

Válaszok Prof. Dr. Ferdinándy Péter

“Az ischaemiás kórállapotok befolyásolhatósága az idő függvényében”
című MTA doktori értekezéséről készített **bírálati véleményére**

Ezúton is szeretném megköszönni Dr. Ferdinándy Péter Professzor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem opponensi bírálatát, véleményezte munkámat és értékes tanácsaival elősegítette a dolgozat színvonalának emelését.

Válaszaim, kiegészítéseim a bírálat első felében olvasható megjegyzésekre, kérdésekre:

1. Professzor Úr említi, hogy a **postconditionalast** Vinten-Johansen amerikai kutatócsoportjának 2002-es felfedezésén keresztül vezettem be, holott a koncepciót **Na és munkatársai** már 1996-ben megfogalmazták és magát a „postconditioning” kifejezést is használta és publikálta egy rangos folyóiratban (Na HS et al, Am Heart J. 1996).

Valóban postconditionalas **koncepcióját** először Na¹ és munkatársai fogalmazták meg macskák szívének postischaemias hatásait (kamrai fibrilláció stb.) vizsgálva. Azonban a sebésztechnikai módszer első **sikeres alkalmazása** 2003-ig váratott magára, mikor is Zhao és munkatársai megfelelően rövid ciklusok alkalmazásával igazolták a postconditionalas hatékony voltát. Talán a fenti tény és a bíráló által is leírt „egyéb faktorok” játszottak közre abban, hogy hiába volt számomra ismeretes a bíráló által említett publikáció, a kézirat megszületésekor Zhao által írt közlemény idézése tűnt kézenfekvőnek.

2. Professzor Úr említi, hogy a „kémiai kondicionálás” szó használatát csak abba az esetben tartja szerencsésnek, ha az adott szer bizonyítottan az ischaemias conditionalo technikák ismert reakcióútján fejt ki hatását, így javasolta pl. a **„gyógyszeres szövetvédelem”** szóhasználatot, melyet az előadásomban így tudatosan be is építettem/építettem.

A fentiekkel egyetértve a dolgozatom „1.3.2.1.2. Kémiai pre-, postcondicionálásra használt szerek” fejezet alatt magam is alkottam egy definíciót, mely szerint: *„Kémiai kondicionáló szereknek nevezzük egységes megállapodás - de nem határozott definíció - szerint azon kémiai kezeléseket, melyek a sebészi adaptív kondicionáló eljárásokban a megismert receptorokon, szignáltranszdukciós utakon, effektorokon vagy subcellularis organelumokon hatnak és így képesek a sebészi technikák hatásait utánozni.”*²

A levosimendan esetén talán megelőlegezhető ez az általam felállított definíció, tekintve, hogy a szer a postconditionalas egyik effektorán (mK_{ATP} csatornákon) hat, de valóban nagyon nehéz a határvonalak meghúzása ebben a tekintetben. A PJ-34 PARP inhibitor és a glutamin pedig természetszerűen nem tartozik a szigorú értelemben vett kémiai conditionalo szerek közé. Talán dolgozatomban ezt nem hangsúlyoztam ki megfelelően így esetleg félreértésre adhatott okot egy-egy helyen. Az előadásban

konzekvens módon javítom/javítottam.

3. Annak a kérdésnek, mi szerint az egyes **kísérleti protokollok könnyebb megértését** segítené a kísérleti elrendezések időbeli ábrázolása, igyekszem/igyekeztem az előadásban eleget tenni.

4. „A végtagi denerváció módszere nem került leírásra”

Vélhetően a több, néha egymásra hivatkozó műtéti leírásban nem volt kellően hangsúlyos az a rész, mely leírja a végtagi denerváció technikáját; ld.: „4.1.6. A műtét menete - Máj ischaemia-reperfúzió vizsgálata alatt: „Az állatok egy részénél az I-PerC háttérmechanizmusának vizsgálata érdekében, a szegmentális máj ischaemiát megelőzően, a nervus femoralis és ischiadicus hozzávetőlegesen 0,5 cm hosszú resectióját végeztük, melyet 20 perc regenerációs időszak követett (-N csoportok).”

Válaszaim a feltett kérdésekre:

1. A postcondicionalas során ellenőrizték-e a reperfúzió létrejöttét, milyen gyakran fordult elő ún „no-reflow”?

A mikrokeringés detektálásra alkalmas számos módszer (pl.: direkt katéteres áramlásmérések, plethysmographia, transluminescentias vizsgálatok, flowmerek, ezen belül is elektromágneses flowmeter, ultrahangon alapuló áramlásmérés, laser Doppler flowmérés [LDF] stb.) közül mind az alsó végtag, mind a máj esetében laser Doppler flowmeterrel regisztráltuk a szöveti mikrokeringést. A mikrocirkulációs változásokat mind az ischaemia, mind a reperfusio ideje alatt folyamatosan regisztráltuk, valamint az általunk használt berendezés a mérőfej alatti szövet hőmérsékletét is párhuzamosan rögzítette. Az eljárás hátrányait ismerve (a készülék csupán 1 mm³-es területet vizsgál, ugyanakkor a reperfusio során a mikrokeringés idő és térbeli heterogenitást mutat) a jelen módszer csak megfelelő kritikával tekinthető teljes szervi, kiterjedt szöveti mikrokeringést jelző eljárásnak. Megjegyzendő, hogy a műszer által szolgáltatott áramlási adatok arbitráris skálán szerepelnek. A módszerrel kapcsolatos problémafelvetéssel, illetve a jelenség matematikai formulákba való megjelenítésével munkacsoportunk első közleményeinek egyikében foglalkozik.³ A módszer limitáló tényezőit ismerve mégis elmondhatjuk, hogy tekintettel a nagy össz-esetszámmra, a mért adatok bár fenntartásokkal, de extrapolálhatóak a szervi keringésváltozások általános leírására. A nagy esetszámok kapcsán szintén - statisztikai valószínűségnek megfelelően - várható, hogy a regisztrátumokban jelen vannak az ún. 'slow-flow'/'no-reflow' jelenséget elszenvedett területek egyes részei is.

