasia (liver regeneration) following ligation of a portal branch is initiated before the atrophy of the deprived lobes. *J Hepatol* 32: 940-945.
84. Kim RD, Kim JS, Watanabe G, Mohuczy D, Behrns KE (2008) Liver regeneration and the atrophy-hypertrophy complex. *Semin Intervent Radiol* 25: 92-103.
85. Higgins G, Anderson R (1931) Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* 12: 186-202.
86. Mueller L, Broering DC, Meyer J, Vashist Y, Goettsche J, Wilms C, Rogiers X (2002) The induction of the immediate-early-genes Egr-1, PAI-1 and PRL-1 during liver regeneration in surgical models is related to increased portal flow. *J Hepatol* 37: 606-612.
87. Mueller L, Grotelueschen R, Meyer J, Vashist YK, Abdulgawad A, Wilms C, Hillert C, Rogiers X, Broering DC (2003) Sustained function in atrophying liver tissue after portal branch ligation in the rat. *J Surg Res* 114: 146-155.
88. Takamura K, Tsuchida K, Miyake H, Tashiro S, Sugino H (2005) Activin and activin receptor expression changes in liver regeneration in rat. *J Surg Res* 126: 3-11.
89. Heinrich S, Jochum W, Graf R, Clavien PA (2006) Portal vein ligation and partial hepatectomy differentially influence growth of intrahepatic metastasis and liver regeneration in mice. *J Hepatol* 45: 35-42.
90. Szijártó A, Fülöp A (2015) Triggered Liver Regeneration: From Experimental Model to Clinical Implications. *Eur Surg Res* 54: 148-161.
91. Fausto N, Riehle KJ (2005) Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 12: 181-189.
92. Kollmar O, Corsten M, Scheuer C, Vollmar B, Schilling MK, Menger MD (2007) Portal branch ligation induces a hepatic arterial buffer response, microvascular

- remodeling, normoxygenation, and cell proliferation in portal blood-deprived liver tissue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292: G1534-1542.
93. Lauth WW (1983) Relationship between hepatic blood flow and overall metabolism: the hepatic arterial buffer response. *Fed Proc* 42: 1662-1666.
94. Rocheleau B, Ethier C, Houle R, Huet PM, Bilodeau M (1999) Hepatic artery buffer response following left portal vein ligation: its role in liver tissue homeostasis. *Am J Physiol* 277: G1000-1007.
95. Sato Y, Koyama S, Tsukada K, Hatakeyama K (1997) Acute portal hypertension reflecting shear stress as a trigger of liver regeneration following partial hepatectomy. *Surg Today* 27: 518-526.
96. Schoen JM, Wang HH, Minuk GY, Lauth WW (2001) Shear stress-induced nitric oxide release triggers the liver regeneration cascade. *Nitric Oxide* 5: 453-464.
97. Morsiani E, Aleotti A, Ricci D (1998) Haemodynamic and ultrastructural observations on the rat liver after two-thirds partial hepatectomy. *J Anat* 192 (Pt 4): 507-515.
98. Abshagen K, Eipel C, Vollmar B (2012) A critical appraisal of the hemodynamic signal driving liver regeneration. *Langenbecks Arch Surg* 397: 579-590.
99. Clarke AM, Thomson RY, Fraenkel GJ (1968) Vascular factors in liver regeneration. *Surg Gynecol Obstet* 126: 45-52.
100. Mortensen KE, Conley LN, Nygaard I, Sorensen P, Mortensen E, Bendixen C, Revhaug A (2010) Increased sinusoidal flow is not the primary stimulus to liver regeneration. *Comp Hepatol* 9: 2.
101. Adibi S, Paschkis KE, Cantarow A (1959) Stimulation of liver mitosis by blood serum from hepatectomized rats. *Experimental Cell Research* 18: 396-398.
102. Moriuchi A, Hirono S, Ido A, Ochiai T, Nakama T, Uto H, Hori T, Hayashi K, Tsubouchi H (2001) Additive and inhibitory effects of simultaneous treatment with growth factors on DNA synthesis through MAPK pathway and G1 cyclins in rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 280: 368-373.
103. Starkel P, Horsmans Y, Sempoux C, De Saeger C, Wary J, Lause P, Maiter D, Lambotte L (1999) After portal branch ligation in rat, nuclear factor kappaB, interleukin-6, signal transducers and activators of transcription 3, c-fos, c-myc,

