

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**MIKROKERINGÉSI ÉS MITOKONDRIÁLIS
DISZFUNKCIÓ DIAGNOSZTIKÁJA ÉS TERÁPIÁS
LEHETŐSÉGEI**

DR. HARTMANN PETRA



**SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
SZENT-GYÖRGYI ALBERT ORVOSTUDOMÁNYI KAR
TRAUMATOLÓGIAI ÉS ORTOPÉDIAI KLINIKA
SZEGED**

2025

“It has long been an axiom of mine that the little things are infinitely the most important”

Sir Arthur Conan Doyle

1 ELŐSZÓ

A traumatológiai sérülések, törések és a sebészi beavatkozások során gyakran előforduló átmeneti vértelenség következménye az iszkémia-reperfúziós (IR) károsodás, ami többek között helyi mikrokeringési problémákat és szisztémás gyulladást eredményez. Gyulladásban az oxigénszállítás és oxigén felhasználás közötti egyensúly felborulása az egyik alapvető mechanizmus, mely részben a mikrokeringés elégtelen voltára, részben pedig a mitokondriumok oxigént hasznosító zavarára (anaerob metabolizmusra) vezethető vissza. A két folyamat együttesen vagy egymás következményeként jön létre: megfelelő terápiás beavatkozás hiányában a romló mikrokeringés következtében szöveti hypoxia alakul ki, ami a mitokondriális légzés károsodásával a sejtek energetikai zavarán alapuló sejtpusztulást eredményezhet.

Kutatásunk középpontjában a mikrokeringési és mitokondriális diszfunkció olyan tényezőinek azonosítása áll, amelyek befolyásolásával csökkenthetők a szövetek strukturális és funkcionális károsodásai. Ennek részeként vizsgáltuk a szövetekben kialakuló gyulladásos leukocita-endotélsejt interakciók minőségi és időbeli változásait, valamint a perfúzió zavarát. A mikrokeringési gyulladásos reakciók a szakirodalomban az IR által kiváltott gyulladásos reakciók oldaláról vannak leginkább feltérképezve. Ezért vizsgálatainkat elsődlegesen ennek taglalásával és ezt befolyásolni hivatott iszkémiás prekondicionálással (IPC) köztük a távoli IPC pathomechanizmusának és a védelmet biztosító tényezők feltárásával kezdtük. A mikrokeringési változások diagnosztikai célú vizsgálatát elősegíti, hogy ezen reakciók szövetspecifikusak, másrészt a gyulladás szakaszai és a szöveti regeneráció is jellegzetes mikrokeringési változásokkal járnak, így a sebgyógyulást és törésgyógyulást elősegítő terápiák hatékonyságát, a bőrfelszínről történő gyógyszerfelszívódást és a szöveti implantátumok által kiváltott reakciókat is meg tudjuk ítélni.

A mikrokeringési vizsgálatok széles körű alkalmazását a klinikumban korlátozza, hogy többnyire nehezen kivitelezhető, nagy gyakorlatot igénylő, invazív és hosszadalmas vizsgálatokról van szó, ráadásul sok módszer esetében a kapott eredmények elemzése is időigényes. A vizsgálataink során alkalmazott intravitális video-mikroszkópiás (IVM),

módosított spektrális képalkotás (O₂C) és Lézer-Doppler áramlásmérési (LDF) módszerek megbízhatóan tükrözik a mikrokeringési folyamatok dinamikáját, és jól alkalmazhatók a szövetek perfúziós zavarainak és gyulladásos reakcióinak nyomonkövetésére.

Mitokondriális funkcióra vonatkozó vizsgálataink során nagy felbontású respirométerrel jellemeztük az IR során mind a meleg- és hideg iszkémiás periódus, mind a reperfúzió következtében létrejövő mitokondriális diszfunkciót, valamint a feltételezett védő molekulák, egyrészt az L- α -glicerilfoszforilkolin (GPC) és az exogén metán (CH₄), hatását. A GPC a membránok foszfolipid szintézisének kolin-donora, jelentős szerepe van hipoxiás folyamatokban a foszfolipid homeosztázis fenntartásában. GPC gyulladásgátló tulajdonságokkal rendelkezik, csökkenti a membránkárosodást a központi idegrendszer területén, és elősegíti az adenozin-5'-trifoszfát (ATP) szint regenerálódását a májban. Emellett hatásosan alkalmazható a lipidperoxidáció és az oxido-reduktív károsodások ellen. A korábban biológiailag inaktívnak vélt CH₄ szerepének vizsgálata a kutatás egyik eleme, különféle IR-s kísérletek igazolják gyulladáscsökkentő tulajdonságait. Az intracelluláris CH₄ lehetséges célpontja a mitokondrium, és a CH₄ antioxidáns és anti-apoptotikus hatása azáltal valósulhat meg, hogy befolyásolja a mitokondriális reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelést és a légzési aktivitást.

Klinikai vizsgálatunkban felvetettük az endogén metanogenezis lehetőségét fokozott alkoholfogyasztást követően mitokondriális funkciózavar alatt egészséges emberekben és patkányokban. Vizsgálataink kiterjednek a politraumatizált betegek monitorozására is, beleértve vérzéses shock esetén a kilélegzett CH₄ szintjét és a vitális paraméterek prediktív értékének meghatározását, valamint a mitokondriális légzés vizsgálatának diagnosztikai alkalmazását trauma-indukált koagulopátiában (TIC).

Az értekezés célja a mikrokeringési és mitokondriális diszfunkció mechanizmusainak feltárása, amely új terápiás célpontokat azonosíthat az IR károsodások mérséklésére és a szöveti regeneráció elősegítésére. Az elemzés újdonsága, hogy a gyulladásos reakciók és a mitokondriális funkciózavarok összefüggéseit nemcsak alapkutatási, hanem klinikai környezetben is vizsgálatuk.

2 CÉLKITŰZÉSEK

Mikrokeringési kutatások célkitűzései

Általános célkitűzésünk volt a mikrokeringési kutatásaink során a meglévő módszertani alapok és vizsgálati technikák fejlesztése. A mikrokeringés kutatásához alkalmazott technikák (IVM, LDF, O2C) klinikai és kísérletes alkalmazási lehetőségeinek feltérképezése. Ezen felül új, *in vivo* kísérleti modellek kialakítása a mikrokeringési folyamatok részletes vizsgálatára, különös tekintettel a gyógyszerpenetráció és -felszívódás pontos mérésére működő mikrocirkulációval rendelkező szövetekben. Ezen általános célkitűzéseink mellett az egyes vizsgálatok során specifikus célkitűzéseink is voltak:

1. Gyulladásos modellek mikrokeringési változásainak vizsgálata

- Az akut monoarthritisben jelentkező szinoviális mikrokeringési változások elemzése, különös tekintettel a leukocita-endotél kölcsönhatásokra és a gyulladás csökkentésére irányuló terápiás stratégiákra.
- Elektroporációval (EP) támogatott helyi gyógyszeradagolás hatékonyságának vizsgálata az ízületi gyulladás csökkentésére és összehasonlítása a diclofenac hidrogél szinoviális folyadékba való behatolási tulajdonságait különböző alkalmazási módok után.

2. Bőrirritáció és sebgyógyulás mikrokeringési mechanizmusainak feltárása

- A bőrirritáció és sebgyógyulás mikrokeringési változásainak elemzése, különösen az irritatív dermatitisz modellezésében és a transzdermális gyógyszerpenetráció vizsgálatában.
- A bőr sebgyógyulási folyamataiban szerepet játszó Ca^{2+} -csatornák (Ryanodin receptorok) terápiás célpontként történő kiértékelése.
- A periimplantáris mikrokeringés posztoperatív változásainak vizsgálata új típusú implantátumok és műtéti technikák hatására.

3. A perioszteum és endoszteum keringésnek vizsgálata kiterjedt oszteoszintézist követően

- Az endoszteális és perioszteális mikrokeringés változásainak elemzése kiterjedt csontszintézis után, különös tekintettel a helyi perfúzió elégtelenségére és az állízület kialakulásának mechanizmusaira.

4. Távoli IPC és gyulladáscsökkentő szerek hatásának elemzése

- A távoli IPC hatásainak feltárása az IR májsérülések által kiváltott mikrokeringési

zavarokra.

- A GPC hatásának vizsgálata a posztiszkémiás gyulladásos válaszokra, különösen a NADPH-oxidáz izoformák expressziójára és a máj mikrokeringési paramétereire.

Mitokondriális kutatások célkitűzései

Általános célkitűzésünk volt a mitokondriális diszfunkciók molekuláris mechanizmusainak és patofiziológiai következményeinek részletes feltárása IR-modellekben különböző szervek (máj, szív) esetében. A mitokondriumok célzott terápiás beavatkozásokkal történő védelmének lehetőségeinek vizsgálata, különös tekintettel a GPC és a CH₄ bioaktív hatásaira. Specifikus célkitűzéseink a vizsgálatok során a következők voltak:

5. Máj meleg és hideg IR során a mitokondrium célzott védelmének lehetőségei bioaktív molekulákkal

- A máj meleg IR sérülések során fellépő mitokondriális diszfunkció mechanizmusainak feltárása, különös tekintettel a légzési lánc komplexeinek működésére és az oxidatív foszforiláció (OxPhos) zavarára.
- A GPC hatásának vizsgálata a mitokondriális respirációra és az IR által kiváltott oxidatív stresszre májmodellben.
- A CH₄ belélegzésének hatásának elemzése a máj IR sérülések során fellépő mitokondriális diszfunkcióra és oxidatív stresszre, különösen a respirációs kapacitás és a ROS-termelés vonatkozásában.
- A CH₄-al dúsított szervtartósító oldatok alkalmazásának vizsgálata hideg iszkémiás májtranszplantációs modellekben, különös tekintettel a mitokondriális OxPhos-ra, a Ca²⁺-homeosztázisra és a szervfunkciók megőrzésére.

6. Szív IR mitokondriális következményeinek enyhítése exogén CH₄ adásával

- A CH₄ alkalmazásának vizsgálata a szív IR sérülések által kiváltott mitokondriális diszfunkció mérséklésére, különös tekintettel az elektrontranszport lánc (ETC) komplexeinek aktivitására, az oxidatív stresszre és az apoptózisra.
- A CH₄-dúsított tárolóoldatok hatásának elemzése a hideg iszkémiás szívtranszplantáció során, különös tekintettel a mitokondriális funkciók megőrzésére, az apoptózis csökkentésére és a szív graft funkciójának javítására.

Trauma és alkoholfogyasztás okozta stressz biomarkereinek monitorozása

Általános célkitűzésként biomarkerek, például a kilélegzett CH₄ klinikai alkalmazhatóságát vizsgálatuk a traumás sokk és a vérvesztés korai azonosítására. Ezen kívül a trauma okozta mitokondriális diszfunkció és koagulációs zavarok mechanizmusait, amelyek hozzájárulhatnak új diagnosztikai és terápiás stratégiák kidolgozásához.

7. A kilélegzett CH₄ mint biomarker szerepének vizsgálata traumában és alkohol okozta stresszben

- Az alkoholfogyasztás által indukált CH₄-termelés mechanizmusainak feltárása, különös tekintettel a mitokondriális diszfunkció és az oxidoreduktív stressz közötti összefüggésekre.
- A kilélegzett CH₄ szintjének klinikai felhasználhatóságának vizsgálata mint potenciális biomarker az oxidatív stressz és a mitokondriális diszfunkció detektálására

8. Traumás sokk és vérzés prediktív paramétereinek elemzése

- A jelenlegi és korábbi Advance Trauma Life Support (ATLS)-sokkosztályozási rendszerek összehasonlítása a 30 napos mortalitás prediktív értéke szempontjából, különös tekintettel a vitális paraméterek (VS), mint (GCS), szisztolés vérnyomás (SBP) és a bázis deficit (BD) szerepére.
- A szívfrekvencia (HR) mortalitást előrejelző képességének vizsgálata traumás vérzéses sokkban, és a HR-változások értelmezési keretének újragondolása az ATLS protokollban.

9. A kilélegzett CH₄ kimutatása traumával összefüggő vérzésben

- A kilélegzett CH₄ koncentrációjának vizsgálata traumás vérzéses sokk korai azonosítására, különös tekintettel a vérvesztéssel és VS-vel való kapcsolatára.
- A CH₄ -mérések valós idejű alkalmazhatóságának és klinikai relevanciájának elemzése súlyosan sérült betegek esetében.

10. Mitokondriális diszfunkció és TIC összefüggéseinek feltárása

- A mitokondriális diszfunkció és a trombociták aktivációjának zavara közötti kapcsolat vizsgálata TIC-ben, különös tekintettel az OxPhos-ra és a reaktív oxigéntermelésre.
- A trombociták mitokondriális funkciójának és TIC során fellépő maladaptív válaszainak részletes elemzése új terápiás célpontok azonosítása érdekében.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A humán és állatkísérletes etikai engedélyszámok:

A humán vizsgálatokat a Szegedi Tudományegyetem Klinikai Központ Etikai Bizottsága és a Regionális Humán Kutatási Etikai Bizottság jóváhagyta, engedélyszámok: 3175.2013, 0623.2014, 49/B-165/2014, 182/2019-SZTE, 10/2021-SZTE REKB.

Az állatkísérletes vizsgálatokat Magyarország illetékes nemzeti hatósága, az Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács (ÁTET) döntését követően, a Csongrád-Csanád Vármegyei Kormányhivatal, Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Főosztály, Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Osztály határozatai alapján, a következő engedélyszámokkal végeztük el: 15.1/00755/002/csongr/2007, V./145/2013, V./148/2013, V./1416/2021.

3.1 Mikrokeringés változása gyulladásos modellekben

Az IVM vizsgálatokat Zeiss Axiotech Vario 100 HD IVM-el végeztük (100 W HBO higanygőz lámpa, Acroplan 20 víz immerziós objektív). FITC (Sigma, St. Louis, MO, USA) jelölt vörösvértestek szolgáltak fluoreszcens perfúziós markerként (0,2 ml i.v.), vagy egerekben 2%-os FITC-jelölt dextransz injekció (150 kD) [153] A leukociták festésére, pedig rodamin 6G-t (Sigma, St. Louis, MO, USA) (0,2%, 0,1 ml i.v.) használtunk. A szövetekben a véráramlást LDF-el rögzítettük (780 nm-es sugárzással ellátott lézerdioda; PeriFlux System 5000, Perimed, Jarfalla, Svédország) sterilizált száloptikai szondával (a bőrön #457, "termosztatisz szonda"; testen belül #416, "dental probe" használatával). A máj szöveti véráramlásának és oxigén telítettségének egyidejű mérésére a noninvazív, módosított spektrofotometriás O2C rendszert (LEA Medizintechnik, Gießen, Németország) használtuk. Az O2C készülék egyetlen lapos szondában egyesíti a fehérfény-spektroszkópiát az LDF-el, így lehetővé teszi a szöveti oxigéntelítettség (SO₂ százalék, abszolút érték), a szöveti Hb (rHb, AU), a kapilláris véráramlás (AU) és a kapilláris RBCV (AU) egyidejű rögzítését.

3.1.1 Szinovialis mikrokeringés vizsgálata akut artritiszben

A kísérleteket hím Sprague Dawley patkányokon (átlagtömeg 300 ± 50 g) végeztük. A szinovialis mikrocirkuláció akut ízületi gyulladásal összefüggő változásait IVM-el vizsgáltuk. Az állatokat intraperitoneális nátrium-pentobarbitállal (45 mg kg⁻¹) altattuk, és a diklofenák beadási módja szerint négy csoportra osztottuk. Az állatok az 1. csoportban *per os* diklofenákot (75 mg kg⁻¹ diklofenák-nátrium, Novartis Hungaria Kft., Budapest,

Magyarország) kaptak ($n = 6$), a 2. csoportban helyileg alkalmazott diklofenák-gélt (50 mg mL^{-1} $230 \text{ }\mu\text{L}$ térfogatban; $n = 6$), a 3. csoportban pedig elektroporációval (EP)-vel kombinált helyileg alkalmazott diklofenák-gélt (50 mg mL^{-1} $230 \text{ }\mu\text{L}$ térfogatban; $n = 6$). A 4. csoport *per os* sóoldattal itatott kontrollként szolgált ($n = 6$). A kezeléseket mindig 2 órával az artritisz indukciója előtt ($t = -2 \text{ ó}$) és 2 órával utána ($t = 2 \text{ ó}$) alkalmaztuk.

Artritisz indukciójához az állatokat intraperitoneális (IP) ketaminnal (50 mg kg^{-1}) és xilazin (12 mg kg^{-1}) keverékével altattuk, és a térd feletti bőr betadinos lemosását követően a jobb térdízületbe egyszeri injekciót adtunk be 2%-os λ -karragén (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) és 4%-os kaolin sóoldatban lévő $75 \text{ }\mu\text{L}$ keverékéből. A kontralaterális térdbe fiziológias sóoldatot adtunk.