A megfigyelt szervek tekintetében különbségek észlelhetők. 1.) Az alsó végtag esetében LDF mérés során nem volt tapasztalható számottevő mértékű 'no-reflow' jelenség. A reperfusios görbék szinte mindegyike a mikroklipe levételét követően elérte a maximumot, melyen stabilizálódott, így egyik görbénél sem észleltünk jelentős flow variációt. 2.) A máj esetében sem volt nagy variabilitása a görbéknek, azonban karakterük teljesen eltért az alsó végtagi görbétől. Erre utalt, hogy hosszabb ischaemias idők után

megfigyelhető volt a mikrokeringés átmeneti zavara a reperfusio kezdeti fázisában (felszálló karakterű görbe), mely gyakran a mérési periódus végére (60. perc) sem érte el a kiindulási értéket, és a korábbihoz képest alacsonyabb értéken egy plató fázisba ért. Ugyanakkor a tapasztalati megfigyelés szerint (úm.: túlélési adatok, szervspecifikus enzimvizsgálatok stb.) a tolerálható ischaemias időket elszenvedett, vizsgált szerveknél a 'no-reflow' jelenség lassú oldódása hosszú távon megtörtént, szemben a prolongált ischaemia utáni nagyfokú keringési, javíthatatlan mikrokeringési zavarokat elszenvedett szervekkel. Az izomszövettel szemben a máj esetén a 'no-reflow' jelenség megjelenik, majd fokozatosan oldódik. A jelenség hátterében a szervek szerkezeti különbsége állhat, úm.: máj sinusoidalis felépítése, Kupffer-sejtek IR alatti duzzadása stb.

A jelenség pontos tisztázásához a planáris képet adó pl.: laser Doppler Imaging jelenthetne segítséget, illetve a 'no-reflow' pontos képi megjelenítéshez a jövőben a video mikroszkópia segíthetne.

2. Melyek a végtagi és máj iszkémia legfontosabb társbetegségei és gyógyszerelése, és ezek hogyan befolyásolják az I/R és szöveti védelem mechanizmusát?

A klinikai gyakorlatban megszokott jelenség, hogy az atherosclerosis miatt alsó végtagi rekonstruktív érműtéteken átesett betegek számos társbetegséggel (hypertonia, diabetes, hyperlipidaemia stb.) küzdenek. Májsebészeti esetekben is hasonló helyzetet tételezhetnénk fel - a klasszikus onkológiai ismeretek alapján - miszerint a metasztatikus daganatos betegséggel küzdő páciensek idős koruk miatt már számos társbetegséget hordoznak. Ugyanakkor az elmúlt évtizedek tendenciájából látható, hogy egyre fiatalabb betegek kerülnek műtetre major májresectio műtéti tervével, különösebb kísérőbetegség nélkül. Ezekben az esetekben egészen más kofaktorokkal kell (majd a későbbiekben) számolnunk, úm. pl. edzettségi szint, genetikai megbetegedések egyéb hatásai stb.

A kiterjesztett **májresectiok** kapcsán fellépő ischaemias-reperfusios (IR) kórfolyamatokra az alábbi **társbetegségek és azok gyógyszerei** gyakorolnak hatást a teljesség igénye nélkül:

Diabetes mellitus (DM) gyógyszerei, antidiabetikumok hatásai^{4,5,6} a máj IR folyamataiban:

- Metformin: antioxidáns, antiinflammatorikus hatású, mely csökkenti a mitokondriumok ROS termelését és így csökkenti az IR károsodást.
- Thiazolidindiének közül egyesek (rosiglitazon, troglitazon) májfunkciós zavarokat, akár májelégtelenséget is képesek kiváltani, és ezáltal rontják az IR károsodást; míg mások (pioglitazon) hatékony, ajánlott kezelési lehetőségként szerepelnek NASH és DM együttes fennállása esetén, tekintve, hogy a csökkenti a steatosist és fibrosist.

Insulinoma, hypoglycemiák kezelésének gyógyszerei⁷ közül kiemelendő a diazoxid, mely a mitochondrialis K^{+}_{ATP} csatornák nyitásaként fejtik ki eredeti hatásukat. Ezen mechanizmus által csökken az insulin-elválasztás(pl. insulinoma esetén), de hatása egyben a kondicionális technikák egyik támadási pontja is. A fentiek mellett a hem-oxigénáz-1 aktiválása révén növelik az ischaemia toleranciát.