- and c-jun are similarly induced in the ligated and nonligated lobes. *Hepatology* 29: 1463-1470.
104. Starkel P, Lambotte L, Sempoux C, De Saeger C, Saliez A, Maiter D, Horsmans Y (2001) After portal branch ligation in the rat, cellular proliferation is associated with selective induction of c-Ha-ras, p53, cyclin E, and Cdk2. *Gut* 49: 119-130.
 105. Behrends M, Martinez-Palli G, Niemann CU, Cohen S, Ramachandran R, Hirose R (2010) Acute hyperglycemia worsens hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Gastrointest Surg* 14: 528-535.
 106. Suzuki S, Toledo-Pereyra LH, Rodriguez FJ, Cejalvo D (1993) Neutrophil infiltration as an important factor in liver ischemia and reperfusion injury. Modulating effects of FK506 and cyclosporine. *Transplantation* 55: 1265-1272.
 107. Papp V, Dezso K, Laszlo V, Nagy P, Paku S (2009) Architectural changes during regenerative and ontogenic liver growth in the rat. *Liver Transpl* 15: 177-183.
 108. Dezso K, Papp V, Bugyik E, Hegyesi H, Safrany G, Bodor C, Nagy P, Paku S (2012) Structural analysis of oval-cell-mediated liver regeneration in rats. *Hepatology* 56: 1457-1467.
 109. Maeno H, Ono T, Dhar DK, Sato T, Yamanoi A, Nagasue N (2005) Expression of hypoxia inducible factor-1alpha during liver regeneration induced by partial hepatectomy in rats. *Liver Int* 25: 1002-1009.
 110. Johnson DR, Habeebu SS, Klaassen CD (2002) Increase in bile flow and biliary excretion of glutathione-derived sulfhydryls in rats by drug-metabolizing enzyme inducers is mediated by multidrug resistance protein 2. *Toxicol Sci* 66: 16-26.
 111. Josa V, Krzystanek M, Vass T, Lang T, Juhasz V, Szilagyi K, Tihanyi B, Harsanyi L, Szallasi Z, Salamon F, Baranyai Z (2015) Thrombocytosis of Liver Metastasis from Colorectal Cancer as Predictive Factor. *Pathol Oncol Res*.
 112. Kinoshita H, Sakai K, Hirohashi K, Igawa S, Yamazaki O, S K (1986) Preoperative portal embolization for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 10: 803-808.
 113. Huisman F, van Lienden KP, Damude S, Hoekstra LT, van Gulik TM (2014) A review of animal models for portal vein embolization. *J Surg Res* 191: 179-188.

114. Farges O, Belghiti J, Kianmanesh R, Regimbeau JM, Santoro R, Vilgrain V, Denys A, Sauvanet A (2003) Portal vein embolization before right hepatectomy: prospective clinical trial. *Ann Surg* 237: 208-217.
115. Schadde E, Malago M, Hernandez-Alejandro R, Li J, Abdalla E, Ardiles V, Lurje G, Vyas S, Machado MA, de Santibanes E (2015) Monosegment ALPPS hepatectomy: Extending resectability by rapid hypertrophy. *Surgery* 157: 676-689.
116. Demjén O, Ruskó L, Mátéka I, Palkó A (2013) Májdagatok automatikus CT-alapú preoperatív helyzetmeghatározása. *Magyar Radiológia Online* 4: -.
117. Eipel C, Abshagen K, Ritter J, Cantre D, Menger MD, Vollmar B (2010) Splenectomy improves survival by increasing arterial blood supply in a rat model of reduced-size liver. *Transpl Int* 23: 998-1007.
118. Yokoyama Y, Nagino M, Nimura Y (2007) Mechanisms of hepatic regeneration following portal vein embolization and partial hepatectomy: a review. *World J Surg* 31: 367-374.
119. Herpai V, Zsirka-Klein A, Hahn O (2015) A portális nyomás változásának és ezzel összefüggő májtérfogat-növekedés vizsgálata a vena portae embolizáció átesett betegeken. *Orvosképzés* 90: 237.
120. Um SH, Nishida O, Tokubayashi M, Kimura F, Takimoto Y, Yoshioka H, Inque R, Kita T (1994) Hemodynamic changes after ligation of a major branch of the portal vein in rats: comparison with rats with portal vein constriction. *Hepatology* 19: 202-209.
121. Ko GY, Sung KB, Yoon HK, Kim JH, Weon YC, Song HY (2003) Preoperative portal vein embolization with a new liquid embolic agent. *Radiology* 227: 407-413.
122. Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, Bader M, Clavien PA (2006) Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science* 312: 104-107.
123. Izuishi K, Wakabayashi H, Kokudo Y, Maeba T, Ryu M, Maeta H (1999) Microsomal cytochrome P-450 monooxygenase system and its drug-metabolizing activity after partial portal vein ligation in the Rat. *World J Surg* 23: 6-11.