A helyileg alkalmazott diklofenák-gél bevitelének fokozására nem invazív EP kezelést alkalmaztunk, amihez Mezoforte Duo Mez 120905-D készülékkel (Dr Derm Equipment Kft., Budapest, Magyarország) végeztük. Polipropilénnel borított kezelő fejet használtunk 25 mm átmérőjű lemezelektrodával (moduláció 900 V -os impulzusokkal, 5 ms feszültségimpulzust 20 ms szünet követett). $230 \text{ }\mu\text{L}$ diklofenák-hidrogélt használtunk, az EP kezelési idő 8 perc volt.

3.1.2 A bőr mikrokeringése bőrirritációban és sebgyógyulásban

3.1.2.1 A háti bőrredő kamra beültetése, penetrációs modell kialakítása

A kísérleteket 15 hetes hím SKH-1 szőrtelen egereken végeztük (testtömeg: $36\text{-}42 \text{ g}$). Az állatokat IP ketamin (90 mg/ttkg) és xilazin (25 mg/ttkg) keverékével altattuk a steril körülmények között végzett műtéthez. Elsőként két tartó öltést helyeztünk a hát középvonalában, hogy bőrredő alakuljon ki. Ezután a bőr kettős rétegének „szendvicsbe” illesztésére két szimmetrikus titánkeretet (IROLA GmbH, Schonach, Németország) alkalmaztunk. A bőrredőt a fémkeretekhez varratokkal, a másik kerethez pedig három csavarral rögzítettük. A seb létrehozása a terület tintabélyegzővel szabványosított kör alakú megjelölése után történt. Mikrosebészeti technikával a bőr egyik oldalán a bőrredő teljes bőrének a musculus panniculus carnosusig történő eltávolításával kör alakú teljes bőrvastagságú, körülbelül $66\text{-}70 \text{ mm}^2$ -es sebet hoztunk létre. Az ellenkező oldalon a nem sebzett bőr minden réteggel rendelkezett: epidermiszből, dermiszből és harántcsíkolt bőrízomzatból állt. A seb oldalát egy eltávolítható vékony üveglemezzel fedtük be, amelyet az egyik titánkeretbe építettek be. Ez a rendszer lehetővé tette, hogy gyógyszerpenetrációs

kísérletekhez az üveglap eltávolítása után egy 1 ml térfogatú rozsdamentes acélhengert rögzítettünk a titániumkeret ablakába. Az ellenkező, nem sebzett oldal szolgált a vizsgálati készítmény felvitelére.

A mikrocirkulációt IVM-el vizualizáltuk. A vizsgálatok során az objektívet mind a seb felőli, mind pedig a bőrredő ép oldalán is lehet használni. A vörösvértestek áramlási sebességét (RBCV, $\mu\text{m/s}$) és perfúziós arányt (PR) határoztunk meg.

3.1.2.2 A bőr mikrokeringése bőrirritációban

A bőrirritáció vizsgálatához nátrium-lauril-szulfát (SLS) kiváltott gyulladást, mint ismert modellt választottuk, és a mikrokeringési következményeket a bőrt két potenciális védő hatású anyag (glicerín és xilit) különböző koncentrációival kezelve hasonlítottuk össze. Az egereket véletlenszerűen 6 kísérleti csoportra osztottuk. Az 1. csoport ($n = 20$) szolgált kontrollként, a háti régiót tisztított vízzel kezelték. A 2. csoport 5%-os SLS-oldattal (SLS: >99%-os tisztaságú, Huntsman Corp. Salt Lake City, UT, USA) lett kezelve. A 3. csoportban a bőrre felvitt oldat 5% SLS-t (5%) és 5% glicerint (Cognis, Düsseldorf, Németország) tartalmazott. A 4. csoport állatai SLS-t (5%) és 8,26%-os xilitet (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) tartalmazó oldatot kaptak. Az 5. csoportban SLS (5%) és 10%-os glicerín, míg a 6. csoportban SLS (5%) és 16,52%-os xilit került a bőrre. Az SLS-t és a polioloikat tisztított vízben oldottuk. A háti bőrredő kamrát ültettük be (csoportonként $n = 8$) a mikrokeringés tanulmányozására. A mikrokeringést IVM-el vizsgáltuk, RBCV-t ($\mu\text{m/s}$) és a leukocita-endotélsejt reakciókat határoztuk meg.

3.1.2.3 A bőr mikrokeringése sebgyógyulásban

A sebgyógyulás vizsgálatához a bőrredő kamra egyik oldalán körkörös sebet alakítottunk ki, amelyet a kezelésekig a titánkerethez rögzített üveglappal fedtünk le. A kamra másik oldalán ép bőr maradt. A kezelésekhez az üvegfedél eltávolítását követően steril sóoldatot ($\text{pH} = 7,4$), a rianodinreceptor-agonista 4-klór-m-krezolt (4-CMC; 0,5 mM, $\text{pH} = 6,5$) vagy a rianodinreceptor-antagonista dantrolén (DA; 100 μM , $\text{pH} = 7,1$) oldatát juttattuk mikropipettával (100 μl) a sebekbe. Ezután az üvegfedelelet visszahelyeztük. Minden csoportban naponta egy kezelést alkalmaztunk. Négy naponként fényképeket készítettünk (a 4., 8., 12., 16. és 20. napon), majd az állatokat ketamin túladagolásával elaltattuk, és szövettani elemzéshez szövetmintákat vettünk. A mikrokeringési vizsgálatokat IVM-mel végeztük, a sebszélek kapillárisaiban RBCV-t ($\mu\text{m/s}$) és érátmérőt (VD, μm) mértük. Emellett

a sebszélre merőlegesen elhelyezett LDF segítségével a sebkialakítást követően 24 órával véráramlásmérést (PU) végeztünk. Először rögzítettük a kiindulási áramlási értékeket, majd elvégeztük a sebkezelést. A kezelést követően 10 perccel megismételtük a méréseket. A jelet minden esetben 20 másodpercig rögzítettük. A sebgyógyulás nyomon követésére fényképeket készítettünk (DiMage A200, Konica Minolta) standard körülmények között: sötét szobában, azonos fényforrások mellett, rögzített fényképezőgéppel. A képek felbontása 3264×2448 volt. A sebtérületet a munkacsoportunk által fejlesztett szoftverrel elemeztük. A seb záródási sebességét két független vizsgáló mérte, és az értékeket a 0. napi területhez viszonyítottuk. A xantin-oxidoreduktáz (XOR) és mieloperoxidáz (MPO) enzim aktivitását az 1. és 4. napon a gyulladásos fázisban mértük. A bőrbíopsziákat feldolgozásig jégen tartottuk, majd foszfát pufferben (pH 7,4; 50 mM Tris-HCl-t, (Reanal, Budapest, Magyarország) 0,1 mM EDTA-t, 0,5 mM ditiotreitolt, 1 mM fenilmetil-metilszulfonil fluorid, 10 µg/mL szója tripszin inhibitor, 10 µg/mL leupeptin) homogenizáltuk. A homogenátumot 4 °C-on 20 percig 24000 g-nél centrifugáltuk. Az XOR aktivitását az ultraszűrt felülúszóban fluorometriás kinetikai vizsgálattal határoztuk meg, amely a pterin izoxanthopterinné történő átalakulásán alapul az elektronakceptor metilénkék jelenlétében (teljes XOR) vagy hiányában (XO-aktivitás) [154]. A pellet reszuszpendálásával a minták MPO-aktivitását 450 nm-en mértük (UV-1601 spektrofotométer, Shimadzu, Japán), és az adatokat a fehérjetartalomra vonatkoztattuk [155].

3.1.3 Bőr implantátum közeli mikrokeringése

Humán bőr regenerációjának prospektív vizsgálatát végeztük oszteointegrált implantátumok beültetését követő 2 és 4 hónap között. Két különböző technika eredményét hasonlítottuk össze a bőr LDF vizsgálatával.

A betegeket három csoportra osztottuk: egy kontroll csoportba ahol nem történt implantáció (n = 7), és a két különböző technikával beültetett oszteointegrált implantátumot kapott csoportban: lágyrés zredukáló (STR, n = 7), ahol U alakú bőrlebenyt alkalmaztak vagy hagyományos lágyrészkímélő (STP, n = 10) technikára ahol lineáris metszést alkalmaztak. Minden betegnél elvégeztük a vizsgálatot a fej retroaurikuláris részén a beültetett és a nem beültetett oldalon is, amely kontrollként szolgált. A vizsgálatban résztvevőket az értékelés előtt 10 percig akklimatizáltuk kényelmes ülő helyzetben, pulzus és vérnyomás mérés történt. A megfigyelés teljes időtartama alatt a szobahőmérséklet (20 ± 2 °C) és a hónalj hőmérséklet

a ($36 \pm 0,5$ °C) állandó volt.

3.1.4 A perioszteum és endoszteum keringése kiterjedt oszteoszintézist követően

Mikrokeringési vizsgálatainkat LDF-el végeztük álízület miatti reoperáció során a fémanyagok eltávolítását követően. A vizsgálatot megelőzően 2 évvel a betegnek sípcsonttörése volt egy cementes totál térdprotézis szárának a végpontja magasságában. A gyógyulást sem dinamikus kompressziós (DC)-lemezes oszteoszintézissel, sem a tibia mediális és laterális oldalán utólag felhelyezett szögstabil lemezekkel nem tudtuk elérni, álízület alakult ki. A tibia perioszteumát a reoperált végtagon a hagyományos elülső műtéti feltáráson keresztül, a kontralaterális végtagon pedig egy kis (~ 2 cm-es) bőrmetszésen keresztül tártuk fel. Az áramlásmérő szondát egy műanyag tartóval merőlegesen tartottuk a csontthártya felszínére, ami csökkentette a megfigyelt területre gyakorolt nyomást és korlátozta a szonda szögletes mozgását. Ezután az endoprotézist eltávolítottuk, és a csontüregben megközelítettük az endoszteális membrán kompartmentet. Egy kis lyukat fűrtünk az elülső kortikálison, ami hozzáférést biztosított az endoszteumhoz a szemközti (a hátsó) medulláris fal belső felszínén. A fűrt lyuk mérete lehetővé tette, hogy az áramlásmérő szonda számára tökéletesen illeszkedjen. Mivel a kontralaterális (nem műtött) oldalon endoprotézis volt, az endoprotézis szárától distalisan, valamivel az újra műtött oldalon végzett mérés szintje alatt lehetett megmérni az endoszteális keringést; a különbség ~ 1 cm volt. A megfigyelési időszak alatt a beteg szobahőmérsékleten (20 ± 2 °C) volt és a maghőmérsékletét fenntartottuk; a stabil makrohemodinamikai paramétereket folyamatosan rögzítettük.

3.1.5 A távoli iszkémiás prekondicionálás és a L- α -glicerilfoszforilkolin hatása a máj iszkémia-reperfúziós mikrokeringésére

Kísérleteinket hím Sprague-Dawley patkányokon (Charles River, Sulzfeld, Németország; átlagtömeg 300 ± 20 g) végeztük. Az altatást 25 mg ml^{-1} (S)-ketaminnal (Ketanest; Parke Davis, Berlin, Németország) és 20 mg ml^{-1} xilazin (Rompun; Bayer, Leverkusen, Németország) kombinációjával végeztük 8:1 arányban, i.p. injekcióban, és ezt az állapotot 30 percenként kisebb mennyiségben kiegészítő i.v. adagokkal tartottuk fenn. A közleményekben említett részleges máj IR modellben a részleges kifejezés arra vonatkozik, hogy keringési okokból nem a teljes májszövetet érintette a keringésből való kirekesztés, hanem annak csak két lebenyét. A sebészi beavatkozás során középvonalbeli laparotómia és

kétoldali subcostalis metszést követően a középső és a bal májlebeny teljes iszkémiáját a májartéria bal oldali ágainak és a v. portae-nak a 60 percig tartó mikrosebészeti klippel történő elszorításával érték el.

3.1.5.1 Távoli végtag IPC hatása a máj mikrokeringésre

Kísérleteinket két nagy sorozatban végeztük. Az első sorozatban a részleges hepatikus iszkémia mikrokeringési következményeit a noninvazív, módosított spektrometrikus O2C módszerrel (O2C rendszer; LEA Medizintechnik, Gieben, Németország) határoztuk meg. A regionális heterogenitás és az időbeli véráramlás-változások elkerülése érdekében a méréseket a máj felszínének három előre meghatározott pontján végeztük el, egyenként 30 másodpercig, a mérés előtt környezeti fénykorrekcióval.

Az 1. csoportban a máj mikrocirkulációs válaszait vizsgáltuk 60 perces teljes iszkémia, majd 180 perces reperfúziós periódus után (IR csoport, n = 6). A mikrokeringési alapváltozók rögzítése után iszkémiát idéztünk elő a középső és a bal májlebenyben. Ezután az elzárásokat feloldottuk (t = 0 perc), majd a reperfúziós fázis 60., 120. és 180. percében O2C segítségével megfigyeltük a mikrokeringést az érintett lebenyekben. Egy másik csoportban 2 ciklus 10 perces teljes hátsó végtagi iszkémiát és 10 perces reperfúziót alkalmaztak prekondicionáló triggerként a máj iszkémia indukciója előtt (távoli IPC + IR csoport, n = 6). A végtagi iszkémia a proximális combcsont köré helyezett érszorítóval és a combartéria egyidejű elzárásával egy miniklip segítségével valósult meg. A 3. csoportban lévő állatokon ugyanezeket a sebészeti eljárásokat végeztük el, kivéve a máj- vagy végtag iszkémia indukcióját (Álműtött csoport, n = 6). A biokémiai vizsgálatainkhoz a kísérletek során a 0., 60., 120. és 180. percekben vérmintát vettünk. A kísérletek végén szöveti biopsziákat vettünk enzimaktivitás és Western-blot elemzésekhez. A szöveti biopsziákat -80 °C-on, a plazmamintákat pedig -20 °C-on tároltuk a későbbi vizsgálatok előtt.

A második kísérletsorozatban a csoportok (n = 6) és a protokoll megegyezett az első kísérletsorozatával, azzal a különbséggel, hogy az érintett májlebenyek mikrokeringési gyulladásos reakcióit IVM-el vizsgáltuk t = 60. percben a reperfúziós fázisban. A gördülő és kitapadó PMN leukociták számát 5 központi acináris vénában (20 és 40 µm közötti átmérővel) határoztuk meg állatonként [156].

3.1.5.2 Kísérleti protokoll a GPC hatásának vizsgálatára a máj mikrokeringésére IR-ban

A kísérletekhez az állatokat véletlenszerűen a következő csoportok egyikébe soroltuk. Az első csoportban a máj mikrokeringési válaszait vizsgáltuk a középső és a bal májlebeny 60 perces teljes iszkémiájára, amelyet 180 perces reperfúziós periódus követett (IR-csoport, n = 6). A mikrocirkulációs alapváltozók rögzítése után iszkémiát idéztünk elő a középső és a bal májlebenyben a májartéria bal oldali ágainak és a kapuvénának elszorításával. Az elzárásokat ezt követően feloldottuk (t = 0 perc), és a reperfúziós fázisban 60, 120 és 180 perc múlva az O2C segítségével megfigyeltük a mikrokeringést az érintett lebenyekben. A második csoportban 50 mg/kg GPC-t (MW: 257,2) adtunk be a jobb nyaki vénába, 5 perccel az iszkémiás periódus vége előtt (IR + GPC csoport, n = 6). Ezek az adagolási körülmények korábbi vizsgálatok adatain alapultak; ez a dózis megegyezett a PC hatékony, gyulladáscsökkentő dózisával (MW: 785; 0,064 mM, 50 mg/testtömeg kg, i.v.) rágcsálókban [157,158]. A harmadik csoportban lévő állatokon ugyanazokat a sebészeti eljárásokat végezték el, kivéve a máj iszkémia indukcióját (Álop. csoport, n = 6). A májenzimek meghatározására szolgáló vérmintákat 0 és 60, 120 és 180 percben vettünk, és a vizsgálatokig -20 °C-on tároltuk. A NOX2 és NOX4 fehérjeexpresszió mérésére szolgáló szöveti biopsziákat a kísérletek végén vettünk, és a vizsgálatokig -80 °C-on tároltuk

A májmintákat Potter homogenizátorral homogenizáltuk, majd proteáz inhibitor koktéllal kiegészített RIPA pufferrel (Santa Cruz Biotech) lizáltuk. A fehérje extraktumokat (20 µg összfehérje) 4-15%-os gradiens nátrium-dodecil-szulfát-poliakrilamid gélekben elektroforizáltuk, és nitrocellulóz membránokra (Millipore) vittük át. A membránokat szobahőmérsékleten 1 órán keresztül Tris-pufferelt sóoldattal (TBS) és 5%-os sovány tejjel blokkoltuk, mielőtt egy éjszakán át 4 °C-on gp91phox (1:2000 hígítás; Eptomics, Burlingame, CA, USA) és NOX4 (1:2000 hígítás; Eptomics, Burlingame, CA, USA) elleni elsődleges antitestekkel inkubáltuk. A Tween-20-szal kiegészített TBS-sel (TBS-T) történő mosást követően a membránokat 1 órán keresztül szobahőmérsékleten tormaperoxidáz-konjugátummal megfelelő másodlagos antitestekkel (antinyúl, 1:2500 hígítás; Promega, Madison, WI, USA) inkubáltuk. A membránokat ezután a SuperSignalWest Pico tormaperoxidáz szubsztrát kittel (Pierce, Rockford, IL, USA) hívtuk elő, Lumi-Imager™ (Roche-Diagnostics, Boehringer Mannheim, Németország) képállomáson lefényképeztük, majd a

fehérjesávok intenzitását ImageJ programmal kvantitatív módon meghatároztuk és denzitometriás analízist végeztünk. A mintaterhelés és a fehérjeátvitel ellenőrzésére a membránokról a korábban kötött antitesteket stripping pufferral eltávolítottuk, majd újra hidridizáltuk β -aktin antitesttel (1:1000 hígítás; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), így a kapott eredmények megbízhatóak és összehasonlíthatóak egymással.