Antihipertenzívumok, cardiovascularis megbetegedések gyógyszerei^{8,9,10,11,12} és a máj IR károsodása:

- NO, NO-release vegyületek alkalmazásakor NO-felszabadítása révén mérsékelhető az IR károsodás, mivel az IR során - az eNOS zavara miatt - kialakult NO-deficit pótolható NO-donorok adagolása révén.
- Nebivolol (β -blokkoló) NO-felszabadító hatása révén lokálisan csökkenti az IR károsodást, de távoli szerveken nem hat.
- Dexmedetomidin (α -2 agonista) hatására csökken a ROS termelés és így a szöveti károsodás mértéke is csökken IR kapcsán.
- Diazoxid egy direkt K^+_{ATP} csatornanyitó hatású szer, mely hatására az erek simaizom sejtjein át vasodilatatio jelenik meg, mely jótékony hatású az IR kapcsán észlelt mikrocirkulációs zavarok tekintetében.
- A levosimendan egy általunk is használt „inodilatator” vegyület. Pozitív inotrop hatású: cardiomyocytaon (troponin C támadásponttal) Ca^{2+} -ion szenzitizáló vegyület. Vazodilatátor hatás: érfal simaizmon K^+_{ATP} -csatorna nyitó hatás, ami hiperpolarizációhoz és simaizom tónuscsökkenéshez, vazodilatációhoz vezet. Mellette a mitochondriális K^+_{ATP} -n való hatás miatt csökkenti az IR károsodást, mivel ezáltal stabilizálja a mitochondriumot, csökkenti a ROS képzést és a Ca^{2+} -overloadot. Cardioprotektív hatású is. Általunk bizonyítottan hepatoprotektív is.
- A pentoxifyllin a mikrokeringés fokozása révén csökkenti az IR károsodást.

Hypercholesterinaemia gyógyszerei^{13,14} és a máj IR károsodása:

- Statinok: (atorvastatin, rosuvastatin, simvastatin): paradigmaváltás történt a korábban májkárosítóként számon tartott statinokkal kapcsolatban. Felismerésre került, hogy jelentős hepatoprotektív szerepük is van, úm.: a.) aktív HCV fertőzés esetén növeli a kezelés hatékonyságát, IFN-kezelésre adott választ, víruseliminációt¹⁵, b.) HCC kockázatát csökkenti; c.) fibrogenesis aktivitását csökkenti; d.) májfibrosis progressziójának csökkentéséhez vezet, és ezzel a máj szöveti állapotát javítja, így áttételesen kedvező hatású a máj IR folyamatai során.

A máj szöveti megbetegedései és az ischaemias inzultusok összefüggése:

A májparenchyma állapota (NASH [non-alcoholic steatohepatitis], fibrosis, cirrhosis illetve a kemoterápia mellett kialakuló károsodások¹⁶: CASH [chemotherapy-associated steatohepatitis (yellow liver syndrome)], SOS [Sinusoidal obstruction syndrome ('blue liver syndrome')] stb.) egyértelműen hatással van az IR károsodás mértékére, illetve a conditionalsi technikákra adott válaszra.

A bármely okból (diéta hiba, elhízás, alkoholfogyasztás, diabetes mellitus, lipid/koleszterin anyagcsere zavarai, stb.) fennálló zsírmáj, azaz **steatosis/steatohepatitis** esetén (AFLD, ASH/AFLD, NASH) a májszövetet érő IR károsodás fokozott, azaz máj ischaemia toleranciája csökken. Ebben jelentős szerepet játszhat, hogy a megszorodott zsírszövet jelenléte vulnerábilissá teszi a máj szövetét az IR során képződő nagymennyiségű szabad gyökre, melyek az I-R okozta károsodások nagy részéért felelősek. Továbbá, a steatohepatitis keretében jelen lévő alacsony szintű gyulladás („low grade inflammation”) szintén ronthatja az I-R során fellépő gyulladásos

reakciókat, így jelentősebb I-R károsodás alakulhat ki.

Mindemellett azonban, számos eljárás ismert, melyekkel az elzsírosodott máj I-R károsodása csökkenthető, azaz ischaemia toleranciája fokozható.

Irodalmi konszenzus, hogy a **neoadjuváns kemoterápia** fokozottan hozzájárulhat posztoperatív májelégtelenség, vagy small-for-size szindróma kialakulásához. Molekuláris mechanizmusukat tekintve a két ismert kórkép (CASH [chemotherapy-associated steatohepatitis], SOS [Sinusoidal obstruction syndrome]) jól dokumentált jellege ellenére nagyon kevés irodalmi adat található, mely a (neoadjuváns kezelés okozta) CASH, vagy SOS direkt hatását vizsgálná a máj ischaemia toleranciájára. A közvetlen eredmények tekintetében fellelhető egyetlen, német munkacsoport eredményeiből született cikk szerint a preoperatív kemoterápia nem okozott változást a máj ischaemia toleranciájában.^{17,18} Ugyanakkor a fenti klinikai eredmények tekintetében kevésbé kétséges, hogy a kemoterápiás kezelés, különösképpen a CASH, illetve SOS ne okozná a máj ischaemia toleranciájának csökkenését, mely két kórforma patofiziológiai hátterének ismeretében különösen valószínűsíthető. Az irinotecan májkárosító hatása révén fellépő CASH a máj elzsírosodásához, gyulladásos infiltratiojához és ballonáló hepatocyták károsodásához vezet, mely a NASH-ben leírt kórállapotnak felel meg. Az oxaliplatin által okozott SOS során a patofiziológiai háttér és az ischaemia tolerancia csökkentő hatás még nyilvánvalóbb, hiszen a sinusoidok elzáródásával, pangással, vérzéssel járó mikrocirkulációs zavar - mintegy 'ischaemia az ischaemia előtt' - már a műtéti Pringle-manőver előtt a szövetek jelentős oxigenizációs zavarához vezet, beindítva az IR kapcsán kialakuló káros folyamatokat (ROS képződés, mikrocirkulációs zavar, gyulladás, NO hatás deficit, stb.), melyek szokásosan csak a műtét során jelentkeznek. Mindezek fényében általában véve a preoperatív kemoterápiás kezelés, valamint különösképpen két altípusa, a CASH és SOS viszonylatában nehezen megkérdőjelezhető a máj ischaemia toleranciáját rontó hatása.