124. Nanashima A, Tobinaga S, Abo T, Sumida Y, Araki M, Hayashi H, Sakamoto I, Kudo T, Takeshita H, Hidaka S, Sawai T, Hatano K, Nagayasu T (2010) Relationship of hepatic functional parameters with changes of functional liver volume using technetium-99m galactosyl serum albumin scintigraphy in patients undergoing preoperative portal vein embolization: a follow-up report. *J Surg Res* 164: e235-242.
125. de Graaf W, van Lienden KP, van den Esschert JW, Bennink RJ, van Gulik TM (2011) Increase in future remnant liver function after preoperative portal vein embolization. *Br J Surg* 98: 825-834.
126. Yumoto Y, Yagi T, Sato S, Nouse K, Kobayashi Y, Ohmoto M, Yumoto E, Nagaya I, Nakatsukasa H (2010) Preoperative estimation of remnant hepatic function using fusion images obtained by (99m)Tc-labelled galactosyl-human serum albumin liver scintigraphy and computed tomography. *Br J Surg* 97: 934-944.
127. Beppu T, Hayashi H, Okabe H, Masuda T, Mima K, Otao R, Chikamoto A, Doi K, Ishiko T, Takamori H, Yoshida M, Shiraishi S, Yamashita Y, Baba H (2011) Liver functional volumetry for portal vein embolization using a newly developed 99mTc-galactosyl human serum albumin scintigraphy SPECT-computed tomography fusion system. *J Gastroenterol* 46: 938-943.
128. de Graaf W, Bennink RJ, Vetelainen R, van Gulik TM (2010) Nuclear imaging techniques for the assessment of hepatic function in liver surgery and transplantation. *J Nucl Med* 51: 742-752.
129. Zboril P, Vyslouzil K, Klementa I, Skalicky P, Vomackova K, Cerna M, Cwiertka K (2012) The significance of portal vein embolization in the treatment of colorectal liver metastases. *Neoplasma* 59: 175-182.
130. Fazakas J, Mandli T, Ther G, Arkossy M, Pap S, Fule B, Nemeth E, Toth S, Jaray J (2006) Evaluation of liver function for hepatic resection. *Transplant Proc* 38: 798-800.
131. Kortgen A, Paxian M, Werth M, Recknagel P, Rauchfuss F, Lupp A, Krenn CG, Muller D, Claus RA, Reinhart K, Settmacher U, Bauer M (2009) Prospective assessment of hepatic function and mechanisms of dysfunction in the critically ill. *Shock* 32: 358-365.

132. Hashimoto M, Watanabe G (2001) Changes in functional capacity after portal branch ligation in rats. *Surg Today* 31: 1065-1069.
133. Schneider PD (2004) Preoperative assessment of liver function. *Surg Clin North Am* 84: 355-373.
134. Vos TA, Ros JE, Havinga R, Moshage H, Kuipers F, Jansen PL, Muller M (1999) Regulation of hepatic transport systems involved in bile secretion during liver regeneration in rats. *Hepatology* 29: 1833-1839.
135. Csanaky IL, Aleksunes LM, Tanaka Y, Klaassen CD (2009) Role of hepatic transporters in prevention of bile acid toxicity after partial hepatectomy in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 297: G419-433.
136. Hoshino M, Hirano A, Hayakawa T, Kamiya Y, Ohiwa T, Tanaka A, Kumai T, Katagiri K, Miyaji M, Takeuchi T (1995) Comparative studies on bile flow and biliary lipid excretion after bile-acid loading in normal and partially hepatectomized rats. *Biochem J* 305 (Pt 2): 367-371.
137. Klaassen CD (1974) Comparison of the effects of two-thirds hepatectomy and bile duct ligation on hepatic excretory function. *J Pharmacol Exp Ther* 191: 25-31.
138. Brand HS, Deutz NE, Meijer AJ, Jorning GG, Chamuleau RA (1995) In vivo amino acid fluxes in regenerating liver after two-thirds hepatectomy in the rat. *J Hepatol* 23: 333-340.
139. Hoekstra LT, Rietkerk M, van Lienden KP, van den Esschert JW, Schaap FG, van Gulik TM (2012) Bile salts predict liver regeneration in rabbit model of portal vein embolization. *J Surg Res* 178: 773-778.
140. Makino I, Chijiwa K, Fukushima K, Kameoka N, Komura M, Kuroki S, Yamashita H, Tanaka M (1997) Cholesterol and bile acid metabolism after selective portal vein ligation. *J Surg Res* 68: 91-98.
141. Li T, Chiang JYL (2012) Bile Acid Signaling in Liver Metabolism and Diseases. *Journal of Lipids* 2012: 9.
142. Geier A, Trautwein C (2007) Bile acids are "homeotrophic" sensors of the functional hepatic capacity and regulate adaptive growth during liver regeneration. *Hepatology* 45: 251-253.

143. Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, Dong B, Huang X, Moore DD (2006) Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science* 312: 233-236.
144. Katz NR (1992) Metabolic heterogeneity of hepatocytes across the liver acinus. *J Nutr* 122: 843-849.
145. Baumgartner U, Sellinger M, Ruf G, Jehle L, Ihling C, Farthmann EH (1995) Change of zonal bile acid processing after partial hepatectomy in the rat. *J Hepatol* 22: 474-480.
146. Zsembery A, Thalhammer T, Graf J (2000) Bile Formation: a Concerted Action of Membrane Transporters in Hepatocytes and Cholangiocytes. *News Physiol Sci* 15: 6-11.
147. Chijiwa K, Watanabe M, Nakano K, Noshiro H, Tanaka M (2000) Biliary indocyanine green excretion as a predictor of hepatic adenosine triphosphate levels in patients with obstructive jaundice. *Am J Surg* 179: 161-166.
148. Sergi C, Gross W, Mory M, Schaefer M, Gebhard MM (2008) Biliary-type cytokeratin pattern in a canine isolated perfused liver transplantation model. *J Surg Res* 146: 164-171.
149. Seifalian AM, El-Desoky H, Delpy DT, Davidson BR (2002) Effects of hepatic ischaemia/reperfusion injury in a rabbit model of Indocyanine Green clearance. *Clin Sci (Lond)* 102: 579-586.
150. El-Desoky A, Seifalian AM, Cope M, Delpy DT, Davidson BR (1999) Experimental study of liver dysfunction evaluated by direct indocyanine green clearance using near infrared spectroscopy. *Br J Surg* 86: 1005-1011.
151. Lauth WW, Legare DJ, Daniels TR (1984) The comparative effect of administration of substances via the hepatic artery or portal vein on hepatic arterial resistance, liver blood volume and hepatic extraction in cats. *Hepatology* 4: 927-932.
152. Stehr A, Ploner F, Traeger K, Theisen M, Zuelke C, Radermacher P, Matejovic M (2005) Plasma disappearance of indocyanine green: a marker for excretory liver function? *Intensive Care Med* 31: 1719-1722.
153. Shinohara H, Tanaka A, Kitai T, Yanabu N, Inomoto T, Satoh S, Hatano E, Yamaoka Y, Hirao K (1996) Direct measurement of hepatic indocyanine green