3.2 Mitokondriális diszfunkció iszkémia-reperfúzióban

Kísérleteinkben a mitokondriumok *in vitro* vizsgálatára és humán minták mérésére is alkalmas OROBOROS Oxygraph-2k (Innsbruck, Ausztria) nagyfelbontású respirométert (HRR) és kiegészítő LED2 fluoreszcens modult használtunk. A respirométer a Clark elektród (bipoláris elektrokémiai oxigén szenzor) elvén működő mérőrendszer, amely nagy pontossággal képes biológiai minták pillanatnyi oxigén fogyasztásának meghatározására és követésére.

3.2.1 GPC kezelés hatása

3.2.1.1 A mitokondriális funkciókra ható GPC-koncentráció meghatározása *in vitro*

Ezeknél a kísérleteknél korábbi modellben meghatározott mitokondriális dózis-változás hatását vettük alapul. Ebben a sorozatban újszülött Wistar patkányok szívhomogenátumain az állandósult állapotú alap oxigénfogyasztását (alaplégzés) mérését követően az II-III. állapotú (alaplégzés + OxPhos) mitokondriális légzési protokollt alkalmaztuk különböző koncentrációjú GPC oldatok (1 μ M - 100 μ M GPC oldat) mitokondriális légzésre gyakorolt hatásának meghatározására [167]

Ebből kiindulva, *in vitro* kísérletekben a hatásos GPC-koncentráció-tartomány meghatározásához 1 nM-tól 800 mM-ig terjedő GPC-oldatsorozatokat használtunk kontroll állatok májából készült homogenátumokon normoxiás állapotban. A hatékony koncentrációban 30 perces anoxiás periódust követően is vizsgáltuk az alaplégzést és az OxPhos-t [69].

3.2.1.2 GPC hatásának vizsgálata *in vivo*

Az állatokat véletlenszerűen négy csoportba osztottuk. A vivőanyaggal kezelt IR-csoportban (n = 6) a patkányokat 60 perces teljes iszkémiának vetettük alá, amelyet 60 perces reperfúzió követett. Az IR + GPC csoportban 16,56 mg/testtömegkg GPC-t (MW: 257,2, Lipoid GmbH,

Ludwigshafen, Németország; 0,5 ml steril sóoldatban 0,064 mM koncentrációban oldva) intravénásan adtuk be 5 perccel az iszkémia vége előtt. Az álműtött, vivőanyaggal kezelt állatok (Álop. csoport, n = 6) ugyanezen a műtéti eljárásen estek át máj iszkémia nélkül, míg egy másik kontroll csoport (Álop. + GPC csoport, n = 6) az IR + GPC csoporttal megegyező időintervallumban GPC-t kapott.

A reperfúzió 60. percében az érintett májlebenyből vett májmintákból készült homogenátumokban vizsgáltuk a mitokondriális légzést, amihez SUIT és a Leak protokollokat alkalmaztunk.

3.2.1.3. A CH₄ kezelés hatása

Az állatokat véletlenszerűen a következő csoportok egyikébe vagy másikába soroltuk: az IR csoportban (n = 6) a mitokondriális légzési funkciókat vizsgáltuk 60 perces teljes iszkémia és 60 perces normoxiás levegővel történő reperfúzió hatására. A mitokondriális légzési alapváltozók meghatározásához kontroll szövetmintákat vettünk, majd a májartéria bal oldali ágainak és a kapuvéna bal oldali ágának elszorításával iszkémiát idéztünk elő a középső és a bal májlebenyben. Az iszkémia 55 percében májmintákat vettünk, hogy elemezzük a mitokondriális légzést az iszkémia hatására. Az érelzárások feloldását követően az érintett lebenyekből biopsziát vettünk a reperfúzió 5 percében, 30 és 60 percében. Az IR + CH₄ csoportban (n = 6) a protokoll azonos volt, és emellett a 2,2% CH₄-et (Linde Gas, Budapest, Magyarország) tartalmazó normoxiás mesterséges levegővel való inhalációt 50 perc iszkémia után kezdtük el, amely a reperfúziós időszak alatt végig folytatódott. Az Álop. csoportban az álműtött állatok (n = 6) ugyanezen a műtéti eljárásen estek át, de a máj iszkémia nem volt indukálva, és az állatok normoxiás levegőt inhaláltak, míg az Álop. + CH₄ csoportban az áloperált állatok (n = 6) szintén nem voltak kitéve máj iszkémiának, de CH₄-et inhaláltak az IR + CH₄ csoporttal azonos ideig.

3.2.2 Máj hideg iszkémia-reperfúziós károsodása

A májtranszplantáció preklinikai modelljében vizsgáltuk a hideg IR mitokondriális következményeit. A kísérleteket hím Sprague-Dawley patkányokból (265-325 g; Charles River, Budapest, Magyarország) eltávolított májakon végeztük, három csoportban. Ketaminnal (45,7 mg/kg i.p.) és xilazinnal (9,12 mg/kg i.p.) történt altatást követően eltávolított máj portális vénáját, a vena cava inferior superior ágát és a közös epevezetékét operációs mikroszkóp alatt kanüláltuk. A transzplantátumokat ex vivo szervperfúziós

rendszerrel (Central European Biosystem, FALC Instruments, Budapest, Magyarország) perfundáltuk a portális véna af-ferens ágán keresztül, míg a v. cava a rendszer efferens részeként szolgált. A meleg iszkémiás csoport (WI, n = 24) volt a kontrollcsoport, ahol a graftokat közvetlenül a kiemelés után perfundálták, anélkül, hogy hideg iszkémiának vetették volna alá őket. A hisztidin-triptofán-ketoglutarát (HTK) (n = 24) és a CH₄-nal dúsított HTK (HTK + CH₄, n = 24) csoportokban a graftokat HTK oldatban tároltuk 4 °C-on 24 órán keresztül. CH₄-gyel dúsított HTK előállításához kereskedelmi forgalomban kapható Custodiol-oldatot (Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Bensheim, Németország) 0,4 MPa nyomáson 4 órán keresztül tiszta CH₄-gyel (> 99,9%) telítettük nagynyomású edényben (Messer, Budapest, Magyarország), hogy 4 °C-on 6,57 ± 0,27 µmol/mL CH₄-t tartalmazó oldatot kapjunk.

A reperfúziót izolált patkánymáj perfúziós rendszerrel (IPRL) végeztük, a korábban részletesen leírtak szerint [168]. A graftokat 300 ml oxigénnel dúsított, módosított Krebs-Henseleit pufferrel perfundáltuk 37 °C-on 60 percen keresztül, 3 ml/g májtömeg/perc állandó áramlással, görgős szivattyú (Masterflex, L/S, Cole Parmer Instrument Company, Vernon Hills, Ill., USA) segítségével [169]

Mitokondriális funkciók meghatározására respirometriával a májmintákat a reperfúzió végén vettük, és homogenátumokat készítettünk respirációs médiumban (MiR05). Ezt követően a Leak protokollt alkalmaztunk. Meghatároztuk a RCR-t, (a mitokondrium kapcsoltsági hatékonyságát kifejező OxPhos/Leak arányt, amit légzéskontroll-aránynak is neveznek), ezen kívül meghatároztuk az extramitokondriális Ca²⁺ mozgásokat is. Továbbá a belső membrán sérülését 5 mM citokróm c, a belső mitokondriális membrán külső oldalához lazán kapcsolódó hemefehérje hozzáadásával határoztuk meg.

Hisztológia és immunhisztokémia

Az ER stressz marker SERCA2b (Endoplazmatikus Retikulum Ca²⁺-ATPáz) (#PA5-102354, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) kimutatása immunhisztokémiai festéssel történt, a korábban leírtak szerint [69].

3.2.3 Szív iszkémia-reperfúziós károsodása

3.2.3.1 *In vitro* kísérletek

Szívizomsejtek szimulált IR károsodása

Az első sorozatban újszülött (háromnapos) patkány szívizomsejteket (NRMC-k) 4 órás

szimulált iszkémiának (sI) tettünk ki. A sejteket hipoxiás kamrában tartottuk (37° C, 95% N₂ és 5% CO₂), és a táptalajt hipoxiás oldatra cseréltük (mM-ben: NaCl 119, KCl 5,4, MgSO₄ 1,3, NaH₂PO₄ 1,2, HEPES 5, MgCl₂ 0,5, CaCl₂ 0,9, Na-laktát 20; BSA 0,1%, 310 mOsm/l, pH = 6,4). Ezt követte egy 2 órás reperfúziós periódus (R) tápoldatban, amikor a sejteket vagy normoxikus körülmények között (37° C, mesterséges levegő), vagy CH₄-gyel kiegészített normoxikus levegőjű kamrában (37° C, 2,2% CH₄ + mesterséges levegő) tartottuk (sI/R, illetve sI/R + CH₄ csoportok). A kontrollcsoportokat 4 órán keresztül normoxikus inkubátorban tartottuk fiziológiás körülményeket fenntartva, amit 2 órás reperfúziós periódus követett a normoxikus inkubátorban CH₄-kiegészítéssel vagy anélkül (normoxia és normoxia + CH₄ csoportok). A végén az NRMC-ket HRR-el vizsgáltuk és sejtéletképességi vizsgálatoknak vetettük alá.

Izolált kardiális mitokondriumok anoxia-reoxigenizációs károsodása

A második sorozatban az izolált szív mitokondriumokat a következőképpen kezeltük: anoxiát 100%-os N₂ perszufflációval idéztünk elő 2 órán keresztül egy 2 ml térfogatú küvettába, amely 1 ml légzőközeget és 1 ml légteret tartalmazott. Az anoxiát reoxigenizációs periódus követte (95% levegő és 5% CO₂) 2,2% CH₄ kiegészítéssel vagy anélkül 30 percig (A/R, illetve A/R + CH₄ csoportok). A kontrollcsoportokban a mitokondriumokat normoxikus küvettákban tartottuk (95% levegő és 5% CO₂) 2,2% CH₄ kiegészítéssel vagy anélkül (normoxia és normoxia + CH₄ csoportok). Ezután a mitokondriumokat HRR-nek vetettük alá. A mitokondriális funkciókat respirometriás vizsgálata során az NRMC-k és az izolált szív mitokondriumok oxigénfogyasztását mértük különböző mitokondriális anyagsere-állapotokban, valamint meghatároztuk a mitokondriális H₂O₂ termelését és a mitokondriális membránpotenciál ($\Delta\Psi_m$) változását.

3.2.3.2 Szív hideg IR károsodása

Heterotróp szívtranszplantációs modellünkben izogén hím Lewis - Lewis patkányokon heterotóp (n=36) transzplantációt végeztünk a korábban leírtak szerint [170]. Röviden, a donorokból történő kivágás után a graftokat 60 percig transzplantációs oldatban hidegen tároltuk (hideg iszkémiás idő), amit heterotópikus transzplantáció és 60 perces reperfúziós periódus követett. A transzplantáció során a donorszív aortáját és tüdőartériáját mikrosebészeti technikával végről-oldalra anasztomosztizáltuk a recipiens patkány hasi aortájához, illetve a vena cava inferiorhoz. A reperfúzió végén *in situ* hemodinamikai

méréseket végeztek a recipiensben a korai graftfunkciók értékelésére; ezt követően biopsziákat vettünk a graftok bal kamrájából (LV) mitokondriális funkcionális mérések és biokémiai vizsgálatok céljából.

Az állatokat véletlenszerűen három csoportba osztottuk. Az 1. kontrollcsoportban (n=12) a donor patkányok ugyanezen a sebészeti eljáráson estek át az explantációig, de a szíveket nem vetettük alá hideg iszkémiának és tárolásnak, és nem transzplantáltuk őket. A 2. csoportban (n=12) az explantált transzplantátumokat a 60 perces hideg iszkémiás periódus alatt 4 °C-on, Custodiol (CS)-oldatban tároltuk, míg a 3. csoportban (n=12) a transzplantátumokat a 60 perces hideg iszkémiás periódus alatt CH₄-gyel dúsított CS-oldatban tároltuk (6,57±0,27 μmol/mL CH₄-t tartalmaz, ld. előző kísérlet). Ebben a csoportban a szív leállításához használt hideg kardioplegikus CS-oldatot is CH₄-gyel egészítették ki.

A mitokondriális légzést HRR-rel mértük, az I-es és II-es komplex működését a Leak protokollal és a citokróm c felszabadulásának mérésével vizsgáltuk.

A szívizomból az ER-stressz markerek mRNS-expresszióját kvantitatív valós idejű PCR (qPCR) (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) segítségével elemeztük a következő génekre vonatkozóan: (Ddit3, más néven CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) homológ fehérje), hipoxia-indukálható faktor 1-alfa (HIF1α), glikogén-szintáz kináz 3 béta (GSK3β) és nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein receptor (Vldlr).

Szövettani vizsgálatra és immunhisztokémiára a mintákat pufferelt paraformaldehid-oldatban (4%) rögzítettük és paraffinba ágyaztuk. 5 μm vastag metszeteket vágunk, majd hematoxilinnal és eozinnal (H&E) festettük. A szerkezeti károsodás értékelését egy korábban leírt szövettani pontozási rendszer szerint végeztük [171].

A SERCA a Ca²⁺-homeosztázis és a kontraktilitás fő szabályozója a szív- és vázizomzatban. Emellett az ER stresszválasz a SERCA izoformák, köztük a SERCA1 kifejeződését indukálhatja a posztischemiás szívben. Ebből kiindulva a SERCA1 expresszióját standard immunhisztokémiai festési technikával (anti-SERCA1 antitest, #S1189, Sigma-Aldrich, Budapest, Magyarország) detektáltuk a transzplantált patkányszív-graftok bal kamráiban. A SERCA1 immunreaktivitását nyílt forráskódú képalkotó szoftverrel (ImageJ 1.8 verzió, National Institutes of Health, Maryland, USA) határoztuk meg, és az immunpozitív sejtek százalékos arányában fejeztük ki, látómezőnként számszerűsítve [172].

3.3 Trauma és alkoholfogyasztás okozta stressz biomarkereinek diagnosztikája

A kilélegzett levegő CH_4 -koncentrációját nagy érzékenységű analitikai berendezéssel, fotoakusztikus spektroszkópia (PAS) segítségével mutattuk ki. A PAS a spektroszkópia egy speciális módja, amely az optikai abszorpciót közvetett módon, a CH_4 elnyelt fényenergia akusztikus hullámokká történő átalakítása révén méri. A keletkező hang amplitúdója egyenesen arányos az elnyelő gázkomponens koncentrációjával.

3.3.1 Kilélegzett CH_4 vizsgálata alkoholfogyasztás okozta stresszben

Egészséges, ismert alapbetegséggel nem rendelkező, 25 és 30 év közötti (átlagos súlyuk $82 \pm 13,1$ kg) férfiakat vontunk be a vizsgálatba. A résztvevők általános egészségügyi vizsgálaton estek át, és ismételt légzésanalízisen vettek részt (lásd később). Kizáró kritériumok voltak: a CH_4 -termelői státusz, a dohányzás, a rendszeres alkoholfogyasztás, a versenysport, valamint a máj- és cukorbetegség. A vizsgálatot megelőzően a résztvevőknek 3 napig nem volt megengedett az alkoholfogyasztás, és bevonáskor kilégzési etanolszint mérésen estek át.

A protokoll 1. napján kontroll légzési CH_4 -méréseket végeztünk, majd a résztvevők az alábbiakat fogyasztották el: 1,15 g/kg/nap alkoholtartalmú italt (200 ml whisky, 40 térfogat% etanol tartalom), amit este 6 és reggel 6 óra között megismételtek 4 egymást követő napon. A kilélegzett CH_4 méréseket minden nap előre meghatározott időpontban végeztük (reggel 8-9 óra között), éhgyomorral, az első étkezés előtt. A kilégzéses CH_4 -elemzést 31 nappal később megismételtük 3 egymást követő napon, amikor a résztvevők a mérések előtt legalább 3 napig nem fogyasztottak alkoholt.