Klinikánkon Hahn és munkatársai¹⁹ klinikai vizsgálatokkal igazolták, hogy a klasszikus májfunkciót igazoló tesztek mellett a szérumban szabadgyök-koncentráció és antioxidáns státusz is kedvezően javul ischaemias preconditionalast követően úgy egészséges szöveti struktúra mellett, mint **cirrrosisban**. Kiemelendő, hogy cirrhosis mellett a mért paraméterek 7. napra várt normalizálódása csak ischaemias preconditionálás alkalmazásával volt elérhető.

Az alsó végtagon végzett rekonstruktív érműtétek kapcsán fellépő ischaemiás folyamatokat befolyásoló társbetegségek és gyógyszerelésük kutatása szintén „hálátlan” területnek és ebből fakadóan az irodalomban fehér foltnak tekinthető. Az alább olvasható felsorolás is éppen ezért sok tekintetben a szívizomzatot veszi alapul, hasonlítja a harántcsíktal izomzatához.

Antidiabetikumok alkalmazása mellett az IR folyamatra az alábbiak jellemzőek^{20, 21, 22}:

- A metformin segít megelőzni, illetve mérsékeli a myocardium ischaemias-reperfusios károsodását, mind a diabeteses mind a nem diabeteses betegek esetén. A szer gátolja a mitochondriális komplex I-t és az AMP-deaminázt, így növelve az AMP/ATP hányadost a citoplazmában és aktiválja az AMP-kinázt, amely foszforilálja az eNOS-t, illetve PI3-kinázt direkt módon is aktiválja. Ezen folyamatok együttesen aktiválják a RISK (Reperfusion

Injury Salvage Kinase) utat, mely végső soron megakadályozza a mPTP-k nyitását a mitochondriumokban, csökkentve ezzel Ca^{2+} influxot és a ROS növekedést.

- Thiazolidindienek^{23,24} közül a rosiglitazon gátolja az $\text{K}^{+}_{\text{ATP}}$ -csatornát, így rontja az ischaemias toleranciát, növeli a reperfusios károsodás mértékét. A pioglitazon ugyanakkor csökkenti az endothelialis dysfunctiot és egyben antioxidáns hatású is, így kedvező tapasztalatok vannak ezzel a szerrel. Hasonló hatással bírnak egy másik gyógyszer-típus a gliptinek^{25,26} származékai is.

- Az GLP-1 analógok^{27,28,29,30} közé tartozó exenatide nyitja a vascularis és mitochondrialis $\text{K}^{+}_{\text{ATP}}$ csatornákat, gátolja az mPTP kinyílását a mitochondriumban, ezáltal csökkentik az IR károsodást. Hasonló jótékony hatással bír a lixisenatide, albiglutide is.

Antihyperlipidemiás szerek és az IR folyamatában az alábbi összefüggések olvashatóak³¹:

- A statinok^{32,33,34} közül a simvastatin antiinflammatorikus hatású, csökkenti a leukocyták akkumulációját és az adhézios molekulák expresszióját, így kedvezőnek mondható, akár csak az atorvastatin, mely mPTP csatornát nyitásával és a PI3K/Akt/eNOS utak aktiválásával csökkenti az IR károsodás mértékét. Akut esetben nagy dózisban fejt ki protektív hatását, krónikus használata esetén ezen a hatás elvész.

- Niacinról igazolták, hogy obes, hyperlipidemiás egerekben csökkentette az alsó végtagi IR károsodás mértékét.³⁵

Az antihipertenzív szerek (NO, NO-release vegyületek, nebivolol, diazoxid, levosimendan, pentoxifyllin) kapcsán a mechanizmus megegyezik a májnál leírtakkal.

3. Hogyan történt a végtagi denerváció, mely idegeket metszették át, és ezek alapján mely idegrost típusok szerepét gyanítják a távoli kondíció létrejöttében?

A műtét menete a 4.1.6. alatt került leírásra: „Az állatok egy részénél az I-PerC háttérmechanizmusának vizsgálata érdekében, a szegmentális máj ischaemiát megelőzően, a nervus femoralis és ischiadicus hozzávetőlegesen 0,5 cm hosszú resectioját végeztük, melyet 20 perc regenerációs időszak követett (-N csoportok).” A fentiek mind motoros, mind szenzoros idegeket tartalmaznak.

Mint ismeretes, a távoli szervi conditionalasokban a hatás három úton jön létre. Távoli szervi preconditionalas kapcsán felmerült, hogy ezen signaltransductios utak végeredménye különböző molekulák keletkezése (például: adenozin, bradykinin, opioidok, CGRP (calcitonin gene-related peptide)), melyek egyrészt afferens idegvégződéses ingerlésével (neurális hipotézis), másrészt endocannabinoidokkal és egyéb molekulákkal együtt vérkeringés útján a szívbe jutva (humorális hipotézis) hoznak létre cardioprotectiot. Harmadik első vonalbeli hipotézis génexpressziós szinten megjelenő szisztémás anti-inflammatorikus és anti-apoptotikus hatások szerepét emeli ki.³⁶

A fentiek közül a neurális „válasz” vizsgálata kapcsán igazolódott, hogy mind a nociceptive rostok, mind a szomatoszenzoros rendszer, továbbá az autonóm idegrendszer és a gerincvelő is szerepet játszik a távoli conditionalasi technikák során keletkező szignálok továbbításában. Továbbá számos vizsgálat igazolta, hogy bizonyos

receptor-gátlókkal az afferens idegi stimulációt követően fellépő humorális (adenozin, bradykinin, és CGRP,) válaszok felfüggeszthetők.^{37,38,39}

A neurális útvonal szerepét erősíti a tény, hogy a távoli szervi ischaemiás perkondicionálás célszervi hatásában a humorális út megkérdőjelezhető abban a tekintetben, hogy az ischaemia alatt lévő szervben nincs keringés (humorális faktorok a célszervet nem tudják elérni), de a protektív hatás mégis létrejön, melynek hátterében a neurális elemek is szerepet játszhatnak. Ugyanakkor a neurális elemek kizárólagos szerepét megkérdőjelezi a munkacsoportunk által végzett májtraszplantációs kísérletek⁴⁰, melyek során a létrehozott célszervi denerváció ellenére felépül a szöveti védelem.

