

## Válaszok Prof. Dr. Lázár György

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

---

Köszönöm Dr. Lázár György Professzor Úrnak, hogy volt kedves időt szentelni értekezésem opponensi bírálatára és véleményével a munkám egyes részeit kiegészítette:

### Válaszaim a kérdésekre:

**1.** Professzor Úr kérdezi, a **Kupffer-sejtek szerepét** az ischaemias-reperfusios folyamatokban.

A Kupffer-sejteket (KS) hosszú ideje a máj ischaemia-reperfusio (IR) folyamatának szereplőinek tartják, tekintve, hogy macrophag voltuknál fogva részt vállalnak úgy a gyulladásos citokinek termelésében, mint a komplement aktivációban és a szabadgyök-képzésben.<sup>1</sup> Az IR-os inzultusra a KS-ek bifázisos kinetikával reagálnak. Kezdetben proinflammatorikus mediátorok (TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-6, és IL-1) szekretálódnak, szabadgyökök termelődnek, majd a második fázisban anti-inflammatorikus citokinek (IL-10, IL-13) produkciója figyelhető meg.<sup>2</sup> Az alapvető szemlélet szerint a Kupffer-sejtek aktivációja az elsődleges, melyet az endothel diszfunkció követ, habár ennek időrendisége sem teljesen tisztázott. Az egyértelmű, hogy a gyulladásos válasz egy kezdeti pontján a KS-ek protrusioja figyelhető meg a sinusoidok lumene felé, mely eredményeként a máj mikrokeringése is károsul. A reperfusio alatt kialakuló no-reflow jelenség egy alappillére ez a jelenség.<sup>3</sup> Különös hangsúlyt kap a KS-ek aktivációja hideg ischaemiában és így transzplantációk kapcsán alkalmazott hideg preservatívóban<sup>4</sup>. A graftok túlélésének egyik kulcsa is itt keresendő.

A Kupffer-sejtek szerepét igazolja, hogy ezen sejtek aktivációjának gátlásával (pl.: gadolinium-klorid: GdCl<sub>3</sub>) az IR károsodások (pl.transzaminázok szintjében mérhető) mértéke kisebb.<sup>5</sup> Megjegyzendő azonban, hogy egyes vizsgálatok azt igazolták, hogy a GdCl<sub>3</sub> a phagocytá funkcióit rontja elsődlegesen és ezzel egyidőben megszünteti az egyes KS-specifikus markerek megjelenését (pl.: KS-receptor F4 / 80, ED1, és ED2), de emellett lehetővé teszi a Kupffer-sejt egyéb funkcióinak megtartását.<sup>6</sup> Habár összességében a máj szöveti károsodása csökken, ugyanakkor a GdCl<sub>3</sub> kezelt állatokban a TNF- $\alpha$  fokozott expressziója látható mRNS szinten. Ezért azt mondhatjuk, hogy a GdCl<sub>3</sub> csupán csak a KS fenotípusában okoz változást, nem teljes érvényű gátlószer.

Ugyanakkor a KS-ek nem csupán a fent említett károsító szignálok triggerként szerepelnek, hanem egyes kutatások szerint védő hatással is bírnak. Japán szerzők által végzett vizsgálatban igazolták, hogy a KS-ek, mint IR szenzorok vesznek részt a folyamatban és fokozzák a hem-degradációt (az egyébként is többségben a KS-ben található hem-oxigenáz upregulációjával), áttételesen fokozzák a bilirubin kiválasztást

(mely így kevésbé toxikus a májra), és egyben védik a májsejteket a bél irányú endotoxin stressztől is, mely máj IR kapcsán éri a szervet<sup>7</sup>.

**2. Professzor Úr kérdezi, hogy az IP-val kapcsolatos számos egyértelmű protektív hatás ellenére, a klinikai gyakorlatban mégsem vált még rutinszerű eljárássá. Miben látja a szerző ennek az okát.**

Az ischaemias preconditionalas definíciója egyértelműsíti, hogy az eljárással fel kell, fel lehet készülni egy tervezett ischaemias inzultusra. Ahogy ezt saját korábbi kutatásaim is igazolták kísérletes körülmények között<sup>8</sup>, úgy klinikai vizsgálatok is megerősítették, hogy máj esetén (!) az IP védő hatása 40-45 perces meleg ischaemia esetén jelentkezik markánsan<sup>13</sup>. A klinikai gyakorlatban a hosszúra nyúló, nem így tervezett ischaemias idők esetén - preconditionalas után is - a sebészi gyakorlat gyakran az intermittáló keringés-megszakítás mellett dönt. Mint később ismertetem ennek additív hatása nincs.