A humán vizsgálatok során a kilélegzett levegő CH_4 koncentrációját PAS segítségével mértük a következőképpen: A résztvevőket arra kérték, hogy lélegezzenek normál módon, és a kilélegzett levegőt egy 200 cm^3 -es üvegbefecskendező edénybe irányították. Az optimális idő a stabil CH_4 koncentráció elérésére 1 és 3 perc között alakult ki, 30 cm^3 /perc áramlási sebességgel. A szobalevegő CH_4 szintjét meghatározták, és alapértékként használták az *in vivo* CH_4 kibocsátás számításaihoz. A CH_4 termelést Δppm -ben adták meg, ami a nettó kilélegzett CH_4 koncentrációra utal, ahol a környezeti levegő CH_4 koncentrációját levonták a kilélegzett CH_4 koncentrációból.

A kapcsolódó állatkísérleteket hím, nem- CH_4 -termelő (0,3 ppm-nél alacsonyabb kilélegzett CH_4 értékű) Sprague-Dawley patkányokon (190-300 g testtömeg) végeztük. 24 nem- CH_4 -termelő patkányt véletlenszerűen négy csoportra osztottunk. Az 1. csoport (n=6) nem kezelt

kontrollként szolgált, a 2. csoportban (n=6) az állatok a humán vizsgálatban alkalmazott 1,15 g/kg/nap alkoholt (40%-os whisky, 2,86 ml/kg/nap adag) kaptak, kiegészítve orális GPC étrenddel (0,8%-os GPC-vel dúsított táplálék, Ssnif Spezialdiäten GmbH, Soest, Németország), a 3. csoportban (n=6) az állatok napi 7,5 ml/kg/nap 40%-os etanol tartalmú oldatot kaptak 8 napon keresztül. Ez 2,7 g/kg/nap etanolbevitelnek felel meg, ami korábbi kísérletekben máj oxido-reduktív stresszt idézett elő patkányokban [175]. A 4. csoportban (n=6) ugyanezt az alkoholdózist kapták (7,5 ml/kg/nap), kiegészítve orális GPC étkezéssel 8 napon keresztül.

A patkányok egész testre vonatkozó CH₄ kibocsátását egy speciálisan kialakított zárt mintavételező kamrában mértük, melynek belső térfogata 2510 cm³ volt [173]. A kísérletek előtt meghatároztuk a kamrában lévő alap CH₄ koncentrációt, majd a patkányt a zárt kamrába helyeztük 10 percre. Az állatok egész testre vonatkozó CH₄ kibocsátását az alap CH₄ koncentráció és a 10 perces minta közötti különbség alapján számoltuk ki, és a testfelülethez ($F \text{ (dm}^2\text{)} = 10 \cdot S^{0.75} \text{ kg}$) viszonyítottuk.

A mitokondriális funkcionális mérésekhez 50 mg májszövetet 2 ml PBS-alapú homogenizáló pufferbe helyeztük, amely 0,25 M szacharózt, 10 mM Tris-t, 0,5 mM EDTA-t és 0,05%-os BSA-t tartalmazott. Ezt követően 50 µl szövet-homogenizátumot a HRR mérőkamrába helyeztünk, és a mitokondriális II-III-as állapotú (alaplégzés + OxPhos) légzési protokollt alkalmaztunk.

3.3.2 Vitális paraméterek és a szívfrekvencia prediktív értéke traumás sokkban

Retrospektív kohorszvizsgálatot végeztünk intézetünk I. szintű trauma központjában az ATLS-szerinti sokkosztályozásban használt VS-ek (HR, SBP, GCS a tudatállapot és BD a metabolikus állapot jellemzésére) mortalitás szempontjából prediktív értékének vizsgálatával. Az adatokat 2014. július 11. és 2019. szeptember 11. között gyűjtöttük a Szegedi Tudományegyetem elektronikus adatbázisából (MedSolution). Az intézményben a sürgősségi traumatológiai ellátás protokolljai, beleértve a masszív transzfúziós protokollokat is, a teljes vizsgálati időszak alatt megfelelték az ATLS elveinek.

A bevonási kritériumok közé tartozott a traumás team aktiválása, a helyszínről történő közvetlen szállítás, ≥ 16 éves életkor, részletes dokumentáció, beleértve a rövidített sérülési skálát (AIS=Abbreviated Injury Severity Score), a sérülés súlyossági pontszámát (ISS=Injury Severity Score), a sérülés pontos mechanizmusát és a megjelenéskor rögzített teljes HR, SBP,

GCS és BD adatsort. A fiziológiai változók tekintetében az első kórházi mérések értékeit vették figyelembe és jelentették.

Betegcsoportok

Az ATLS nem határozza meg kifejezetten, hogy a legrosszabb paraméter vagy az összes paraméter kombinációja határozza meg a beteg súlyossági osztályát. A legtöbb traumás beteget nem lehet helyesen besorolni az ATLS IV. súlyossági osztályába (I-IV), ha a vitális paraméterek kombinációját értékeli [121,132]. A résztvevők sokk osztályba történő beosztása ezért a legrosszabb paraméterük alapján történt. Mivel a jelenlegi ATLS sokkosztályozás nem írja le a HR, SBP és GCS pontos értékeit, a kritériumok objektívvá és átláthatóvá tétele érdekében a korábbi ATLS osztályozásból vettük át a HR értékeket, valamint a Dunham és munkatársai tanulmányából az SBP és GCS értékeket [176].

Kimeneti eredményként megvizsgáltuk az egyes paraméterek (HR, SBP, GCS és BD) prognosztikai potenciálját, hogy meg tudjuk határozni a legerősebb és leggyengébb előrejelző tényezőket a traumás súlyos sérültek kezdeti értékelése során.

A HR, mint prognosztikai faktor hatékonyságát szisztematikus áttekintés és meta-regresszió keretén belül külön is megvizsgáltuk, hogy frissítsük az ismereteket a szerepéről a trauma során fellépő vérzéses sokk kezdeti értékelésében, figyelembe véve a traumaellátásban az elmúlt évtizedekben bekövetkezett paradigmaváltásokat [177].

Részletes keresést végeztünk az EMBASE, a MEDLINE (PubMed-en keresztül), a Cochrane Kísérleti Vizsgálatok Központi Nyilvántartása (CENTRAL) és a Web of Science adatbázisokban 2020. szeptember 1-jén a következő keresési kifejezésekkel: “trauma” ÉS (“szívfrekvencia” VAGY “pulzusszám” VAGY “tachycardia” VAGY “bradycardia” VAGY “életjel” VAGY “életjelek” VAGY “életparaméter” VAGY “életparaméterek”) ÉS “halálozás” ÉS (“vérzés” VAGY “hemorrhagia” VAGY “hemorrhage” VAGY “hemodinamikai” VAGY “hemodynamic”). A 2010 előtt publikált cikkeket kizártuk a kutatásunkból.

Bevonási kritériumaink szerint a vérző traumás betegek adatait csak akkor vettük figyelembe a beválasztás során, ha tartalmazták a kezdeti szívfrekvencia (HR) értékeket – akár a helyszínen (prehospital, PH), akár a kórházi felvételnél (admission, AD) –, valamint a halálozási adatokat egy legfeljebb 30 napos időintervallumon belül a sérülés időpontjától számítva. Csak teljes szövegű közleményeket vettünk figyelembe. A nem angol nyelvű

közleményeket, szakirodalmi áttekintéseket, konferencia-összefoglalókat és alacsony esetszámú (<10) esetismertetéseket kizártuk. Figyelembe véve a traumaellátás elmúlt évtizedbeli fejlődését (például a tranexámsav (TXA) bevezetését és a folyadékreszuszcitációs szemléletváltást), kizártuk azokat a tanulmányokat is, amelyek 2010 előtt kezelt betegek adatait tartalmazták.[177].

Egy betegcsoportot akkor tekintettünk vérzőnek, ha az egyes vizsgálatok beválasztási kritériumai között szerepelt a vérkészítmények transfúziója és/vagy pozitív FAST és/vagy hemodinamikai instabilitás trauma után és/vagy hasi lött sérülés. A speciális populációk, például terhesek, gyermekek (<18 év) vagy geriátriai betegek (≥ 55 év) adatait nem vettük figyelembe. Kizártuk továbbá azokat a tanulmányokat, amelyek égési sérülést, traumás gerinc- vagy agysérülést elszenvedett betegekre vonatkoztak. A speciális populációk, valamint a gyermek- és időskorú betegek kizárásával célunk az volt, hogy csökkentsük a zavaró tényezők hatását. Mivel a traumát elszenvedett geriátriai betegek vizsgálataiban az életkori határértékek 55 és 80 év között változnak, és a szakirodalomban nincs egyértelmű konszenzus, úgy döntöttünk, hogy az 55 év feletti populációkat kizárjuk az életkorral összefüggő zavaró tényezők hatásának minimalizálása érdekében.

Közlemények kiválasztásához a duplikáltumokat és 2010 előtt megjelent cikkeket referencia menedzser szoftver (EndNote V.X7) segítségével eltávolítottuk. A fennmaradó közlemények cím és absztrakt alapján történő szűrését két szerző végezte. Ezt követően azon közlemények teljes szövegét értékeltük, amelyek megfeleltek az előzőekben ismertetett bevonási kritériumoknak. Az eltéréseket konszenzussal rendeztük.

A vizsgálatba bevont közleményekből a következő adatok kerültek kivonásra: cím, első szerző neve, publikálás éve, tanulmány típusa (prospektív vagy retrospektív), adatforrás (ország, kórházi adatbázis/regiszter), adatgyűjtési időszak, bevonási kritériumok, alcsoportok, az alcsoportok betegszáma, összes betegszám, HR (átlag $\pm$ SD vagy medián (IQR)), HR értékek rögzítésének fázisa (PH/AD), 30 napon belüli halálozás (n, %). Az átfedő adatokkal rendelkező tanulmányok esetén a kisebb mintával rendelkező, kevésbé átfogó jelentéseket kizártuk. A torzítás (bias) kockázatának értékelésére a Prognosztikai Tanulmányok Minősége (QUIPS) eszközt külön-külön alkalmazta két szerző [178]. Az eltéréseket konszenzussal rendeztük.

3.3.3 A kilelegzett CH₄ kimutatása traumával összefüggő vérzésben

Prospektív, obszervációs vizsgálatot végeztünk a Szegedi Tudományegyetem Traumatológiai Klinikáján (I. szintű trauma központ), amely a kilélegzett CH₄-koncentráció és a vérveszteség mennyiségének összefüggését vizsgálta. A kutatás a ClinicalTrials.gov oldalon NCT04987411 azonosítóval regisztrált, részletes protokollját közzétettük [83]. A vizsgálatba 18 évesnél idősebb, súlyosan sérült (ISS ≥ 16), a helyszínen vagy közvetlenül érkezéskor intubált betegeket vontunk be. Egy beteg esetében, akinek átható sérülése miatt a végső analízisbe nem került bevonásra, a prospektív vizsgálat módszertanával 4 órán keresztül folyamatos monitorozást végeztünk. Az érintett beteg egy 45 éves férfi volt, aki 2021 októberében egy frontális motorbalesetet követően érkezett helikopteres sürgősségi mentőszolgálatral a Szegedi Tudományegyetem Damage Control műtőjébe. A beteg több súlyos sérülést szenvedett, köztük a bal alsó végtag részleges amputációját. A helyszíni ellátás során súlyos vérzés, hemodinamikai instabilitás és 3-as GCS pontszám került megállapításra. Elsődleges ellátásként intravénás folyadékot, epinefrint, tranexámsavat és fibrinogént kapott, valamint endotracheális intubációt, bilaterális thoracosztómiát és vérzéscsillapító tourniquet-et alkalmaztak.

A Damage Control műtőbe érkezéskor vérnyomása 74/36 mmHg, szívfrekvenciája 76 bpm volt. A trauma team azonnali hemodinamikai monitorozást és noradrenalin-infúziót kezdett. FAST ultrahang negatív eredményt mutatott, míg a teljes test CT-vizsgálat a következő sérüléseket mutatta.

Érkezés után folyadék-reszuszcitációt kezdtek 1000 ml Gelofusine, 500 ml Ringer-laktát és 1000 ml Isolyte-al, és elindították a masszív vértranszfúziós protokollt (MBT). A MBT-t az ATLS szerint úgy definiáltuk, mint 10 egységnél több vörösvérsejt-koncentrátumot a felvételt követő első 24 órában, vagy 4 egységnél több vvt transzfúziót 1 óra alatt. A beteg vérképtékei kritikus állapotot jeleztek (Hb < 4 g/dl, Htc 11,8%). Összesen 6 egység vörösvérsejt-koncentrátumot, 6 egység friss fagyasztott plazmát (FFP) és 6 egység trombocitát kapott, kiegészítve 3 g fibrinogénnel és 1000 IU protrombin komplex koncentrátummal. A hipotensio elkerülésére folyamatos epinefrin adás történt. A bal alsó végtag amputációját sebészileg fejezték be, majd az intenzív osztályra helyezték.

A kilélegzett CH₄-szint mérése

A hagyományos diagnosztikai eszközök (VS, laboratóriumi vizsgálatok, vérgázelemzések, szonográfia, CT-képalkotás) mellett az ellátás első 4 órájában folyamatosan mértük a beteg

kilélegzett CH₄-koncentrációját. A humán vizsgálataink során már használt, közeli infravörös lézertechnikán alapuló PAS-készüléket csatlakoztattuk a lélegeztetőgép kilégzési nyílásához, lehetővé téve ezzel a kilélegzett CH₄ folyamatos nyomon követését[179]. A háttérlevegő CH₄-koncentrációját ugyanezzel a technikával mértük.

3.3.4 Mitokondriális diszfunkció trauma-indukált koagulopátiában

A Szegedi Tudományegyetem Traumatológiai Klinikáján (I. szintű trauma központ) prospektív, obszervációs vizsgálatot végeztünk, amelynek célja a TIC során előforduló trombocita mitokondriális diszfunkció vizsgálata volt súlyosan sérült betegek körében. A kutatás regisztrációja a ClinicalTrials.gov oldalon NCT05004844 azonosítószámmal megtörtént, részletes protokollját pedig munkacsoportunk publikálta [116].

A vizsgálat a Szegedi Tudományegyetem Sürgősségi Osztályára 2021. szeptember 1. és 2023. november 30. között, traumás anamnézissel közvetlenül szállított, ≥ 18 éves, CT-vizsgálattal igazolt vérző, súlyosan sérült (ISS ≥ 16) betegek bevonásával zajlott. A ciklooxygenáz-1 vagy adenosin-difoszfát (ADP) receptor (P2Y₁₂) gátlót (aszpirin, klopido-grél, prasugrel és ticagrelor) tartalmazó orális trombocita-gátló szereket szedő betegeket kizártuk a végső elemzésből.

A résztvevők demográfiai adatait és társbetegségeit ideális esetben a felvételnél dokumentáltuk. A beteg megérkezésekor hagyományos laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk, beleértve a Hb, Ht, trombocitaszám, aktivált parciális tromboplastin idő (aPTT), protrombin idő (PT) és nemzetközi normalizált arány (INR) vizsgálatát. A belső vérzések kimutatására kiterjesztett fókuszált ultrahangos vizsgálatot traumában (eFAST) és CT-vizsgálatot használtunk. Viszkoelasztikus vizsgálatokat (ClotPro, Enicor GmbH, Munich, Germany) és aggregometriát végzünk a koagulopátia értékelésére. Az MBT-t és a 24 órás mortalitást dokumentáltuk.

A viszkoelasztometriai vizsgálatokhoz a vénás vért 3,2%-os pufferelt nátrium-citrát csövekbe gyűjtötték, és 30 percen belül egy új generációs ClotPro viszkoelasztometriai analizátorral (Enicor GmbH, München, Németország) elemeztük az EX-teszt és a FIB-teszt (standard ClotPro vizsgálatok) segítségével a gyártó utasításainak megfelelően. Az EX-tesztben (extrinsically activated test) az extrinsic koagulációs útvonalat vizsgáltuk, amelyet szöveti faktorral aktiválunk és CaCl₂-vel realkalinalunk. A fibrinogénszintet és a fibrin-polimerizációt FIB-teszttel (fibrinogen assay) is nyomon követtük, amely az extrinsic koagulációs útvonalat

a trombociták citokalazin D-vel, egy glikoprotein IIb-IIIa antagonistával történő gátlásával ábrázolja. A ClotPro által szolgáltatott numerikus paraméterek közé tartozott a véralvadási idő (CT, clotting time), a maximális alvadésszilárdság (MCF) és a maximális lízis (ML).