4. Gyógyszeres kísérleteinél miért nem alkalmazott jól ismert szövetprotektív szereket pozitív kontrollként? Kérem, fejtse ki hogy miért éppen a levosimendánt és a PJ-34-at választották a gyógyszeres szövetprotektió vizsgálatára. Amennyiben ipari együttműködés volt a háttérben, az külön dicsérendő, hiszen az eredményes kutatási projectek fő céljának kell legyen az ipari alkalmazhatóság kiderítése és amennyiben lehetséges a hazai szellemi tulajdon védelme is.

Mint azt korábban már említettem, kémiai conditionalo szereknek nevezzük, neveztem egységes megállapodás - de nem határozott definíció - szerint azon kémiai kezeléseket, melyek a sebészi adaptív conditionalo eljárásokban a megismert receptorokon, signaltransductions utakon, effektorokon vagy subcellularis organellumokon hatnak és így képesek az sebészi technikák hatásait utánozni. Ebből kifolyólag pozitív kontroll csoportnak magát az ischaemiasan postconditionalt csoportot használtuk. Tettük ezt azért is, mert jelenleg nincs olyan egyetemes anti-ischaemias szer, amelynek nemzetközi konszenzusok alapján elfogadott lenne és így használata a klinikai használatban rutinszerű lenne akut ischaemias események kapcsán. Így ilyen kontroll vegyület alkalmazása is túlságosan szűrőpróba-szerű lett volna a több kipróbált szer közül.

A PJ-34 PARP inhibitor esetén - mint ipari fejlesztésbe (Inotec Inc - Texas) bevont szer - a vegyület parenchymas szerven történő lehetséges alkalmazásának vizsgálata volt az elsődleges cél. Mint a későbbi közlemények mutatják ennek a szernek az ischaemias-reperfusio kutatások mellett elsődlegesen az onkológiai célú vizsgálatok lettek a fő támadáspontjai.

A Levosimendan egy, a kardiológiai gyakorlatban elterjedten használt inodilatátor, anti-ischaemias vegyület, mely postconditionalsban effektorként szereplő organellumokra (mK_{ATP} csatornák) hat. A cél egyrészt a szer parenchymas szerven történő kipróbálása és így a terápiás indikációk bővítése volt. Ezzel kapcsolatban humán vizsgálati elrendezést aktuálisan állítunk össze (Simmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinika - Orion Phamra Kft.)

5. A bírálót meglepte, hogy jelenleg nincs klinikai gyakorlat a reperfúzió megindításának feltételeiről végtagi vagy máj iszkémia esetén. Ez nagyban eltér a szív vagy agyi iszkémiás esetektől. Mi ennek az eltérésnek a fő oka?

Az alsó végtagi ischaemia toleranciája jóval nagyobb, mint a kérdésben említett szerveké (agy, szív). Ennek megfelelően a jelenség fontossága sajnos elmarad; csak a nagyon durva, a dolgozat első felében bemutatott alsó végtagot érintő eset-ismertetésben lenne létjogosultsága, de akkor viszont elsődleges. Ezen esetekben nem a végtag funkcionális mentése az elsődleges, hanem a felszabaduló mediátorok keringésbe lépésének kivédése, tekintve, hogy a reperfusios szindróma okozta szervi elégtelenségek következményei végzetesek. Ezért lehet életmentő egy ilyen helyzetben a primer amputatio. Mindez a jelenség (reperfusios szindróma) az agy és szív kapcsán, nem jön létre, ugyanakkor a kialakuló funkcionális zavarok (stroke, szívelégtelenség) perdöntőek a beteg életkilátásait tekintve.

Továbbá a keringés megindító protokollok bevezetésénél az a tény sem elhanyagolható, hogy az izomszöveti heterogenitás (rosttípusok), illetve az alsó végtagi ischaemia fennállását befolyásoló tényezők (hőmérséklet) nagymértékben módosítják a megjósolható károsodás mértékét és ezzel az ellene irányuló mechanizmusok protokoll szerinti használatát. Ennek az ún. „point of no return” pillanatnak, illetve a még mérsékelhető károsodások detektálására dolgoztuk ki a NBT tesztet, ezzel mintegy javaslatot téve a keringésmóduláló eljárások alkalmazásának indikációjáról. A postcondicionalas sebészi végrehajtása sem jár kockázat nélkül, éppen ezért nem javasolt *minden* helyzetben, tekintve, hogy pl. súlyos atherosclerosis mellett végzett trombandarteriectomia (TEA) utáni mechanikus kompressziók további endothelkárosodást okozhatnak.