- clearance with near-infrared spectroscopy: separate evaluation of uptake and removal. *Hepatology* 23: 137-144.
154. Shimizu Y, Suzuki H, Nimura Y, Onoue S, Nagino M, Tanaka M, Ozawa T (1995) Elevated mitochondrial gene expression during rat liver regeneration after portal vein ligation. *Hepatology* 22: 1222-1229.
155. Kucuktulu U, Alhan E, Tekelioglu Y, Ozekin A (2007) The effects of pentoxifylline on liver regeneration after portal vein ligation in rats. *Liver Int* 27: 274-279.
156. Hashimoto M, Sanjo K (1997) Functional capacity of the liver after two-thirds partial hepatectomy in the rat. *Surgery* 121: 690-697.
157. Yamasaki M, Ikeda K, Nakatani K, Yamamoto T, Kawai Y, Hirohashi K, Kinoshita H, Kaneda K (1999) Phenotypical and morphological alterations to rat sinusoidal endothelial cells in arterialized livers after portal branch ligation. *Arch Histol Cytol* 62: 401-411.
158. Melloul E, Raptis DA, Boss A, Pfammater T, Tschuor C, Tian Y, Graf R, Clavien PA, Lesurtel M (2014) Small animal magnetic resonance imaging: an efficient tool to assess liver volume and intrahepatic vascular anatomy. *J Surg Res* 187: 458-465.
159. Gyorke T, Zajic T, Lange A, Schafer O, Moser E, Mako E, Brink I (2006) Impact of FDG PET for staging of Ewing sarcomas and primitive neuroectodermal tumours. *Nucl Med Commun* 27: 17-24.
160. Kubota K, Ishiwata K, Kubota R, Yamada S, Tada M, Sato T, Ido T (1991) Tracer feasibility for monitoring tumor radiotherapy: a quadruple tracer study with fluorine-18-fluorodeoxyglucose or fluorine-18-fluorodeoxyuridine, L-[methyl-¹⁴C]methionine, [6-³H]thymidine, and gallium-67. *J Nucl Med* 32: 2118-2123.
161. Abouzied MM, Crawford ES, Nabi HA (2005) ¹⁸F-FDG imaging: pitfalls and artifacts. *J Nucl Med Technol* 33: 145-155; quiz 162-143.
162. Tokes T, Somlai K, Szekely B, Kulka J, Szentmartoni G, Torgyik L, Galgoczy H, Lengyel Z, Gyorke T, Dank M (2012) [The role of FDG-PET-CT in the evaluation of primary systemic therapy in breast cancer: links between metabolic and pathological remission]. *Orv Hetil* 153: 1958-1964.

163. Rosa JL, Perez JX, Detheux M, Van Schaftingen E, Bartrons R (1997) Gene expression of glucokinase regulatory protein in regenerating rat liver. *Hepatology* 25: 324-328.
164. Brinkmann A, Katz N, Sasse D, Jungermann K (1978) Increase of the gluconeogenic and decrease of the glycolytic capacity of rat liver with a change of the metabolic zonation after partial hepatectomy. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 359: 1561-1571.
165. Alexander B, Rogers C, Naftalin R (2002) Hepatic arterial perfusion decreases intrahepatic shunting and maintains glucose uptake in the rat liver. *Pflugers Arch* 444: 291-298.
166. Pauwels EK, Sturm EJ, Bombardieri E, Cleton FJ, Stokkel MP (2000) Positron-emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose. Part I. Biochemical uptake mechanism and its implication for clinical studies. *J Cancer Res Clin Oncol* 126: 549-559.

10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

Σ IF: 7,644

1. Fülöp A, Szijártó A, Harsányi L, Budai A, Pekli D, Korsós D, Horváth I, Kovács N, Karlinger K, Máthé D, Szigeti K (2014) Demonstration of metabolic and cellular effects of portal vein ligation using multi-modal PET/MRI measurements in healthy rat liver. PLoS One 9(3): e90760.

IF: 3,234

2. Szijártó A, Fülöp A (2015) Triggered liver regeneration: from experimental model to clinical implications - Invited review. Eur Sur Res 54(3-4):148-161.

IF: 2,474

3. Fülöp A, Budai A, Czigány Z, Lotz G, Dezső K, Paku S, Harsányi L, Szijártó A (2015) Alterations in Hepatic Lobar Function in Regenerating Rat Liver. J Sur Res 197(2):307-17.

IF: 1,936

A disszertációtól független magyar nyelvű közlemények

1. Szijártó A*, Fülöp A*, Turóczy Zs, Garbaisz D, Dudás E, Szabó J, Nánási R, Kupcsulik P (2011) Rupturált hasi aorta aneurysma kísérletes modellje. A folyadék reszuscitáció technikai megfontolása. Aneszteziológia és Intenzív Terápia 41(2):61-70.

*megosztott elsőszerzőség

2. Garbaisz D, Turóczy Zs, Fülöp A, Rosero O, Arányi P, Ónody P, Lotz G, Rakonczay Z, Balla Zs, Harsányi L, Szijártó A (2013) Alsó végtagi ischaemiás-reperfúziós károsodás hosszú távú tüdőszövődményeinek megelőzése poszt-kondicionálással. Magy Seb 66 (3):146–154.

A disszertációtól független idegen nyelvű közlemények

Σ IF: 18,645

1. Fülöp A, Turóczy Zs, Garbaisz D, Harsányi L, Szijártó A (2013) Experimental models of hemorrhagic shock. Review. Eur Surg Res 50:57–70.