Aggregációs vizsgálatokhoz multiplate impedancia aggregométert (Multiplate 5.0 Analyzer, Roche, Magyarország) használtunk, amely kvantitatív és kvalitatív információt szolgáltat a trombocita funkcióról antikoagulált teljes vérmintákban. A vizsgálatokat 300 ml teljes vér 300 ml 0,9%-os nátrium-kloriddal történő 3 perces inkubálásával indítottuk el. Ezután 20 µl adenzin-difoszfát (ADP, 6,5 µM) vagy arachidonsav (ASPI, 0,5 mM) hozzáadásával vizsgálták a trombociták aggregációját, míg a nátrium-klorid (NaCl) kontrollként szolgált. A thrombocytáaggregációt AU-ban (aggregációs egységekben) mértük, és értékét a görbe alatti terület (AUC) adja meg, amelyet az aggregációs görbe magassága és meredeksége határoz meg [180]

A trombocita mitokondriumok funkcionális méréséhez HRR-el a trombocitákat közvetlenül a beteg érkezésekor vett 4x6 ml-es csövekbe gyűjtött nátrium-citrátos vénás vérmintákból izoláltuk. A vérmintákat először 4 °C-on 15 percig 300 g-vel centrifugáltuk, majd az így kapott trombocitákban gazdag plazmát (PRP) 5 percig 4600 g-vel újra centrifugáltuk. A felülúszót 200 µl MIR05 respirációs médiummal helyettesítettük [181]. Ezt követően 50-50 µl trombocita szuszpenziót a HRR kamráiba mérve egy korábbi kísérletünk során felállított permeabilizációs titrálási protokollt alkalmaztunk, hogy megállapítsuk a mérések során alkalmazott digitonin koncentrációját [69]. A trombociták permeabilizálását követően a mitokondriális légzés hatékonyságát HRR-el vizsgáltuk korábbi kísérletünkben már alkalmazott kapcsoltsági protokoll szerint [182]. Vizsgáltuk továbbá a trombocita mitokondriumok H₂O₂ termelését [182], a $\Delta\Psi_m$ változását, valamint az extramitokondriális Ca²⁺ mozgást, szintén korábbi kísérleteinkben felállított protokollal [183].

4 EREDMÉNYEK

4.1 Mikrokeringés változása gyulladásos modellekben

4.1.1. Szinovialis mikrokeringés akut artritiszben.

Az ízületi gyulladás mikrokeringési következményeit a PMN-endoteliális kölcsönhatások (gördülés és kitapadás) számszerűsítésével határoztuk meg a szinovialis membrán posztkapilláris vénáiban. Kezelésként az ismert nem-szteroid gyulladáscsökkentő diklofenákot alkalmaztuk különböző beviteli formában. A PMN-ek gördülő frakciója a posztkapilláris szinovialis venulákban megnőtt az artritiszes térdekben, de nagyfokú szórást mutatott, és nem volt megfigyelhető különbség a C/K- és a kontralateralis fiziológiás sóoldattal injektált térdek között a kezelési protokollokban részt vevő csoportok között. A C/K injekciózást azonban a PMN-ek endotél réteghez való tapadásának (kitapadás) statisztikailag szignifikáns növekedése kísérte a kontralateralis oldalhoz képest minden csoportban. Ez a reakció jelentősen csökkent az EP-val felerősített diklofenák-hidrogél és a topikális hidrogél egyszerű helyi alkalmazására adott válaszreakcióban.

4.1.2. Bőr mikrokeringése bőrirritációban és sebgyógyulásban

4.1.2.1 A háti bőrredő kamra beültetése, penetrációs modell kialakítása

A mikrokeringést a bőrredő nem sérült (ép, teljes vastag bőrfelület) és sérült oldalán is megvizsgáltuk IVM-el. Az előbbi helyen a dermisz dermoepidermális vonalhoz közeli ereit lehetett láthatóvá tenni, míg az utóbbi helyen a bőr alatti harántcsíkolt izomréteg mikrokeringését lehetett vizsgálni. Az RBCV értékei (átlag $\pm$ SD) a következők voltak: 502 ± 204 $\mu\text{m/s}$ ép bőrön és 595 ± 266 $\mu\text{m/s}$ a bőrseb felől. A statisztikai elemzés nem mutatott szignifikáns különbséget az oldalak között. Az adatok azonban nagy szórást mutattak: az ép bőr esetében a minimális és maximális értékek 178 és 957 $\mu\text{m/s}$, míg a bőrseb oldalán 225 és 1061 $\mu\text{m/s}$ között mozogtak. A másik vizsgált paraméter a PR volt. Mindkét oldalon magas PR-értékeket mértek (ép bőr: $91,41 \pm 2,24$; bőrseb: $91,34 \pm 4,08$), és az oldalak között nem volt szignifikáns különbség.

4.1.2.2 Bőr mikrokeringése bőrirritációban

Az SLS által kiváltott bőrirritációs modellben a kontrollcsoport kapillárisaiban az RBCV medián értéke 663 $\mu\text{m/s}$ volt. Az SLS okozta gyulladás jelentősen fokozta a helyi véráramlást. Hasonlóan magas RBCV-értékeket mértünk a 3. csoportban is, amelyet 5%-os glicerinnel kezeltünk. Ezzel szemben a 10%-os glicerinnel és a xilit mindkét alkalmazott koncentrációban

hatékonyan megakadályozta az RBCV emelkedését. A leukocita-endotél interakciók mennyiségét tekintve a kontrollcsoportban viszonylag kevés kitapadt leukocitát észleltünk. Az SLS-kezelt csoportot szignifikánsan több leukocita-endotél interakció jellemzi. Bár az 5%-os glicerín csökkentette a leukociták tapadását az SLS-sel kezelt csoporthoz képest, a kölcsönhatások száma magasabb volt, mint a kontrollcsoportban. A 8,26%-os és 16,52%-os xilit, valamint a 10%-os glicerín hatékonyan akadályozta meg a leukocita-endotél interakciókat: a tapadó leukociták száma ezekben a csoportokban nem különbözött szignifikánsan a kontrollcsoportétól.

4.1.2.3 Bőr mikrokeringése sebgyógyulásban

A seb területének digitális képeken végzett planimetrikus elemzése folyamatos növekedést mutatott a hámosodásban, a 4. napon körülbelül 20%-os sebfedettséggel, a 8. napon 50%-kal, a 12. napon pedig 80%-kal a DA-val kezelt csoportban. A kísérlet végén, a 20. napon a Ca^{2+} -antagonistával kezelt sebek mindegyike teljes sebzáródást ért el, míg a 4 CMC-vel kezelt állatoké nem.

Az IVM-videófelvételek elemzése kimutatta, hogy az érátmérők nem változtak a 4-CMC és a kontrollcsoportban a megfigyelési időszak alatt, míg a Ca^{2+} -csatorna-antagonista a 4. napon 25%-kal növelte az érátmérőket a kontrollcsoportéhoz képest. Ez a jelentős különbség a 8. napon (17%) és a 12. napon (22%) is megfigyelhető volt.

Az is kiderült, hogy az RyR-ok gátlása a mérések minden időpontjában kb. 25%-kal növelte a vörösvértestek sebességét a kapillárisokban, míg a 4-CMC és a kontrollcsoport között nem volt különbség.

A lézer-Doppler-áramlásmérés eredményei megerősítették az IVM-ből nyert adatokat. Az áramlási görbék a véráramlás konzisztens, szignifikáns növekedését mutatták a kiindulási szintről a kezelés utáni szintre, átlagosan 15-szörös növekedéssel a DA-val kezelt csoportban. Az MPO-aktivitást, a gyulladásos sejtek felhalmozódásának általánosan használt indexét a sebgyógyulás gyulladásos fázisában, a sebzés utáni első és negyedik napon mértük. Eredményeink szerint nem találtunk szignifikáns különbséget a csoportok között (az adatok nem láthatóak). Ezzel szemben a ROS-termelés kritikus forrását jelentő XOR-aktivitás jelentős csökkenését figyeltük meg a DA-val kezelt csoportban az első és a negyedik napon a kontrollcsoportéhoz képest, míg a 4-CMC nem változtatta meg az enzimaktivitást.

4.1.3 Bőr mikrokeringése szövetbarát implantátum közelében

Az LDF-el a helyi hőprovokációval kombinálva a bőr mikrocirkulációjának provokáció utáni tartalékkapacitás-funkcióját becsültük meg betegenként. Az eredeti regisztrátumon látható, hogy izoterm körülmények között az alapvonal véráramlás minden beültetett csoportban stabil maradt (az átlagok 63 és 65 PU között változtak). A jellegzetes áramlási görbék azonban a véráramlásnak a kiindulási szintről a hőprovokáció utáni szintre történő következetes, szignifikáns növekedését mutatták minden csoportban.

4.1.4 A perioszteum és endoszteum keringése kiterjedt oszteosztézist követően

A kontralaterális, nem operált végtaghoz képest a reoperált tibia perioszteumában lényegesen alacsonyabb perioszteális áramlás értékeket mértünk (átlagosan 106 PU, illetve 76PU). Az endoszteum közelében nagymértékben alacsonyabb perfúzió volt megfigyelhető; a nem operált tibiában azonban átlagosan 30 PU endoszteális perfúziót találtunk. A reoperált tibia endoszteális régiójában még alacsonyabb perfúziós szintet mértünk (átlagosan 9 PU), még a jellegzetesen jó jelminőség mellett is.

4.1.5 A távoli iszkémiás prekondicionálás és a L- α -glicerilfoszforilkolin hatása a máj iszkémia-reperfúziós mikrokeringésére

4.1.5.1 A távoli iszkémiás prekondicionálás mikrokeringési hatása

O₂C mérések

A mérések során a mikrohemodinamikai paraméterek, a kapilláris véráramlás, RBCV, SO₂ és rHb-tartalom egyidejű meghatározása történt a bal májleányban. A 60 perces iszkémiát követő reperfúzió nem járt a májon belüli véráramlás szignifikáns változásával az Áloperált csoporthoz képest. Ha azonban az IR-t távoli IPC előzte meg, akkor a posztischemiás máj véráramlás szignifikánsan magasabb volt, mint az iszkémiát megelőző értékek az egész vizsgálati időszakban. Az IR csoportban a RBCV szignifikánsan alacsonyabb volt a reperfúzió során az iszkémiát megelőző értékekhez képest, és a vizsgálati időszak alatt nem volt megfigyelhető helyreállítás. A távoli IPC azonban visszafordította az RBCV-változásokat a Áloperált csoportban mért szintre. Összességében a 60 perces részleges iszkémia által okozott áramlási és sebességváltozások a szöveti SO₂ és rHb szintek romlásában nyilvánultak meg, amelyeket a távoli IPC protokoll helyreállított.

IVM mérések

A szelektinmolekulák hiánya miatt a posztiszinusoidális endotéliumban a „klasszikus gördülés” nem volt megfigyelhető, azonban a gördülési jelenséget mutató PMN-ek száma továbbra is meghatározható volt a centrális vénákban. Máj-IR esetén a gördülő leukociták száma körülbelül négyszeresére növekedett az áloperált állatokhoz képest. Ezzel összhangban a tapadó sejtek száma is jelentősen emelkedett a máj-IR-re adott válaszként. A távoli IPC mindkét sejt-sejt kölcsönhatás tekintetében jelentős javulást eredményezett.

NOX2 és NOX4 fehérje expresszió

A NOX2 és NOX4 fehérjék Western blot analízise jelentős növekedést mutatott a részleges máj IR után az Áloperált állatokhoz képest. A távoli IPC alkalmazása az IR előtt szignifikánsan csökkentette az NOX2 expresszióját, de nem befolyásolta az NOX4 expressziójának szintjét. A következtetés tehát az, hogy az IR szignifikánsan növeli a NOX2 expresszióját, viszont az IPC hatékonyan csökkenti a fehérje szintjét, ami arra utal, hogy az IPC védőhatást fejt ki a NOX2 okozta oxidatív stressz ellen. A NOX4-nél ez a hatás nem figyelhető meg, így valószínűleg más mechanizmussal okoz oxidatív stresszt.

4.1.5.2 GPC hatása a máj mikrokeringésre iszkémia-reperfúzióban

A máj mikrocirkulációjának átfogó értékeléséhez a szöveti véráramlást, a RBCV-t és a SO₂-t a bal májlebenyben egyszerre vizsgáltuk. A 60 perces iszchémiát követő reperfúziós fázis (IR + vivőanyag csoport) nem járt együtt a máj kapilláris véráramlásának szignifikáns változásával az Áloperált (Álop + vivőanyag) csoporthoz képest, míg a kapilláris véráramlás a reperfúzió 120 és 180 percében szignifikánsan alacsonyabb volt a kiindulási értéknél, amikor a GPC-t 5 perccel az iszchémiás periódus vége előtt adtuk be (IR + GPC csoport). Az IR + vivőanyag csoportban az RBCV szignifikánsan alacsonyabb volt az iszchémiát megelőző értékhez képest a reperfúzió 60 és 120 percében, és jelentősen különbözött a vizsgált időszak 60 percében mért értéktől az Áloperált csoportban mért értéktől. A GPC szignifikáns növekedést eredményezett 120 és 180 percben az áloperált csoportban mért szintekhez képest. Összességében a 60 perces részleges iszkémia által okozott áramlási és sebességváltozások a szöveti oxigénszaturáció romlásában nyilvánultak meg a vizsgálati időszak alatt (IR + vivőanyag csoport), amit a GPC adása teljesen megakadályozott (IR + GPC csoport).

NOX2 és NOX4 fehérje expresszió

A reperfúziós periódus végén mind a NOX2, mind a NOX4 fehérje expressziója emelkedett

a májszövetben. Amikor a GPC-t 5 perccel az iszkémiás periódus vége előtt adtuk be (IR + GPC csoport), az NOX4 expressziója csökkent, míg a NOX2 szintjében nem észleltünk változást.

4.2 Mitokondriális diszfunkció

4.2.1 Mitokondriális diszfunkció máj meleg iszkémia-reperfúziós károsodásában

Az iszkémia/reperfúzió hatására jelentősen csökkent a légzési lánc kapacitása vagyis az elektron transzport hatékonysága, valamint szignifikánsan alacsonyabb OxPhos kapacitást észleltünk a kontroll csoporthoz képest ($12,7 \pm 6,2$ pmol/ml/sec-ról $8,6 \pm 2,8$ pmol/ml/sec-ra csökkent). A mitokondriumok kapcsoltsága romlott ($14,9 \pm 65,9$ pmol/ml/sec-ról $9,2 \pm 3,09$ pmol/ml/sec-ra), ami megnövekedett ROS termelésre és membrán károsodására utal. A légzési komplexek szelektív vizsgálatával az iszkémia/reperfúzió alatt kialakuló elektron transzportlánc zavara mögötti oki tényezőként, az I-es komplex kiemelt szerepe igazolódott, a respiráció ($7,77 \pm 2,39$ pmol/ml/sec-ról $4,9 \pm 2,05$ pmol/ml/sec-ra) csökkent a kontrollhoz képest.

4.2.1.1 GPC kezelés hatása a máj iszkémia-reperfúziós károsodására

4.2.1.1.1 GPC mitokondriális hatásának dózis függése

In vitro kísérleteket végeztünk annak érdekében, hogy elemezzük a GPC dózis-válasz hatását a mitokondriumainak légzési aktivitására. NRMC mitokondriumokon a GPC dózisfüggő módon fokozta a mitokondriális légzést. A mitokondriumok komplex II-hez kötött OxPhos kapacitása szignifikánsan megnőtt, amikor $100 \mu\text{M}$ GPC-t alkalmaztunk a respirometriát megelőzően a kezeletlen kontrollhoz képest. Emiatt a patkánymáj mitokondriumain egy nagyságrenddel kisebb (nM-os) és nagyobb (mM-os) koncentrációtartományban vizsgáltuk a GPC hatását normoxiás és anoxiás körülmények között. A GPC fokozta a mitokondriumok oxigénfogyasztását az 5-200 mM koncentrációtartományokban. A mitokondriumok ETC és OxPhos kapacitását szignifikánsan növelte, amikor a GPC-t 200 mM koncentrációban alkalmaztuk. Ezenkívül a GPC jelentősen mérsékelte a 30 perces anoxia káros hatásait az izolált mitokondriumok oxigénfogyasztására.

4.2.1.1.2 GPC kezelés *in vivo* hatása

A GPC IR által kiváltott mitokondriális diszfunkcióra gyakorolt hatását a SUIIT és Leak protokollal vizsgáltuk. A III. állapotú oxigénfogyasztás szignifikánsan alacsonyabb volt az IR-ben, mint az áloperált állatokban. Emellett a maximális légzési kapacitás is szignifikánsan

alacsonyabb volt az IR stresszre adott válaszként. Ezzel szemben a GPC-vel történő kezelés fokozta az oxigénfogyasztás hatékonyságát. Ezek a hatások alapvetően az I. komplexhez, nem pedig a II. komplexhez kapcsolódtak, amint azt a komplex I. inhibitor beadását követő nagymértékű csökkenés is jelezte. A Leak protokoll az IR-sérülésre válaszul a IV. állapotú oxigénfogyasztás jelentős csökkenését mutatta az áloperált állatokhoz képest. GPC beadása visszaállította az oxigénfogyasztás szintjét az álműtött állatokéra.