A máj esetében a téma még ma is újszerűnek mondható. A májon az ischaemia tervszerűen jön létre az esetek jelentős részében műtői körülmények között. Ennek megfelelően ez a kérdés inkább az ischaemiás PREcondicionalas (IPC) körében tartozik, nem a reperfusio megindítása a védelem kulcsa. Ugyanakkor, míg az IPC protokolljai ismeretek (klinikai bevezetése Clavien és munkatársaihoz kötődik⁴¹, amikor is 30 perces kirekesztést megelőzően 5 perces ischaemiát követő 10 perces reperfusioval hoztak létre IPC-t; mi magunk is használjuk műtői körülmények közt), az ischaemiás postconditionálás és perconditionálás protokolljai nem egységesek, jelenleg kidolgozás alatt vannak. Az ezzel kapcsolatos legújabb közlésekben is még csupán állatmodellek szerepelnek.^{42,43}

6. A jelen eredmények klinikai hasznosíthatóságát és az ezirányban tervezett lépéseket röviden fejtse ki.

Az állatmodellek humán adaptációja mindig is kérdéses.

Az alsó végtag tekintetében a jövőbeli, még fejlesztésre váró módszer az NBT teszt. Ezen módszerrel jól, időben elfogadható terápiás ablakon belül tudunk éles különbséget tenni a revaszkularizációra alkalmas és alkalmatlan esetek között. Ezzel kapcsolatban egy lezárt prospektív anyaggyűjtésből és retrospektív feldolgozásból álló klinikai vizsgálatunk volt, mely „Akut, hosszú idejű végtagi ischaemiás események klinikai, celluláris és subcelluláris vizsgálata” (TUKEB: 92/2011) címmel futott. Az ebből kapott eredmények jelenleg közlés alatt vannak. Amennyiben meghatározható a fenti teszt segítségével az ischaemia tolerancia és a kritikus ischaemia közti határvonal, úgy az ischaemiás idővel súlyosbodó károsodások ellen alkalmazott postcondicionalas tervezett, protokoll szintű

bevezetése is elképzelhető.

A máj tekintetében az ischaemias perconditionalas tűnne a jövő irányának, tekintve, hogy non-invazív módon megvalósítható és az állatkísérletes eredmények kedvezőek. Természetesen az infrarenalis aorta kirekesztés etikailag nehezen elképzelhető a klinikai gyakorlatban, különösképpen már amúgy is károsodott érstatusz esetén, hiszen ez elfogadhatatlan dissectio rizikót és további kockázatokat vonhatna magával. Ugyanakkor a klinikumban leginkább a végtagokra helyezett felfújható mandzsetták segítségével lenne alkalmazható a módszer, mely a májműtétek kapcsán is elképzelhető és könnyen kivitelezhető lenne. Máj tekintetében ilyen irányú vizsgálat még nem született, az ezzel kapcsolatos első lépéseket megtettük, csakúgy, ahogy a levosimendan klinikai alkalmazásának első lépésein is túl vagyunk.

Ugyanakkor a nagy kezdeti lendület mellett figyelembe kell vennünk a tény, mely szerint az elsődleges klinikai eredmények nem túlzottan kedvezők a perconditionalast tekintve, (lásd a 1403 beteget magába foglaló kardiológiai irányú perconditionalassal végzett vizsgálatot⁴⁴ vagy az elődonoros vesetraszplantációnál leírt eredményeket^{45, 46}), de talán a kedvezőtlen betegszelekció is lehet egyben az eredmények elégtelenségének oka.

A hangsúlyt a háttérmechanizmusok további felderítésében és így azok kémiai manipulálásában látom, tekintve, hogy a jelenség egy veleszületett válaszon alapul.

Köszönöm még egyszer a számomra és a dolgozat számára is hasznos építő kritikai megjegyzéseket.

Tisztelettel:

.....
(Dr. Szijártó Attila)

Budapest, 2016. szeptember 22.

Hivatkozások:

¹ Na HS, Kim YI, Yoon YW, Han HC, Nahm SH, Hong SK. : Ventricular premature beat-driven intermittent restoration of coronary blood flow reduces the incidence of reperfusion-induced ventricular fibrillation in a cat model of regional ischemia. Am Heart J. 1996 Jul;132(1 Pt 1):78-83.

² Kloner, R.A., Rezkalla SH: Preconditioning, postconditioning and their application to clinical cardiology. Cardiovasc Res, 2006. 70(2): p. 297-307.

³ Szijártó A., Hahn O., Lotz G., Schaff Z., Madarász E., Kupcsulik P.: Effect of ischemic preconditioning on rat liver microcirculation monitored with laser doppler flowmetry. J Surg Res 2006; 131 (1) 150-57 p.

⁴ Forman, L.M., D.A. Simmons, and R.H. Diamond, Hepatic failure in a patient taking rosiglitazone. Annals of internal medicine, 2000. 132(2): p. 118-121.