A kezdeti lelkesedés mellett természetesen olyan tanulmányok is születtek, melyek a kedvező hatásokról nem tudnak beszámolni.<sup>15,16</sup>

Az alsó végtagi ischaemias tolerancia hosszú. Hosszabb, mint általában egy tervezett elektív érműtét. Így az ischaemias preconditionalas alsó végtagi rekonstruktív érműtéteknél nem favorizált, szemben az akut helyzetekkel, ahol a már kialakult prolongált ischaemiát követő reperfusios károsodásokat csökkentésére a postconditionalas igazoltan hatékony módszer.

Az izomszövet ischaemias preconditionalasával kapcsolatban érdekes közlemény jelent meg nemrég. Az önkéntes atlétákon végzett randomizált vak vizsgálat<sup>9</sup> célja az IP hatásának tanulmányozása volt jól edzett atléták alsó végtagi izomzatán. A vizsgált paraméterek (az izom haemodinamikai változásainak vizsgálata, oxigén felvétel stb.) kedvező eredményeket adtak, mely szerint a maximális kontrakció mellett alkalmazott 3 ciklus IP tovább növelte az oxigénfelvételt és elősegítette a magas ismétlésszám kapcsán az erő kifejtést. Ezen sportélettani megfigyelések - véleményem szerint - előbb-utóbb a doppinglista speciális kiegészítését is igényelhetik.

**3. Hogyan látja a szerző a rutinszerűen alkalmazott VIP (vascular inflow occlusio, Pringle/Báron manőver) és az ischaemiás preconditionálás (IP) viszonyát, kombinálhatóak-e módszerek?**

A major májresectiók kapcsán többségében a vérzés csökkentése érdekében (tekintve, hogy a műtéti vérvesztés a legmeghatározóbb a postoperatív mortalitás és morbiditás szempontjából) érkirekesztés alkalmazandó. Ennek számos formája létezik, melyek közül leginkább elterjedt a VIO/Pringle manőver, mely azonban magával vonja a máj IR károsodását. Mivel ez esetben egy művi - tervezett - ischaemiáról beszélünk ezért lehetőség van a máj "felkészítésére" az ischaemias inzultusra, így léggogosultsága van az előkezelési stratégiáknak. Ezek közül kiemelendő az IP és az *intermittent* vascular occlusion (IVO). Ezek hatékonyságát több tanulmány is igazolta illetve összehasonlította<sup>10,11,12</sup>, melyek eredményei több ezres betegpopulációt vizsgálva az IP hatékonysága mellett foglaltak állást hozzátéve, hogy ezen conditionali technika inkább a rövidebb, 40 perc alatti, egyhuzamú ischaemia mellett hatékony. Amíg a vizsgálatok

jelentős része nem cirrhotikus betegeket vizsgált, addig kiemelendő a Klinikánkon folytatott és 2011-ben publikált klinikai vizsgálat (Hahn és mtsai), melyben 100 egészséges parenchymájú beteg mellett 60 cirrhotikus beteg is bevonásra került. A vizsgálatban az IP alkalmazását tesztelték, mely meglepően kedvező hatást mutatott károsodott parenchyma mellett is.

Ugyanakkor fontos megjegyezni, hogy a klinikai eredmények ellentmondásosak. Számos az elmúlt években született publikáció az IP hatástalanságát igazolta.<sup>13,14</sup>

Ha azt a speciális helyzetet nézzük, ahol az IP-t és azt követő ischaemia alatt intermittáló vascularis kirekesztés (IVO) kombinálva alkalmazták, úgy - az irodalom jelen ismerete szerint - additív hatás nem volt igazolható. A vizsgálatokban sem klinikai vonatkozásokban (pl. transzaminázok posztoperatív csökkenő szintjében), sem a sejtszintű eltérésekben nem volt különbség, ha IP egyedül vagy IP+IVO került együttes alkalmazásra.<sup>15,16</sup>