4.2.1.2 A CH₄ kezelés hatása

A mitokondriális légzési lánc hatékonyságát a CH₄-kezelésre adott válaszként májhomogenizátumokból származó alapprotokoll segítségével értékeltük. A komplex II-hez kötött légzési fluxus értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint az Álop. állatoké az iszkémia 55. percében és a reperfúzió 60. percében. Az IR által lecsökkent bazális fluxus a CH₄ kezelés hatására megfordult. Érdekes módon a CH₄-kezelés önmagában is (Álop. + CH₄) növelte az alap oxigénfogyasztást a megfigyelési időszakban.

Az Áloperált csoporttal összehasonlítva az IR a mitokondriumok alacsonyabb OxPhos kapacitását (komplex II-kapcsolt III. állapotú légzés) eredményezte a vizsgálati periódus során. Ha azonban CH₄-inhalációt alkalmaztunk, a légzési kapacitás az iszkémia 55. percében és a reperfúzió 30. percében is megmaradt.

A citokróm c hem-csoportja elektronokat továbbít a III-as komplexről a IV-es komplexre, a citoplazmába történő felszabadulása az apoptózissal hozható összefüggésbe. Az IR következményeként a belső mitokondriális membrán külső oldalához lazán kapcsolódó citokróm c enzim leválik, amit HRR során vizsgálhatunk exogén enzimmel történő pótlással. Meghatározható az úgynevezett citokróm c kontrollhatékonyság, ami membránkárosodás esetén az exogén enzim hatására az oxigénfogyasztás növekedését jelzi, amit a CH₄ kezelés visszaállított az alapszintre. A mitokondriális citokróm c oxidáz aktivitása szintén a mitokondriális membrán károsodásának indikátora, amit spektrofotometriás analízissel határoztunk meg. Az Áloperált állatokban a citokróm c szint minimálisan emelkedett az alapvonalhoz képest a kísérleti protokoll alatt. Az Álop. + CH₄ csoportban az enzimaktivitás csökkent a CH₄ inhaláció hatására. Ezzel szemben az IR csoport szignifikánsan magasabb citokróm-c-oxidáz aktivitást mutatott a reperfúziós periódus alatt, ami a funkcionális állapot jele. Az IR + CH₄ csoportban a citokróm c aktivitás nem nőtt az IR által kiváltott károsodás hatására.

4.2.2 Máj hideg iszkémia-reperfúzió mitokondriális hatása

A mitokondriális légzési funkciók változásait glutamát és malát vagy szukcinát jelenlétében értékeltük, hogy különbséget tegyünk az I-es és a II-es komplexen alapuló aktivitás között. A hidegen iszkémián átesett csoportok szignifikánsan csökkent komplex I aktivitást ($19,6 \pm 11,7$ pmol/s/ml a HTK-ban és $22,0 \pm 10,9$ pmol/s/ml a HTK + CH₄-ben) és csökkent OxPhos-t mutattak ($128,8 \pm 31,5$ pmol/s/ml a HTK-ban és $201,3 \pm 54,8$ pmol/s/ml a HTK + CH₄-ben) telítő koncentrációjú ADP jelenlétében a kontrollcsoporthoz képest (WI; $26,7 \pm 7,6$ pmol/s/ml és $280,2 \pm 64,5$ pmol/s/ml). A komplex I aktivitás csökkenése és az ehhez kapcsolódó OxPhos szignifikánsan nagyobb volt a HTK-graftok hepatikus mitokondriumaiiban, mint a HTK + CH₄-konzervált graftokéban. A komplex II szubsztrát szukcinát jelenlétében azonban a máj mitokondriumok hasonló légzési aktivitást mutattak minden vizsgálati csoportban ($65,9 \pm 16,2$ pmol/s/ml a kontrollban, $55,5 \pm 24,6$ pmol/s/ml a HTK-ban és $59,8 \pm 7,6$ pmol/s/ml a HTK + CH₄-ben). Az ETC csatolásában bekövetkező változások számszerűsítésére kiszámítottuk az RCR-t, amelyet az OxPhos/oligomicin leak arányként fejezünk ki. A WI csoporttal összehasonlítva az RCR a HTK csoportban az ETC jelentős károsodását jelezte ($1,4 \pm 0,2$). A HTK + CH₄ és a WI csoportok között azonban nem találtunk szignifikáns különbséget a mitokondriumok kapcsoltági arányában ($2,7 \pm 0,6$ és $4,9 \pm 0,6$).

A hideg iszkémia okozta endogén Ca²⁺-felszabadulást először a minták alapszintű Ca²⁺-áramlásaként értékeltük. A HTK csoportban a CaGreen-5N fluoreszcens intenzitás szignifikáns növekedést mutatott ($1,9 \pm 0,1$ mV/s) a kontrollcsoporthoz (WI; $1,3 \pm 0,04$ mV/s, illetve $1,4 \pm 0,1$ mV/s) képest. A HTK + CH₄ csoportban CH₄ adalék hozzáadása a tartósító oldathoz a fluoreszcencia intenzitásának jelentős csökkenését eredményezte. Ezt követően az exogén Ca²⁺ által kiváltott Ca²⁺ fluxust vizsgáltuk telítődő mennyiségű CaCl₂ hozzáadásával, így indukálva az mPTP nyitást. Az elhúzódó hideg iszkémia eredményeként a HTK csoport mitokondriumai kevésbé reagáltak a fluoroforra az exogén Ca²⁺-ra ($2,3 \pm 0,09$ mV/s), mint a WI csoport hepatikus mitokondriumai ($3,8 \pm 0,2$ mV/s). A HTK + CH₄ csoportban szignifikánsan magasabb Ca²⁺ fluxust észleltünk ($2,9 \pm 0,1$ mV/s) a CH₄ kiegészítés hatására. A máj morfológiai vizsgálata életképes hepatocitákat mutatott a kontrollcsoportban (WI). A HTK csoport esetében a májsejtek károsodása kifejezettebb volt. A HTK + CH₄ csoport esetében a károsodás mértéke szintén emelkedett, bár kisebb mértékben, mint a HTK

csoportban, ami fokozott szöveti védelmet jelez. Az endotélkárosodás minden csoportban megtalálható volt, különösen a nagy erekben. Figyelemre méltó, hogy a HTK csoportban a kis erekben endotél leválást is mutattak. A SERCA2b immunreaktív hepatociták száma jelentősen csökkent a HTK-tartalmú graftokból származó metszetekben a kontrollokhoz (a WI csoporthoz) képest. Ezzel szemben a HTK + CH₄ csoportban az immunreaktív sejtek száma jelentősen megnőtt.

4.2.3 Iszkémia-reperfúzió szívmitokondriumokra gyakorolt hatása

4.2.3.1 Szív meleg iszkémia-reperfúziós károsodása

***In vitro* eredmények**

NRMC-k szimulált iszkémia-reperfúziós károsodása

A CH₄ hatását az NRMC-k mitokondriális funkcióira kapcsolási kontroll protokollal vizsgáltuk, mely lehetőséget biztosít a mitokondriumok Leak respirációjának elemzésére. Ennek eredményeképpen a sI/R csoportban szignifikánsan alacsonyabb OxPhos-t mértünk a normoxia csoporthoz képest ($19,17 \pm 9,37$ pmol/s*ml vs. $50,51 \pm 12,87$ pmol/s*ml; $P < 0,001$). A CH₄-kezelés az sI/R + CH₄ csoportban jelentősen növelte az oxigénfogyasztást ($40,88 \pm 15,08$ pmol/s*ml-re; $P = 0,004$). A Leak légzés csökkent az sI/R alatt ($13,54 \pm 2,66$ pmol/s*ml; $P < 0,001$); ez azonban javult a CH₄ adagolás eredményeként az sI/R + CH₄ csoportban ($19,94 \pm 3,15$ pmol/s*ml; $P < 0,001$). Az sI/R szignifikánsan csökkentette a maximális légzési kapacitást a normoxikus csoporthoz képest ($17,35 \pm 4,46$ pmol/s*ml vs. $35,72 \pm 6,55$ pmol/s*ml; $P < 0,001$). A CH₄-kezelés nem volt hatással a maximális légzési kapacitásra sI/R alatt ($18,41 \pm 2,99$ pmol/s*ml; $P = 0,986$) (39A. ábra). A különböző állapotokban mért fluxusértékeket korrigáltuk a ROX-ra (az adatok nem láthatóak). Az I/R csoportban a mitokondriális H₂O₂-szintek szignifikánsan emelkedtek a normoxiás csoporthoz képest. A CH₄-nal való inkubáció a reperfúzió alatt csökkentette a H₂O₂-termelés mennyiségét. A szabadgyök-szivárgás megnövekedett a sI/R csoportban; ez az emelkedés azonban a CH₄ beadása következtében javult a sI/R + CH₄ csoportban ($8,74 \pm 3,85$ vs. $4,09 \pm 1,57$; $P < 0,05$). A CH₄ inkubáció nem volt hatással a szabadgyök-szivárgásra a normoxia + CH₄ csoportban a normoxia csoporthoz képest ($3,97 \pm 2,80$ vs. $2,91 \pm 0,64$; $P < 0,05$).

Izolált szív mitokondriumok anoxia-reoxigenizációs károsodása

Az izolált patkány szív mitokondriumok anoxia-reoxigenizációra adott válaszát és a CH₄ hatását vizsgáltuk. A $\Delta\Psi_m$ változásait a potenciálérzékeny fluorofór, a Safranin O

segítségével jellemeztük. A légzőkomplexek szubsztrátjai normoxikus körülmények között jelentős hiperpolarizációt indukáltak a mitokondriális membránban. Ezzel szemben a hiperpolarizáció megszűnt az A/R-csoportban. A $\Delta\Psi_m$ szubsztrát által kiváltott változásait a CH_4 -kezelés részben konzerválta. Az anoxiás periódus alatt alkalmazott CH_4 csökkentette a H_2O_2 -termelés mennyiségét. Az oxigénfogyasztás szempontjából külön vizsgáltuk a komplex I-hez és a komplex II-hez kötött légzést. A CH_4 jelentősen csökkentette az I-es komplex oxigénfogyasztását, míg a II-es komplexhez kötött légzésre normoxikus körülmények között nem volt hatása. Ezzel ellentétben a CH_4 -kezelés az A/R+ CH_4 csoportban szignifikánsan csökkentette a komplex II oxigénfogyasztását, szemben a komplex I-vel.

4.2.3.2 Szív hideg iszkémia-reperfúziós károsodása

A komplex II-höz kötött alaplégzés szignifikánsan magasabb volt a CS - CH_4 graftokban, mint a CS csoportban 60 perccel a reperfúzió után (az adatok nem láthatóak). Telítő mennyiségű ADP hozzáadása után az OxPhos kapacitás szignifikánsan magasabb volt a CS - CH_4 csoportban. A mitokondriális légzést citokróm c hatására vizsgáltuk, hogy meghatározzuk, hogy az exogén citokróm c képes-e helyettesíteni az enzimet a mitokondriális membránban. A CS csoporthoz képest a CS - CH_4 csoportban a citokróm c felszabadulása szignifikánsan alacsonyabb volt.

A szívizom ER stressz- és apoptózissal összefüggő génexpressziója hipoxia- és ER stressz-asszociált gének (HIF-1 α , CHOP, GSK3 β és Vldlr) relatív mRNS-expressziója szignifikánsan alacsonyabb volt a CS - CH_4 csoportban. A kaszpáz-3 és kaszpáz-9, valamint a pro-apoptotikus Bax expressziója nem csökkent szignifikánsan. Az anti-apoptotikus Bcl2 és a Bax/Bcl2 expresszió aránya azonban jelentősen különbözött a CS- CH_4 csoportban, ami az anti-apoptotikus útvonalak relatív dominanciáját jelzi.

A H&E festés a CS-csoportban a kontrollokhöz képest csak enyhe dezorganizációt mutatott a myofibrillumokban, a barázdák elvesztésével, valamint hullámosság, kontrakciós sávok és a myociták plazmamembránjának felbomlásával. A CS - CH_4 tároló csoportban a szívizomsejtek architektúrája közel normális volt. Ezek a változások nem különböztek szignifikánsan a CS-csoportban tapasztaltaktól, így közel azonos szövetvédelmi potenciált jeleztek. A SERCA1 immunreaktív szívizomsejtek száma jelentősen megnőtt a CS-tárolt graftokból származó metszetekben a kontrollokhöz képest. Ezzel szemben az immunreaktív sejtek száma jelentősen csökkent a CS - CH_4 csoportban.

4.3 Trauma és alkoholfogyasztás okozta stressz

4.3.1 Kilélegzett CH₄ alkoholfogyasztás okozta stresszben

Humán vizsgálatokban az etanol által indukált metanogenezist a korábban nem CH₄-termelőnek bizonyult résztvevőknél standardizált körülmények között vizsgáltuk. A kilélegzett levegő CH₄-koncentrációja a 2. napon ($0,93 \pm 0,17 \Delta\text{ppm}$), a 3. napon ($0,65 \pm 0,07 \Delta\text{ppm}$) és a 4. napon ($0,62 \pm 0,04 \Delta\text{ppm}$) szignifikánsan, kb. $0,9 \Delta\text{ppm}$ -rel emelkedett a kiindulási értékhez (1. nap, $0,23 \pm 0,08 \Delta\text{ppm}$) képest. A CH₄-kibocsátás az 5. napra csökkent ($0,51 \pm 0,04 \Delta\text{ppm}$), de továbbra is jelentősen magasabb maradt a kiindulási értéknél. Amikor 31 nappal később megismételtük a légzési CH₄-elemzést, statisztikailag szignifikáns CH₄-termelés nem volt kimutatható.

Az állatkísérletekben a patkányok egész testére vonatkozó CH₄ profilt követtük több napon keresztül, alkoholfogyasztás alatt (45. ábra). A vizsgálat azt mutatta, hogy a $1,15 \text{ g/kg/nap}$ etanol bevitelét követően 3 nappal a CH₄ kibocsátás ($1,85 \pm 0,48 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$) megnövekedett a kontrollcsoportéhoz képest, és ez a szint egészen a 8 napos megfigyelési időszak végéig fennmaradt ($2,47 \pm 1,29 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$). Ugyanakkor, a $1,15 \text{ g/kg/nap}$ etanol + GPC kezeléssel nem tapasztaltak emelkedést a CH₄ szintjében a kontrollcsoportéhoz viszonyítva. A 8. napra már szignifikáns különbség alakult ki a $1,15 \text{ g/kg/nap}$ etanolt GPC nélkül kapó csoport ($2,47 \pm 1,29 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$) és a GPC kezelt csoport ($0,04 \pm 0,04 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$) között. Az 5. napra a $2,7 \text{ g/kg/nap}$ etanol terhelés növelte az egész test CH₄ termelést ($2,3 \pm 0,43 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$), és a magas CH₄ kibocsátás fennmaradt a 8 napos kísérletek végéig ($1,03 \pm 0,33 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$). A kis dózisú etanol+GPC csoporthoz hasonlóan, a $2,7 \text{ g/kg/nap}$ etanol + GPC kezelt csoportban sem volt különbség a kontrollcsoportéhoz képest. A kezeletlen kontroll csoportban nem történt változás a megfigyelési időszak alatt (8. nap: $0,23 \pm 0,18 \Delta\text{ppm}/1000 \text{ dm}^2$) az első napi alapértékekhez képest. A májban a $1,15 \text{ g/kg/nap}$ etanol bevitele nem befolyásolta a mitokondriális oxigénfogyasztást a kontrollcsoportéhoz képest ($26,17 \pm 2,45 \text{ pmol/s/mg}$ fehérje vs. $31,79 \pm 1,74 \text{ pmol/s/mg}$ fehérje), míg a $2,7 \text{ g/kg/nap}$ etanol terhelés szignifikáns csökkenést eredményezett az OxPhos kapacitásban ($19,29 \pm 1,73 \text{ pmol/s/mg}$). A GPC-vel történő táplálékkiegészítés mindkét csoportban növelte a légzést a nem GPC-kezelésű csoportokhoz

képest ($1,15 \text{ g/kg/nap etanol} + \text{GPC: } 38,08 \pm 4,99 \text{ pmol/s/mg fehérje}$; $2,7 \text{ g/kg/nap etanol} + \text{GPC: } 31,66 \pm 8,11 \text{ pmol/s/mg fehérje}$).

4.3.2. Vitális paraméterek prediktív értéke traumás sokk osztályozásban

A retrospektív kohorszvizsgálat eredménye szerint intézményünkbe összesen 684 beteget észleltek a trauma team aktiválásával. Végül 156 résztvevő felelt meg a bevonási kritériumoknak.

A résztvevők átlagéletkora $49,4 \pm 20,7$ év volt, és a betegeknek csak 26,7%-a volt nő. A leggyakoribb sérülési mechanizmusok a közúti balesetek (56,4%) és az esések (29,5%) voltak. A leginkább érintett testrészek a fej és a nyak (74,4%), a mellkas (53,9%) és a végtagok (48,1%) voltak. Mivel a legtöbb beteg nagy energiájú traumát szenvedett, több esetben több testrész is érintett volt.