- ⁵ Corey, K.E. and M.E. Rinella, Medical and Surgical Treatment Options for Nonalcoholic Steatohepatitis. *Digestive diseases and sciences*, 2016. 61(5): p. 1387-1397.
- ⁶ Cahova, M., et al., Metformin prevents ischemia reperfusion-induced oxidative stress in the fatty liver by attenuation of reactive oxygen species formation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2015: p. ajpgi. 00329.2014
- ⁷ Zeng Z, Huang HF, He F, Wu LX, Lin J, Chen MQ: Diazoxide attenuates ischemia/reperfusion injury via upregulation of heme oxygenase-1 after liver transplantation in rats. *World J Gastroenterol*. 2012 Apr 21; 18(15): 1765–1772.
- ⁸ Abu-Amara, M., et al., The nitric oxide pathway--evidence and mechanisms for protection against liver ischaemia reperfusion injury. *Liver Int*, 2012. 32(4): p. 531-43.
- ⁹ Ulger, BV., Erbis H., Turkcu G., Ekinci A., Turkoglu MA., Ekinci C., Yilmaz VT., Bac B.: Nebivolol ameliorates hepatic ischemia/reperfusion injury on liver but not on distant organs. *Journal of Investigative Surgery*, 2015. 28(5): p. 245-252.
- ¹⁰ Rocha-Santos V, Figueira ER, Rocha-Filho JA, Coelho AM, Pinheiro RS, Bacchella T, Machado MC, D'Albuquerque LA.: Pentoxifylline enhances the protective effects of hypertonic saline solution on liver ischemia reperfusion injury through inhibition of oxidative stress. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2015 Apr;14(2):194-200.
- ¹¹ Nogueira MA, Coelho AM, Sampietre SN, Patzina RA, Pinheiro da Silva F, D'Albuquerque LA, Machado MC: Beneficial effects of adenosine triphosphate-sensitive K⁺ channel opener on liver ischemia/reperfusion injury. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 7;20(41):15319-26.
- ¹² Tüfek A, Tokgöz O, Aliosmanoglu I, Alabalik U, Evliyaoglu O, Çiftçi T, Güzel A, Yıldırım ZB.: The protective effects of dexmedetomidine on the liver and remote organs against hepatic ischemia reperfusion injury in rats. *Int J Surg*. 2013;11(1):96-100. doi: 10.1016/j.ijssu.2012.12.003.
- ¹³ Bosch, J., X. Forns: Therapy: Statins and liver disease: from concern to 'wonder' drugs? *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2015. 12(6): p. 320-321.
- ¹⁴ Cámara-Lemarroy CR, Guzmán-de la Garza FJ, Alarcón-Galván G, Cordero-Pérez P, Muñoz-Espinosa L, Torres-González L, Fernández-Garza NE.: Hepatic ischemia/reperfusion injury is diminished by atorvastatin in Wistar rats. *Arch Med Res*. 2014 Apr;45(3):210-6.
- ¹⁵ Butt AA, Yan P, Bonilla H, Abou-Samra AB, Shaikh OS, Simon TG, Chung RT, Rogal SS; ERCHIVES (Electronically Retrieved Cohort of HCV Infected Veterans) Study Team: Effect of addition of statins to antiviral therapy in hepatitis C virus-infected persons: Results from ERCHIVES. *Hepatology*. 2015 Aug;62(2):365-74.
- ¹⁶ Lehmann K, Rickenbacher A, Weber A, Pestalozzi BC, Clavien PA.: Chemotherapy before liver resection of colorectal metastases: friend or foe? *Ann Surg*. 2012 Feb;255(2):237-47.
- ¹⁷ Manekeller S, Seinsche A, Sioutis M, Hirner A.: Extended liver resection after preoperative chemotherapy: influence on regeneration and endoplasmic reticulum stress response. *Langenbecks Arch Surg*. 2009;394(4):681-8.
- ¹⁸ Manekeller S, Sioutis M, Hirner A, Minor T.: Influence of neoadjuvant chemotherapy on liver integrity and ischemic tolerance. *Z Gastroenterol*. 2008;46(1):17-21.
- ¹⁹ Hahn O, Blázovics A, Váli L, Kupcsulik PK.: The effect of ischemic preconditioning on redox status during liver resections--randomized controlled trial. *J Surg Oncol*. 2011 Nov 1;104(6):647-53.
- ²⁰ Solskov L, Løfgren B, Kristiansen SB, Jessen N, Pold R, Nielsen TT, Bøtker HE, Schmitz O, Lund S.: Metformin induces cardioprotection against ischaemia/reperfusion injury in the rat heart 24 hours after administration. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008 Jul;103(1):82-7.
- ²¹ El Messaoudi S, Rongen GA, Riksen NP.: *Curr Atheroscler Rep*. 2013 Apr;15(4):314.
- ²² Ye Y, Perez-Polo JR, Aguilar D, Birnbaum Y.: The potential effects of anti-diabetic medications on

myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2011 Nov;106(6):925-52

²³ Sakatani Y, Miyoshi T, Oe H, Noda Y, Ohno Y, Nakamura K, Saito Y, Osawa K, Morita H, Kohno K, Ito H.: Pioglitazone prevents the endothelial dysfunction induced by ischemia and reperfusion in healthy subjects. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014 Oct;64(4):326-31

²⁴ Yu L, Jin X, Yang Y, Cui N, Jiang C.: Rosiglitazone inhibits vascular KATP channels and coronary vasodilation produced by isoprenaline. *Br J Pharmacol*. 2011 Dec;164(8):2064-72.

²⁵ Scheen AJ.: Cardiovascular effects of gliptins. *Nat Rev Cardiol*. 2013 Feb;10(2):73-84.

²⁶ Fisman, EZ., Tenenbaum A.: Antidiabetic treatment with gliptins: focus on cardiovascular effects and outcomes. *Cardiovascular diabetology*, 2015. 14(1): p. 1.

²⁷ Bao W, Aravindhan K, Alsaid H, Chendrimada T, Szapacs M, Citerone DR, Harpel MR, Willette RN, Lepore JJ, Jucker BM.: Albiglutide, a long lasting glucagon-like peptide-1 analog, protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury: evidence for improving cardiac metabolic efficiency. *PLoS One*. 2011;6(8):e23570. doi: 10.1371/journal.pone.0023570.

²⁸ Wohlfart P, Linz W, Hübschle T, Linz D, Huber J, Hess S, Crowther D, Werner U, Ruetten H.: Cardioprotective effects of lixisenatide in rat myocardial ischemia-reperfusion injury studies. *J Transl Med*. 2013 Mar 28;11:84.

²⁹ Woo JS, Kim W, Ha SJ, Kim JB, Kim SJ, Kim WS, Seon HJ, Kim KS.: Cardioprotective effects of exenatide in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of exenatide myocardial protection in revascularization study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Sep;33(9):2252-60.