IF: 1,431

2. Garbaisz D, Turóczy Zs, Fülöp A, Rosero O, Arányi P, Ónody P, Lotz G, Rakonczay Z, Balla Zs; Harsányi L, Szijártó A (2013) Therapeutic option for managing lung injury induced by infrarenal aortic cross-clamping. J Surg Res 185: 469-476.

IF: 2,121

3. Ónody P, Stangl R, Fülöp A, Rosero O, Garbaisz G, Turóczy Zs, Lotz G, Rakonczay Zs, Balla Zs, Hegedűs V, Harsányi L, Szijártó A (2013) Levosimendan: a cardiovascular drug to prevent liver ischemia-reperfusion injury? PLoS One 8(9): e73758.

IF: 3,534

4. Rosero O, Ónody P, Stangl R, Turóczy Zs, Fülöp A, Garbaisz D, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A (2014) Postconditioning of the small intestine: which is the most effective algorithm in a rat model? J Surg Res 187:427-37.

IF: 1,936

5. Rosero O, Németh K, Turóczy Zs, Fülöp A, Garbaisz D, Gyórfy A, Szuák A, Dorogi B, Kiss M, Nemeskéri Á, Harsányi L, Szijártó A (2014) Collateral circulation of rat lower limb and its significance in ischemia-reperfusion studies. Surg Today 44(12):2345-53.

IF: 1,526

6. Turóczy Zs, Fülöp A, Lukáts A, Garbaisz D, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A (2014) Postconditioning protects skeletal muscle against a long-lasting vascular occlusion. J Invest Surg 27(5):282-90.

IF: 1,158

7. Rosero O, Ónody P, Kovács T, Molnár D, Lotz G, Tóth Sz, Turóczy Zs, Fülöp A, Garbaisz D, Harsányi L, Szijártó A (2014) Impaired Intestinal Mucosal Barrier Upon Ischemia-Reperfusion: “Patching Holes In The Shield With A Simple Surgical Method”. *BioMed Res Int* Article ID 210901

IF: 1,579

8. Garbaisz D, Turóczy Zs, Aranyi P, Fülöp A, Rosero O, Hermes E, Ferencz A, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A (2014) Attenuation of skeletal muscle and renal injury to the lower limb following ischemia-reperfusion using mPTP inhibitor NIM-811. *PLoS ONE* 9(6): e101067.

IF: 3,234

9. Turóczy Zs, Fülöp A, Czigány Z, Varga G, Rosero R, Tökés T, Kaszaki J, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A (2015) Improvement of small intestinal microcirculation by postconditioning after lower limb ischemia. *Microvasc Res* 98:119-25.

IF: 2,126

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani konzulensemnek, *Dr. Szijártó Attilának* és témavezetőmnek, *Dr. Harsányi László Professor Úrnak* a szüntelen támogatásukért és biztatásukért, amivel munkámat segítették!

Köszönöm *Dr. Kupcsulik Péter Professor Úrnak*, aki a Sebészeti Klinika korábbi igazgatójaként megteremtette a feltételeket egy színvonalas kutatómunka elvégzéséhez!

Külön köszönet illeti *Dr. Lotz Gábort*, *Dr. Dezső Katalint*, *Dr. Paku Sándort* a szövettani minták feldolgozásában, kiértékelésében végzett munkájáért, illetve *Dr. Szigeti Krisztiánt*, *Horváth Ildikót*, *Kovács Noémit* és a Semmelweis Nanobiotechnológiai és In Vivo Képző Központ munkatársait az *in vivo* képzőmunkában nyújtott segítségükért!

Köszönöm továbbá *Dr. Turóczy Zsoltnak*, *Dr. Czigány Zoltánnak*, *Dr. Garbaisz Dávidnak*, *Dr. Rosero Olivérnek*, *Dr. Hegedűs Viktornak*, *Dr. Ónody Péternek*, *Dr. Pekli Damjának*, *Budai Andrásnak* és a kísérleti műtő minden tagjának a sok segítséget, fáradtságot, türelmet és megértést, amivel támogatták kutató munkámat!

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni *Szüleimnek*, *Testvéremnek*, valamint *Nikinek* mindazt a megértést, melyet a dolgozat megírása során velem szemben tanúsítottak, illetve a sok segítséget, amivel hozzájárultak a végleges forma összeállításához!