#### **4. Élődonoros vesetranszplantációnál már igazolták a távoli szervi perconditionálás jótékony hatásait (REPAIR vizsgálat), hogy látja a Szerző ennek alkalmazhatóságát a májtranszplantáció során?**

Májtranszplantáció tekintetében a távoli szervi PERconditionalassal kapcsolatban mind ez idáig összesen 2 közlemény<sup>17,18</sup> látott napvilágot. Mindkettő patkánymájon tanulmányozza a kérdést, csakúgy, mint a kutatócsoportunk által végzett harmadik ilyen vizsgálat, mely közlés alatt áll<sup>19</sup>. A kísérletek eredményei egybehangzóan azt állítják, hogy a távoli szervi PERconditionalas tűnik a legígéretesebbnek az összes conditionalsi technika közül. Ezzel a technikával mérsékelhető volt úgy az oxidatív stressz, mint a májkárosodás mértéke, csökkent a gyulladásos válasz. A kombinált (postC + PerC) kezelések - csakúgy, mint sok más kombinációnak - itt sem eredményeztek additív védelmet.

Saját vizsgálatunkban 144 hím Lewis-patkányon végeztünk orthotopicus májtranszplantációt (OLTx) (4°C; HTK-solution, 8 óra preservatio). Az állatokat 3 csoportba osztottuk (RIC1, RIC2, és kontroll) attól függően, hogy a conditionalist a recipiensben a máj kirekesztése előtt vagy a reperfusio után alkalmaztuk (4x5-5 min ischaemia-reperfusio - aorta klippelés) A reperfusiót követő 1., 3., 24., 168. órában mintavételezés történt (n=6 recipiens/csoport/időpont). A graftok vizsgálatakor a RIC1 csoportban kedvezőbb eredményeket (portális áramals, mikrocirkuláció, szöveti károsodás foka) láttunk. A transzamináz értékek javulása a kezelt csoportokban a 24. órában volt szignifikáns. Hasonló eredmények mutatkoztak a szérum citokin szintekben (IL-10, MCP-1), a szöveti malondialdehid és ATP szinten is. Mindeközben a pAkt/Akt arány párhuzamosan változott. Szignifikáns különbségek voltak láthatóak a pBAD/BAD protein- és HO-1 mRNA-expresszióban az RIC1 csoportban. Mindezek arra utalnak, hogy a távoli szervi conditionalsi technikák javítják a graft túlélést OLTx kapcsán.

A REPAIR study-val<sup>20</sup> kapcsolatban elmondható, hogy a vizsgálat valóban kedvező hatásokat tudott kimutatni, mindazonáltal ha az irodalmat összességében tekintjük, akkor mindez már kevésbé egyértelmű. Egy friss RCT-ket alapul vevő meta-analysis következtetése szerint, nincs megfelelő evidencia a távoli szervi conditionals vese ischaemia-reperfusio kapcsán történő széleskörű alkalmazására.<sup>21,22</sup> Mindazon által meg

kell jegyezni, hogy az ellentmondásos eredmények több tényezőre is visszavezethetők, úm.: a vizsgálatok tervezésének hibái, bias, a hatások különböző gyógyszerelés, vagy társbetegségek esetén történő esetleges elmaradásának figyelmen kívül hagyása, nem megfelelő conditionalasi protokoll stb.

A fenti vizsgálattal „analóg” módon humán vonatkozásban csak egy májtranszplantációval kapcsolatos vizsgálat ismert, mely idén (2016. áprilisában) került közlésre: „Protocol for a prospective randomized controlled trial of recipient remote ischaemic preconditioning in orthotopic liver transplantation (RIPCOLT trial)”.<sup>23</sup> Ebben az egy centrumot bemutató kettős vak randomizált kontrollált vizsgálatban a távoli szervi conditionalt (először az irodalomban) a recipienseken (50 fő) hozták létre az anesztézia bevezetése, de még a bőrmetszés előtt 3 ciklusú 5 perces alsó végtagra helyezett pneumatikus tourniquet segítségével (200 Hgmm, 5 perc ischaemia - 5 perc reperfusio). A vizsgálat elsődleges végpontja az eljárás biztonságosságának igazolása, másodlagos végpontja a szérum transzaminázok szintjének csökkentése volt a 3. posztoperatív napra. Megállapítást nyert, hogy az eljárás kedvező mértékben csökkenti az IR károsodásokat a recipiensben.