³⁰ Ha SJ, Kim W, Woo JS, Kim JB, Kim SJ, Kim WS, Kim MK, Cheng XW, Kim KS.: Preventive effects of exenatide on endothelial dysfunction induced by ischemia-reperfusion injury via KATP channels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Feb;32(2):474-80.

³¹ Ladeiras-Lopes R, Fontes-Carvalho R, Bettencourt N, Sampaio F, Gama V, Leite-Moreira A.: Novel therapeutic targets of metformin: metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Expert Opin Ther Targets*. 2015 Jul;19(7):869-77.

³² Mensah K, Mocanu MM, Yellon DM.: Failure to protect the myocardium against ischemia/reperfusion injury after chronic atorvastatin treatment is recaptured by acute atorvastatin treatment: a potential role for phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten? *J Am Coll Cardiol*. 2005 Apr 19;45(8):1287-91.

³³ Tuuminen R, Syrjälä S, Krebs R, Keränen MA, Koli K, Abo-Ramadan U, Neuvonen PJ, Tikkanen JM, Nykänen AI, Lemström KB.: Donor simvastatin treatment abolishes rat cardiac allograft ischemia/reperfusion injury and chronic rejection through microvascular protection. *Circulation*. 2011 Sep 6;124(10):1138-50.

³⁴ Zhao Y, Feng Q, Huang Z, Li W, Chen B, Jiang L, Wu B, Ding W, Xu G, Pan H, Wei W, Luo W, Luo Q.: Simvastatin inhibits inflammation in ischemia-reperfusion injury. *Inflammation*. 2014 Oct;37(5):1865-75.

³⁵ Pang DK, Nong Z, Sutherland BG, Sawyez CG, Robson DL, Toma J, Pickering JG, Borradaile NM.: Niacin promotes revascularization and recovery of limb function in diet-induced obese mice with peripheral ischemia. *Pharmacol Res Perspect*. 2016 Apr 14;4(3):e00233.

³⁶ Hausenloy DJ, Yellon DM: Remote ischemic preconditioning: underlying mechanism and clinical application. *Cardiovasc Res* 2008; 79:377-386.

³⁷ Heusch G, Botker HE, Przyklenk K, Redington A, Yellon D.: Remote ischemic conditioning. *J Am Coll Cardiol*, 2015; 65:177-195.

³⁸ Jimenez-Navarro MF, Carrasco-Chinchilla F, Munoz-Garcia AJ, Dominguez-Franco A, Caballero-Borrego J, Alonso-Briales JH, Hernandez-Garcia JM, de Teresa-Galvan E.: Remote ischemic postconditioning: Does it protect against ischemic damage in percutaneous coronary revascularization? Justification and design of a randomized placebo-controlled clinical trial. *Cardiology*, 2011; 119:164-169.

³⁹ Hartmann P, Varga R, Zobolyak Z, Heger J, Csosz B, Nemeth I, Razga Z, Vizler C, Garab D, Santha P, Jancso

G, Boros M, Szabo A.: Anti-inflammatory effects of limb ischaemic preconditioning are mediated by sensory nerve activation in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2011; 383:179-189.

⁴⁰ Czigany Z, Bleilevens C, Möhring M, Beckers C, Fülöp A, Neumann UP, Tolba RH, Pekli D, Ónody P, Szijarto A.: Effects of various remote ischemic conditioning protocols in a rat model of arterialized orthotopic liver transplantation. *Eur Surg Res* 2016;57 (suppl 1): p: 3.

⁴¹ Clavien, PA., Yadav, S., Sindram, D., and Bentley, RC.: Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg* 2000; 232:155-162

⁴² Rougemont O, Lehmann K, Clavien PA.: Preconditioning, Organ Preservation, and Postconditioning to Prevent Ischemia- Reperfusion Injury to the Liver. *Liver Transp* 2009; 15:1172-1182

⁴³ Limani P, Linecker M, Oberkofler CE, Barmettler G, Kaech A, Graf R, Humar B, Clavien PA.: Remote Ischemic Preconditioning: A Novel Strategy in Rescuing Older Livers from Ischemia-reperfusion Injury in a Rodent Model. *Ann Surg*. 2016 Jul 28. [Epub ahead of print]

⁴⁴ Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, Coburn M, Schaelte G, Böning A, Niemann B, Roesner J, Kletz F, Strouhal U, Reyher C, Laufenberg-Feldmann R, Ferner M, Brandes IF, Bauer M, Stehr SN, Kortgen A, Wittmann M, Baumgarten G, Meyer-Treschan T, Kienbaum P, Heringlake M, Schön J, Sander M, Treskatsch S, Smul T, Wolwender E, Schilling T, Fuernau G, Hasenclever D, Zacharowski K: A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. *N Engl J Med*. 2015; 373(15):1397-407.

⁴⁵ Nicholson ML, Pattenden CJ, Barlow AD, Hunter JP, Lee G, Hosgood SA.: A Double Blind Randomized Clinical Trial of Remote Ischemic Conditioning in Live Donor Renal Transplantation. *Medicine (Baltimore)*. 2015; 94(31):e1316. doi: 10.1097/MD.0000000000001316

⁴⁶ Krogstrup NV, Oltean M, Bibby BM, Nieuwenhuijs-Moeke GJ, Dor FJ, Birn H, Jespersen B.: Remote ischaemic conditioning on recipients of deceased renal transplants, effect on immediate and extended kidney graft function: a multicentre, randomised controlled trial protocol (CONTEXT). *BMJ Open*. 2015 Aug 20;5(8):e007941. doi: 10.1136/bmjopen-2015-007941.