Minden beteget besoroltunk a régi (VS) és az új, BD bevonásával módosított (VS + BD) ATLS sokk osztályba. A VS szerint a betegek 31,4%-a az I. osztályba, 6,4%-a a II. osztályba, 13,5%-a a III. osztályba és 48,7%-a a IV. osztályba tartozott. A VS + BD kritériumok alapján a betegek 16,0%-a a következő, magasabb osztályba tartozott; ez az eltolódás azonban főként az alacsony kockázatú osztályokat (I. és II.) érintette. Harmincnégy beteg halt meg az első 30 napon belül, ami 21,8%-os halálozási arányt jelent.

Mind a VS, mind a VS + BD osztályozás erős kapcsolatot mutatott a halálozással (χ^2 és Fisher pontos tesztje $P_{VS} = 0,0001$ vs. $P_{VS+BD} = 0,000009$, illetve). A 2-arányos Z teszt szerint azonban nem volt szignifikáns különbség a mortalitást előrejelző teljesítményükben ($P = 0,9808$).

A HR, SBP, GCS és BD külön elemzésével azt találtuk, hogy a GCS-nek van a legnagyobb prognosztikai ereje ($\text{AUC GCS} = 0,799$, $P < 0,001$; CI [0,722, 0,875]). A BD és az SBP eltérései szignifikáns, de gyenge prediktora volt a halálozásnak ($\text{AUCBD} = 0,683$, $P = 0,001$, CI [0,576, 0,790]; $\text{AUCSB } P = 0,633$, $P = 0,018$, CI [0,521, 0,744]). A HR hatástalannak bizonyult a prognózis tekintetében ($\text{AUCHR} = 0,595$, $P = 0,090$, CI [0,480, 0,710]).

A HR, mint prognosztikai faktor hatékonyságát vizsgáló szisztematikus áttekintés és meta-regresszió keretén belül 2017 közleményt azonosítottunk az alkalmazott keresési stratégiával, amiből végül 19 közlemény felelt meg a bevonási kritériumoknak.

Metaregresszió

Elsődleges metaregresszióink a HR és a halálozás közötti kapcsolatot vizsgálta a vérzéssel

járó traumán átesett betegek esetében mind a 19 közlemény adatai alapján. Nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a HR és a kimenetel között ($p = 0,847$), így lineáris összefüggést nem tudtunk megállapítani.

Az egyes tanulmányok betegbevonási kritériumainak viszonylagos heterogenitása miatt egy 10 közleményből álló alcsoportot alakítottunk ki, amelyben a kezdeti vérkészítmény adását határoztuk meg bevonási kritériumként. Eredményeink ismét azt mutatták, hogy a HR és a halálozási arány között nincs szignifikáns kapcsolat és lineáris összefüggés.

4.3.3 A kilélegzett CH₄ kimutatása traumával összefüggő vérzésben

A vérzéscsillapítás és az MBT eredményeként a Hb értékek normalizálódtak, míg a BD csökkenő tendenciát mutatott. Ezzel összhangban a kilélegzett CH₄ szintek növekvő tendenciát mutattak. Az érkezéskori kezdeti Hb kevesebb, mint 4 g/dl volt, a BD értéke 20,8 mmol/l, és a kilélegzett CH₄-koncentráció 22800 PAU volt (2840 PAU egyenlő 1 ppm-mel, a háttér-CH₄ szintje körülbelül 1912 ppb). Az első 4 óra végére a Hb értéke 13 g/dl-re, a CH₄-koncentráció 31800 PAU-ra emelkedett, míg a BD 8,5 mmol/l-re csökkent.

A beadott vértranszfúziók eredményeként a Hb egyidejű növekedését és a kilélegzett CH₄-koncentráció folyamatos emelkedését. A vizsgálat szignifikáns korrelációt talált a Htc és a CH₄-koncentráció, a Hb és a CH₄-koncentráció, valamint a BD és a CH₄-koncentráció változásai között. A Hb, a Hct pozitív, a BD negatív korrelációt mutatott a kilélegzett CH₄-szintekkel. Az EtCO₂ szintek 27 és 40 mmHg között mozogtak, ami azt mutatja, hogy nem volt jelentős ventilációs károsodás, amely befolyásolhatta volna a kilélegzett CH₄-koncentrációkat.

4.3.4. Mitokondriális diszfunkció trauma-indukált koagulopátiában

A súlyos traumás sérültek ($n = 113$) medián életkora 38 év (IQR, 20-51), medián ISS értéke 28 (IQR, 20-48) megfelelt a bevonási kritériumoknak, és a betegek csupán 23,9%-a volt nő. Az életkorban és nemben megegyező kontrollcsoport tagjai nem különböztek a polytraumás betegektől ezekben a jellemzőkben, kivéve a trauma előzményeit. A súlyos traumás sérültek többsége tompa sérülést szenvedett (68%), és a leggyakoribb sérülési mechanizmusok közé tartoznak a közúti balesetek (52,6%) és a leesések (18,7%). A leggyakoribb sérült testrészek az extremitások (35,2%), a thorax (25,25%) és a fej és nyak (28,4%) voltak. A résztvevők kétharmada a első 24 órán belül műtéten esett át. Vérvkészítményeket az esetek 68,7%-ában alkalmaztak. 22 beteg halt meg 30 napon belül, ami 19,4%-os halálozási arányt

eredményezett. A súlyos traumás sérültek életfontosságú paraméterei, mint a HR és a SBP, szinte normálisak voltak, akárcsak a Hb, Ht és trombocitaszám csökkenése. Azonban a BD és a standard koagulációs teszt értékei, amelyek képesek mérni a hemosztázis egyes komponenseit, szignifikánsan eltértek a polytrauma csoportban.

Az extrinszik koagulációs útvonal működését a szöveti faktor és CaCl_2 jelenlétében értékeltük. A CT (66 ± 16 másodperc vs. 50 ± 6 másodperc) és az ML szignifikánsan nőtt ($11 \pm 4\%$ vs. $6 \pm 2\%$), miközben a MCF értéke jelentős csökkenést mutatott (61 ± 8 mm vs. 66 ± 9 mm) a súlyos sérült csoportban a kontroll csoporthoz képest. A fibrin polimerizációját a trombocita inhibitor citochalaszin D jelenlétében jellemeztük. Az EX-teszttel kapott eredményekkel összhangban hasonló változásokat találtunk a CT-ben (80 ± 17 mp vs. 58 ± 10 mp) és az MCF-ben (11 ± 3 mm vs. 20 ± 5 mm) a súlyos sérült csoportban a kontroll csoporthoz képest. A trombociták aggregációját először ADP jelenlétében (ADP-teszt) mértük. Az aggregáció szintje jelentősen csökkent a polytraumatizált csoportban (38 ± 12 AUC vs. 112 ± 14 AUC). Ez a csökkenés arachidonsav jelenlétében is megfigyelhető volt (ASPI-teszt) (78 ± 22 AUC vs. 84 ± 28 AUC), azonban nem volt szignifikáns.

A mitokondriális oxigénfogyasztás vizsgálatakor azt találtuk, hogy az OxPhos ($34,7 \pm 8,8$ pmol/s/mL vs. $48,0 \pm 19,7$ pmol/s/mL), a Leak légzés ($27,3 \pm 9,4$ pmol/s/mL vs. $24,6 \pm 9,6$ pmol/s/mL) és az ETC ($40,3 \pm 11,8$ pmol/s/mL vs. $57,7 \pm 18,7$ pmol/s/mL) jelentősen romlott a súlyos traumát szenvedett betegekben a kontroll betegekhez képest. Az ETC minőségének ellenőrzésére meghatároztuk az RCR-t, amely az OxPhos és Leak hányadosa. Az RCR szignifikáns különbsége ($1,3 \pm 0,8$ vs. $2,1 \pm 0,8$) arra utal, hogy megfigyeléseink nem csupán az alanyok szubsztrátokhoz való hozzáféréseinek hiányából erednek, hanem a mitokondriális membránnal kapcsolatos károsodásból is.

A mitokondriális H_2O_2 kibocsátás, mint a mitokondriális eredetű ROS termelésének markere, szignifikánsan megnövekedett a súlyos traumás sérült csoport trombocitáiban a kontroll csoporthoz képest ($1,6 \pm 0,3$ pmol/s/mg vs. kontroll $0,8 \pm 0,2$ pmol/s/mg). Először az alap Ca^{2+} fluxust értékeltük, ami az endogén Ca^{2+} felszabadulásra utal. Szignifikáns növekedést figyeltünk meg a CaGreen-5N fluoreszcens intenzitásában a polytraumás csoportban ($2,6 \pm 0,4$ mV/s) a kontroll csoporthoz képest ($1,8 \pm 0,5$ mV/s). Ezt követően az exogén Ca^{2+} -triggerelt Ca^{2+} fluxust vizsgáltuk, amelyet a CaCl_2 telítő mennyiségének hozzáadásával indukáltunk, ezáltal megnyitva az mPTP-t a mitokondrium belső membránján. A polytrauma

következtében a trombocita mitokondriumok kevesebb fluoreszcens választ mutattak az exogén Ca^{2+} iránt ($3,3 \pm 0,3$ mV/s), mint a kontroll csoport mitokondriumai ($2,7 \pm 0,5$ mV/s). A mitokondriális funkcionális paraméterek és a rendelkezésre álló klinikai paraméterek közötti összefüggések vizsgálatára korrelációs elemzést végeztünk. A mitokondriális mérések, a betegdemográfiai adatok, a sérülési információk, a hagyományos alvadási paraméterek és koagulációs vizsgálatok adatait bevonva egy korrelációs mátrixot képeztünk. Erős negatív korreláció figyelhető meg az OxPhos és az ISS között a trombocita mitokondriumokban ($R^2 = 0,448$; $P < 0,05$), az ICU tartózkodás időtartama, a 30 napos mortalitás és a masszív transfúzió iránti szükséglet között, míg a FIB-teszt MCF és a Ht pozitív korrelációt mutattak. Nyilvánvaló, hogy az OxPhos az egyéb mitokondriális paraméterekkel is korrelált (Leak légzés, ETC, RCR).

5 ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

Mikrokeringési kutatások eredményei

1. Gyulladásos modellek mikrokeringési változásainak vizsgálata

- Az EP technika szignifikánsan növelte a diklofenák plazmaszintjét és csökkentette az ízületi gyulladás során fellépő leukocita-endotél interakciókat patkány C/K arthritisz modellben, javítva a helyi gyulladáscsökkentő hatékonyságot.
- Az EP-vel fokozott diklofenák adagolás jól tolerálható, és hatékonyabb, mint a hagyományos topikális alkalmazás az akut arthritisz kísérleti modelljében. Az EP alkalmazása lehetővé teszi a diklofenák hatékonyabb bejuttatását a szinoviális térbe, ami kedvező hatással van a gyulladásos reakciókra. A további kutatások célja az EP optimális paramétereinek meghatározása és a diclofenac plazmaszintjének csökkentése.

2. Bőrirritáció és sebgyógyulás mikrokeringési mechanizmusainak feltárása

- Az SKH-1 szőrtelen egereken kifejlesztett háti bőrredő kamra penetrációs modell lehetővé tette a transzdermális gyógyszerpenetráció pontos mérését, és a bőr mikrokeringési változásainak részletes *in vivo* vizsgálatát.
- A glicerín és xilit csökkentette a bőr mikrokeringési stresszreakcióit, stabilizálta a hidratációt és megelőzte a gyulladásos sejtek felhalmozódását az irritált területeken.
- A RyR gátlása dantrolénnal gyorsította a sebgyógyulást és javította a bőr kapilláris

véráramlását.

- A LDF-fel kimutatható különbséget találtunk az alkalmazott sebészeti technikák mikrokeringésre gyakorolt hatása között, ezáltal a mérések új perspektívát nyújtanak a periimplantáris szövetek posztoperatív mikrokeringési változásainak monitorozásában.
- A lágyrészmegőrző technika (STP) jobb posztoperatív mikrokeringési integritást eredményezett a csökkentett lágyrész technikához (STR) képest.

3. A perioszteum és endoszteum keringése kiterjedt oszteosztézist követően

- Az első human intraoperatív LDF-mérés, ami kimutatta, hogy a hosszú csöves csontok belső (endoszteális) és külső (perioszteális) vérellátásának iatrogén megszüntetése avaszkuláris álizület kialakulásával jár.

4. Távoli IPC és gyulladáscsökkentő szerek hatásának elemzése

- A távoli végtagi IPC és a GPC egyaránt jelentősen javította a máj mikrokeringési paramétereit IR sérülések után, melyek hatásai a NOX enzimek közreműködésével valósultak meg. Az IPC csökkentette a NOX2 expresszióját, ezáltal javítva a szöveti oxigéntelítettséget és a kapilláris keringést, miközben a NOX4 expressziójára nem gyakorolt hatást. Ezzel szemben a membránstabilizáló GPC a NOX4 expressziójának csökkentésével mérsékelte a gyulladásos enzimek aktivitását és az oxidatív szövetkárosodást, ami a kapilláris véráramlás és az LE-interakciók javulásához vezetett.

Mitokondriális kutatások eredményei

5. Máj meleg és hideg IR során a mitokondrium célzott védelmének lehetőségei bioaktív molekulákkal

- Kimutattuk, hogy az IR során a máj mitokondriális diszfunkciója jelentős mértékben a légzési lánc komplexeinek működési zavaraihoz kapcsolódik. Az IR hatására a mitokondriális respirációs aktivitás csökkent, különösen az I. komplex aktivitása, amely az OxPhos csökkenését eredményezte. A mitokondriális diszfunkció következményeként megnövekedett szabadgyöktermelés és membránkárosodás volt megfigyelhető, ami tovább rontotta a máj működését.
- A GPC rövid távú alkalmazása védelmet biztosított a májsejtek számára IR által kiváltott sejtpusztulás ellen, miközben nem befolyásolta negatívan az oxidatív stressz mértékét. A GPC jótékony hatása kifejezetten az I. komplex mitokondriális respirációs aktivitásának

fenntartásában mutatkozott meg, csökkentve a ROS termelést és a gyulladásos válaszokat.

- A CH₄ inhalációja a meleg IR alatt jelentős védelmet nyújtott a máj mitokondriális diszfunkciója ellen. Az oxigénfogyasztás és a respirációs kapacitás megmaradt, miközben a ROS-termelés csökkent.

- A CH₄-dúsított tartósító oldatok alkalmazása hideg iszkémiai állapotban javította a máj transzplantációs eredményeit. A mitokondriális OxPhos kapacitás megőrzése mellett a Ca²⁺-homeosztázis is stabil maradt, ami hozzájárult a szerv jobb működéséhez és kevesebb sejtkárosodáshoz.

6. Szív IR mitokondriális következményeinek enyhítése exogén CH₄ adásával

- A CH₄ alkalmazása szív IR modellben csökkentette az oxidatív stresszt és a mitokondriális ROS termelést. Az I-es komplex aktivitása jelentősen csökkent, míg a II-es komplex aktivitása megmaradt, ami jelzi, hogy a CH₄ képes blokkolni az ETC zavart működését. A szívizomsejtek apoptózisa is csökkent, ami a CH₄ védő hatásait bizonyítja a szívben.

- Patkány heterotóp szívtranszplantációs modellben a CH₄-dúsított szervtartósító oldatok alkalmazása a graft hideg tárolása során javította annak funkcióit. A mitokondriális OxPhos kapacitás megőrződött, és a cytochrome c felszabadulás csökkent, ami a szívizomsejtek károsodásának csökkenését eredményezte és összességében javította a szív átültetési eredményeit

Trauma és alkoholfogyasztás okozta stressz vizsgálata során kapott eredményeink

7. A kilélegzett CH₄ mint biomarker szerepének vizsgálata traumában és alkohol okozta stresszben

- Sürgősségi körülmények között elsőként végeztünk ágy melletti méréseket embereken a kilélegzett CH₄ koncentráció vizsgálatára traumával összefüggő vérzésben.

- A magas etanol bevitel átmeneti, jelentős CH₄-termelést eredményezett korábban nem CH₄-termelő embereken, és hasonlóan magas CH₄-termelés figyelhető meg etanolt fogyasztó patkányokban, a máj mitokondriális diszfunkciójával összefüggésben.

- A kilélegzett CH₄ szintje szoros kapcsolatban volt a Hb szinttel és a BD értékekkel, jelezve a potenciális alkalmazhatóságát a vérzéses sokk korai felismerésében.

- A kilélegzett CH₄ szintjének monitorozása a vérvesztés és az oxidatív károsodás korai indikátora lehet, így elősegítve a gyors klinikai döntéshozatalt.