## **5. Milyen új vizsgálatokat terveznek a jövőben? Különösen érdekel a neurális folyamatok tisztázása a perconditionálás protektív hatásában. Hogyan látja módszerinek/megfigyeléseinek klinikai alkalmazhatóságát.**

Klinikai vizsgálatok májtranszplantáció vagy máj ischaemia-reperfusio kapcsán nem állnak széles körben rendelkezésünkre, így a hatás egyelőre tisztázatlan. Munkacsoportunkban már többször felmerült egy a távoli conditinalas hatásait major májresectiók kapcsán vizsgáló RCT lehetősége, azonban a más szervekkel szerzett tapasztalatok óvatosságra intenek e tekintetben. Rendkívül érdekes kérdésfelvetésnek tartanám a távoli conditionalas hatásainak májtranszplantáció kapcsán történő klinikai alkalmazását. E tekintetben ugyanis egy denervált donor szervet ületünk egy amúgy neurológiailag intakt szervezetbe. Kísérletes tanulmányok szerint jelentős különbségek fedezhetők fel arra vonatkozóan, hogy a conditionalt vagy a távoli szervet denerváljuk. Vizsgálataink szerint a távoli, conditionalt szerv denerválása képes felfüggeszteni a protektív hatást, míg ha a beültetett szerv denervált állapotba kerül egy amúgy innervatiojat tekintve intakt szervezetbe, feltehetően a mechanizmusok robusztussága okán egyes jelátviteli utak (pl. humorális, szisztémás hatások) képesek lehetnek a neurális mechanizmusokat mintegy “helyettesíteni”.

Nagyon köszönöm a fenti kérdéseket és javító szándékú hozzászólásait.

Tisztelettel:

.....  
(Dr. Szijártó Attila)

Budapest, 2016. szeptember 22.

## Hivatkozások:

---

- <sup>1</sup> Montalvo-Jave EE, Escalante-Tattersfield T, Ortega-Salgado JA, Piña E, Geller DA.: Factors in the pathophysiology of the liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2008 1;147(1):153-9.
- <sup>2</sup> Farmer DG., Amersi F., Kupiec-Weglinski J, Busuttil RW.: Current status of ischemia and reperfusion injury in the liver. *Transplat.* 2000 14 (2): 106–126
- <sup>3</sup> Shiratori Y, Kiriyaama H, Fukushi Y, Nagura T, Takada H, Hai K, Kamii K.: Modulation of ischemia-reperfusion-induced hepatic injury by Kupffer cells. *Dig Dis Sci.* 1994;39(6):1265-72.
- <sup>4</sup> Arii S, Monden K, Adachi Y, Zhang W, Higashitsuji H, Furutani M, Mise M, Fujita S, Nakamura T, Imamura M.: Pathogenic role of Kupffer cell activation in the reperfusion injury of cold-preserved liver. *Transplantation.* 1994 27;58(10):1072-7.
- <sup>5</sup> Giakoustidis DE, Iliadis S, Tsantilas D, Papageorgiou G, Kontos N, Kostopoulou E, Botsoglou NA, Gerasimidis T, Dimitriadou A.: Blockade of Kupffer cells by gadolinium chloride reduces lipid peroxidation and protects liver from ischemia/reperfusion injury. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(53):1587-92.
- <sup>6</sup> Hardonk MJ, Dijkhuis FW, Hulstaert CE, Koudstaal J.: Heterogeneity of rat liver and spleen macrophages in gadolinium chloride-induced elimination and repopulation. *J Leukoc Biol.* 1992;52(3):296-302.
- <sup>7</sup> Kobayashi T, Hirano K, Yamamoto T, Hasegawa G, Hatakeyama K, Suematsu M, Naito M.: The protective role of Kupffer cells in the ischemia-reperfused rat liver. *Arch Histol Cytol.* 2002;65(3):251-61.
- <sup>8</sup> Szijártó A, Hahn O, Lotz G, Schaff Z, Madarász E, Kupcsulik PK.: Effect of ischemic preconditioning on rat liver microcirculation monitored with laser Doppler flowmetry. *J Surg Res.* 2006;131(1):150-7.
- <sup>9</sup> Paradis-Deschênes P, Joanisse DR, Billaut F.: Ischemic preconditioning increases muscle perfusion, oxygen uptake, and force in strength-trained athletes. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2016;41(9):938-44.
- <sup>10</sup> Petrowsky H, McCormack L, Trujillo M, Selzner M, Jochum W, Clavien PA.: A prospective, randomized, controlled trial comparing intermittent portal triad clamping versus ischemic preconditioning with continuous clamping for major liver resection. *Ann Surg.* 2006;244(6):921-8; discussion 928-30.
- <sup>11</sup> Smyrniotis V1, Theodoraki K, Arkadopoulos N, Fragulidis G, Condi-Pafiti A, Plemenou-Fragou M, Voros D, Vassiliou J, Dimakakos P.: Ischemic preconditioning versus intermittent vascular occlusion in liver resections performed under selective vascular exclusion: a prospective randomized study. *Am J Surg.* 2006;192(5):669-74.
- <sup>12</sup> Simillis C, Robertson FP, Afxentiou T, Davidson BR, Gurusamy KS.: A network meta-analysis comparing perioperative outcomes of interventions aiming to decrease ischemia reperfusion injury during elective liver resection. *Surgery.* 2016;159(4):1157-69.
- <sup>13</sup> Chu MJ, Vather R, Hickey AJ, Phillips AR, Bartlett AS.: Impact of ischemic preconditioning on outcome in clinical liver surgery: a systematic review. *Biomed Res Int.* 2015;2015:370451
- <sup>14</sup> Ye B, Zhao H, Hou H, Wang G, Liu F, Zhao Y, Zhang Z, Xie K, Zhu L, Geng X.: Ischemic preconditioning provides no additive clinical value in liver resection of cirrhotic and non-cirrhotic patients under portal triad clamping: a prospective randomized controlled trial. *Clin Res Hepatol Gastroent.* 2014 Sep;38(4):467-74.
- <sup>15</sup> Rodríguez A, Taurà P, García Domingo MI, Herrero E, Camps J, Forcada P, Sabaté S, Cugat E.: Hepatic cytoprotective effect of ischemic and anesthetic preconditioning before liver resection when using intermittent vascular inflow occlusion: a randomized clinical trial. *Surgery.* 2015;157(2):249-59.
- <sup>16</sup> Scatton O, Zalinski S, Jegou D, Compagnon P, Lesurtel M, Belghiti J, Boudjema K, Lentschener C, Soubrane O.: Randomized clinical trial of ischaemic preconditioning in major liver resection with intermittent Pringle manoeuvre. *Br J Surg.* 2011;98(9):1236-43.
- <sup>17</sup> Jia J, Li J, Jiang L, Zhang J, Chen S, Wang L, Zhou Y, Xie H, Zhou L, Zheng S.: Protective effect of remote limb ischemic preconditioning on the liver grafts of rats with a novel model. *PLoS One.* 2015 18;10(3):e0121972.
- <sup>18</sup> Costa FL, Yamaki VN, Gonçalves TB, Coelho JV, Percário S, Brito MV.: Combined remote ischemic preconditioning and local postconditioning on liver ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2014;192(1):98-

---

102.

<sup>19</sup> Czigan 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.

<sup>20</sup> MacAllister R, Clayton T, Knight R, Robertson S, Nicholas J, Motwani M, Veighey K.: REmote preconditioning for Protection Against Ischaemia–Reperfusion in renal transplantation (REPAIR): a multicentre, multinational, double-blind, factorial designed randomised controlled trial. *NIHR Journals Library*

<sup>21</sup> 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.

<sup>22</sup> Zhang L, Diao Y, Chen G, Tanaka A, Eastwood GM, Bellomo R.: Remote ischemic conditioning for kidney protection: A meta-analysis. *J Crit Care*. 2016 ;33:224-32.

<sup>23</sup> Robertson FP, Goswami R, Wright GP, Fuller B, Davidson BR.: : Protocol for a prospective randomized controlled trial of recipient remote ischaemic preconditioning in orthotopic liver transplantation (RIPCOLT trial). *Transplant Res*. 2016 6;5:4.