8. Traumás sokk és vérzés prediktív paramétereinek elemzése

- A jelenlegi és korábbi ATLS-sokkosztályozási rendszer egyránt hatékonynak bizonyult a 30 napos mortalitás prediktív értéke szempontjából. A vitális paraméterek (GCS, a BD és az SBP) fontos prognosztikai értéket képviselnek, míg a HR-változás nem mutatott szoros összefüggést a túlélési eséllyel.
- Eredményeink megerősítik, hogy a korábbi osztályozás a gyakorlatban továbbra is alkalmazható, és BD-nek nincs hozzáadott értéke/ nem módosít számottevően a mortalitás becslésén.
- Kimutattuk, hogy a HR nem párhuzamosan emelkedik a súlyosan sérült vérző betegek halálozási arányával.
- Eredményeink alapján a HR változásait az ATLS protokollban újra kell értékelni, mivel nem mindig egyértelműen prediktív a túlélés szempontjából, ezért módosításokat javasoltunk a hipovolémás sokk ATLS osztályozásában.

9. A kilélegzett CH₄ kimutatása traumával összefüggő vérzésben

- Klinikai vizsgálatunk részeként egy vérző, súlyos sérült reszuscitációját és MBT protokollját 4 órán keresztül monitorozva kimutattuk a Hb szintek és a kilélegzett CH₄ koncentrációk közötti összefüggést. A vérkészítmények adása és a CH₄ koncentrációk emelkedése közötti időbeli összefüggést is ábrázoltuk.
- Eredményeink alapján a valós idejű CH₄ koncentrációjának monitorozása jól alkalmazható a vérvesztés mértékének becslésére és a reszuscitáció dinamikus monitorozásra is.

10. Mitokondriális diszfunkció és trauma-indukált koagulopátia (TIC) összefüggéseinek feltárása

- Kimutattuk a trombociták mitokondriális diszfunkciójának és a TIC-nek együttes előfordulását súlyosan vérző, traumás betegeknél. A trombociták mitokondriális diszfunkciója az OxPhos romlásában és a Leak respiráció fokozódásában, a mitokondriális H₂O₂-termelés növekedésében volt megfigyelhető, összefüggésben a fokozott véralvadási időkkal és csökkent MCF értékekkel.
- A mitokondriális diszfunkció és a koagulopátia közötti erős korreláció alátámasztja, hogy a mitokondriális működés zavarai szerepet játszanak a TIC kialakulásában, és potenciális célpontot kínálhatnak a jövőbeli kezelési lehetőségek számára.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

Mikrokeringési kutatásaink során számos gyulladásos és IR modellt vizsgáltunk, amelyek során a mikrokeringési paraméterek, mint a sebesség, áramlás és a perfúzió heterogenitása, érzékenyen reagáltak a gyulladásos állapotokra és az IR-károsodásra. A leukocita-endotélsejt interakciók szintén fontos mutatói a gyulladásos válasznak, és ezek változásai jól nyomon követhetők voltak a különböző kezelések alkalmazásával.

A kutatás során számos új modellt és vizsgálómódszert fejlesztettünk, amelyek lehetővé tették a mikrokeringési folyamatok pontos mérését és a kezelések hatékonyságának optimalizálását. Ezen módszerek nemcsak a gyógyszerbevitelnél, implantátumok alkalmazásánál és új sebészeti technikák vizsgálatakor, hanem a szövetek életképességének és regenerációs képességének pontos értékelésében is diagnosztikai jelentőséggel bírnak.

A diclofenac alkalmazása a mikrokeringési paraméterek optimalizálásával javította a gyógyszerhatást és csökkentette a gyulladásos aktivitást. Az EP révén a transzdermális gyógyszerbevitel hatékonysága nőtt, mivel a pórusok átmeneti megnyitása segítette a gyógyszer jobb penetrációját a szövetekbe. A GPC antioxidáns és membránvédő hatásai segítettek csökkenteni az oxidatív stresszt és javítani a mikrokeringést, különösen a NOX4 aktivitásának csökkentésével. A CH₄ alkalmazása is pozitívan befolyásolta a mikrokeringést, különösen az IR-károsodás kezelésében.

Ezek az eredmények kiemelik a mikrokeringés szerepét a gyulladás és regeneráció szabályozásában, és diagnosztikai jelentőséggel bírhatnak a gyógyszerbevitel, implantátumok alkalmazása és új sebészeti technikák vizsgálata során. A mikrokeringési paraméterek pontos mérése és optimalizálása lehetővé teszi a szövetek életképességének objektív értékelését, amely elengedhetetlen a hatékony kezelési stratégiák kidolgozásához, különösen a gyulladásos és regenerációs folyamatok monitorozása során.

Mitokondriális kutatásaink során elsősorban az IR által kiváltott mitokondriális diszfunkció mechanizmusait és a különböző kezelések hatásait vizsgáltuk. Eredményeink szerint az IR következtében az ETC működése zavart szenvedett, amiben különösen az I-es komplex szerepe volt meghatározó. Az I-es komplex aktivitásának csökkenése alacsonyabb OxPhos-t eredményezett, miközben az ETC kapcsoltsága romlott, ami fokozott szabadgyöktermelést és mitokondriális membránkárosodást idézett elő. Kutatásaink szerint a szuperoxid-termelést két fő mechanizmus irányítja az I-es komplexben: a flavin- és Q-kötő helyek. Emellett az I-

es komplexbe irányuló RET fontos szerepet játszik a szuperoxid képződésében, amelyet a magas $\Delta\Psi_m$ segít elő, és a szukcinát-felhalmozódás gyors oxidációja révén szuperoxid keletkezik.

Az alkalmazott GPC és CH₄ kezelések különböző mechanizmusokon keresztül hatnak a mitokondriális működésre. A GPC képes javítani a mitokondriális oxigénfogyasztást, fokozva az OxPhos kapacitást, csökkentve a ROS-termelést és javítva a mitokondriális aktivitást mind normoxiás, mind anoxiás környezetben. A GPC emellett befolyásolhatja a mitokondriális szuperkomplexek szerveződését és a redoxkörnyezetet is. Ezzel szemben a CH₄ kezelés csökkentette a mitokondriális membránok diszfunkcióját a ROS-termelés mérséklésével és a mitokondriális légzési aktivitás fenntartásával. A CH₄ gátolta a RET mechanizmusát, és fokozta a bazális mitokondriális légzést anélkül, hogy megnövelte volna a ROS-termelést. Az I-es komplexen történő elektrontranszport blokkolásával a CH₄ csökkentette a szuperoxid-termelést, különösen a RET során.

Összességében megállapítottuk, hogy az I-es komplex aktivitásának csökkenése és a RET szerepe kulcsfontosságú tényezők az IR által kiváltott mitokondriális diszfunkcióban. A GPC és CH₄ kezelések pedig ígéretes terápiás lehetőségeket kínálnak az IR következményeinek enyhítésére, csökkentve a szabadgyök-termelést és fenntartva a mitokondriális funkciót. Klinikai vizsgálataink során különböző mérési módszerek alkalmazásával sikerült feltérképezni a mitokondriális működés és a klinikai paraméterek közötti kapcsolatokat. Az alkohol indukálta metanogenezist a nem-CH₄ termelő résztvevők körében is sikerült igazolni, jelentős CH₄ kibocsátást észlelve a 4 napos alkoholfogyasztás után, amely a mitokondriális diszfunkcióval hozható összefüggésbe. A kilélegzett CH₄ szignifikáns emelkedését mértük, amely az etanol hatására megjelenik, és a mitokondriális diszfunkcióval kapcsolatban biomarkerként is szerepet kaphat.

A vérzéses sokk osztályozását vizsgáló kutatásaink alapján nem találtunk szignifikáns különbséget a jelenleg érvényes 9. kiadású ATLS osztályozás és a korábbi, csak VS-re alapozott ATLS osztályozás között, azonban az osztályozások alapjait képező paraméterek, mint a GCS, BD és SBP fontos prognosztikai értékkel bírnak a mortalitás előrejelzésében. A HR változása nem mutatott szoros összefüggést a túlélési eséllyel, alátámasztva a tachycardia nem-lineáris válaszát a vérzéses sokkban.

A kilélegzett CH₄ szintje és a vérveszteség közötti összefüggést egy súlyos sérült (ISS $\geq$ 16) esetben vizsgáltuk. Az kilélegzett CH₄ szintje szoros kapcsolatban volt a Hb szinttel és a BD értékekkel, jelezve azok potenciális alkalmazhatóságát a vérzéses sokk korai felismerésében. A mitokondriális funkciók szintén zavarokat mutattak a TIC esetén, ahol az OxPhos csökkenése és a mitokondriális H₂O₂-termelés növekedése volt megfigyelhető, összefüggésben a fokozott véralvadási időkkal és csökkent MCF értékekkel. A mitokondriális diszfunkció és a koagulopátia közötti erős korreláció alátámasztotta, hogy a mitokondriális működés zavarai szerepet játszanak a TIC kialakulásában, és potenciális célpontot kínálhatnak a jövőbeli kezelési lehetőségek számára.

A kutatás eredményei fontos betekintést nyújtanak a traumás események utáni mitokondriális működés zavaraihoz, különös figyelmet fordítva a CH₄-kibocsátásra mint potenciális biomarkerre, valamint a vitális paraméterek és a mitokondriális diszfunkció közötti összefüggésekre, melyek hozzájárulhatnak a politrauma és a vérzéses sokk korai felismeréséhez és kezeléséhez.

7 SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az értekezés alapjául szolgáló tudományos szakkikkek listája

Hartmann P, Butt E, Feher A, Szilagyi AL, Jasz KD, Balazs B, Bakonyi M, Berko S, Eros G, Boros M, Horvath G, Varga E, Csanyi E: Electroporation-enhanced transdermal diclofenac sodium delivery into the knee joint in a rat model of acute arthritis. DRUG DESIGN DEVELOPMENT AND THERAPY 2018; 12:1917-1930.

Erős G, **Hartmann P**, Berkó S, Csizmazia E, Csányi E, Sztojkov-Ivanov A, Nemeth I, Szabó-Révész P, Zupko I, Kemény L: A novel murine model for the in vivo study of transdermal drug penetration. SCIENTIFIC WORLD JOURNAL 2012; 2012:543536.

Szél E, Polyánka H, Szabó K, **Hartmann P**, Degovics D, Balázs B, Németh I B, Korponyai C, Csányi E, Kaszaki J, Dikstein S, Nagy K, Kemény L, Erős G: Anti-irritant and anti-inflammatory effects of glycerol and xylitol in sodium lauryl sulphate-induced acute irritation. JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY 2015; 29(12): 2333-2341.

Degovics D, **Hartmann P**, Németh IB, Árva-Nagy N, Kaszonyi E, Szél E, Strifler G, Bende B, Krenács L, Kemény L, Erős G: A novel target for the promotion of dermal wound healing: Ryanodine receptors. TOXICOLOGY AND APPLIED PHARMACOLOGY 2019; 366: 17-24.

Jarabin J, Bere Z, **Hartmann P**, Toth F, Kiss JG, Rovo L: Laser-Doppler microvascular measurements in the peri-implant areas of different osseointegrated bone conductor implant systems. *EUROPEAN ARCHIVES OF OTO-RHINO-LARYNGOLOGY* 2015; 272(12): 3655-3662.

Greksa F, Butt E, Csonka E, Jávör P, Tuboly E, Török L, Szabo A, Varga E, **Hartmann P**: Periosteal and endosteal microcirculatory injury following excessive osteosynthesis. *INJURY: INTERNATIONAL JOURNAL OF THE CARE OF THE INJURED* 2021; 52(S1): S3-S6.

Garab D, Fet N, Szabó A, Tolba RH, Boros M, **Hartmann P**: Remote ischemic preconditioning differentially affects NADPH oxidase isoforms during hepatic ischemia–reperfusion. *LIFE SCIENCES* 2014; 105(1-2): 14-21.

Hartmann P, Fet N, Garab D, Szabó A, Kaszaki J, Srinivasan PK, Tolba RH, Boros M: L-alpha-glycerolphosphorylcholine reduces the microcirculatory dysfunction and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase type 4 induction after partial hepatic ischemia in rats. *JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH* 2014; 189(1): 32-40.

Strifler G, Mészáros A, Pécz D, Ficzer Á, Baráth B, Boros M, **Hartmann P**: A májfunkció vizsgálata respirometriával. *MAGYAR SEBÉSZET* 2016; 69(4): 194-198.

Tuboly E, Gáspár R, Ibor MO, Gömöri K, Kiss B, Strifler G, **Hartmann P**, Ferdinandy P, Bartekova M, Boros M, Görbe A: L-Alpha-glycerolphosphorylcholine can be cytoprotective or cytotoxic in neonatal rat cardiac myocytes: a double-edged sword phenomenon. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOCHEMISTRY* 2019; 460(1-2): 195-203.

Strifler G, Tuboly E, Görbe A, Boros M, Pécz D, **Hartmann P**: Targeting mitochondrial dysfunction with L-alpha glycerylphosphorylcholine. *PLOS ONE* 2016; 11(11): e0166682

Strifler G, Tuboly E, Szél E, Kaszonyi E, Cao C, Kaszaki J, Mészáros A, Boros M, **Hartmann P**: Inhaled Methane limits the mitochondrial electron transport chain dysfunction during experimental liver ischemia-reperfusion injury. *PLOS ONE* 2016; 11(1): e0146363

Horváth T, Sándor L, Baráth B, Donka T, Baráth B, Mohácsi Á, Jász KD, **Hartmann P**, Boros M: Methane Admixture Protects Liver Mitochondria and Improves Graft Function after Static Cold Storage and Reperfusion. *ANTIOXIDANTS* 2023; 12(2): 271

Jász DK, Szilágyi ÁL, Tuboly E, Baráth B, Márton AR, Varga P, Varga G, Érces D, Mohácsi Á, Szabó A, Bozó ., Gömöri K, Görbe A, Boros M, **Hartmann P**: Reduction in hypoxia-reoxygenation-induced myocardial mitochondrial damage with exogenous methane. *JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE* 2021; 25(11): 5113-5123.

Benke K, Jász DK, Szilágyi ÁL, Baráth B, Tuboly E, Márton AR, Varga P, Mohácsi Á, Szabó A, Széll Z, Ruppert M, Radovits T, Szabó G, Merkely B, **Hartmann P**, Boros M: Methane supplementation improves graft function in experimental heart transplantation *JOURNAL OF HEART AND LUNG TRANSPLANTATION* 2021; 40(3): 183-192.

Tuboly E, Molnar R, Tokes T, Turanyi RN, **Hartmann P**, Meszaros AT, Strifler G, Foldesi I, Siska A, Szabo A, Mohacsi A, Szabo G, Boros M: Excessive alcohol consumption induces methane production in humans and rats. SCIENTIFIC REPORTS 2017; 7(1): 7329

Jávor P, Csonka E, Butt E, Rárosi F, Babik B, Török L, Varga E, **Hartmann P**: Comparison of the Previous and Current Trauma-Related Shock Classifications: A Retrospective Cohort Study from a Level I Trauma Center. EUROPEAN SURGICAL RESEARCH 2021; 62(4): 229-237.

Jávor P, Hanák L, Hegyi P, Csonka E, Butt E, Horváth T, Góg I, Lukacs A, Soós A, Rumbus Z, Pákai E, Toldi J, **Hartmann P**: Predictive value of tachycardia for mortality in trauma-related haemorrhagic shock: a systematic review and meta-regression. BMJ OPEN 2022; 12(10): e059271

Jávor P, Donka T, Solli HS, Sándor L, Baráth B, Perényi D, Mohácsi Á, Török L, **Hartmann P**: Could exhaled methane be used as a possible indicator for hemodynamic changes in trauma induced hemorrhagic shock? Scientific basis supported by a case study. INJURY: INTERNATIONAL JOURNAL OF THE CARE OF THE INJURED 2024; 55(Suppl. 3): 111456

Sándor L, Donka T, Baráth B, Jávor P, Jász DK, Perényi D, Babik B, Varga E, Török L, **Hartmann P**: Mitochondrial dysfunction in platelets from severe trauma patients - A prospective case-control study. INJURY: INTERNATIONAL JOURNAL OF THE CARE OF THE INJURED 2024; 55(Suppl. 3): 111481

A dolgozatban nem szereplő in extenso közlemények

A PhD értekezés alapjául szolgált közlemények

Török L, **Hartmann P**, Szabó A, Varga R, Kaszaki J, Greksa F, Boros M. A csontthártya mikrokeringésének kísérletes vizsgálata intravitális fluoreszcens videó-mikroszkópiával. MAGYAR TRAUMATOLÓGIA, ORTOPÉDIA, KÉZSEBÉSZET, PLASZTIKAI SEBÉSZET 2008; 51(3): 239-246

Hartmann P, Szabó A, Erős G, Gurabi D, Horváth G, Németh I, Ghyczy M, Boros M. Antiinflammatory effects of phosphatidylcholine in neutrophil leukocyte-dependent acute arthritis in rats. EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY 2009; 622: 58-64

Hartmann P, Varga R, Zobolyák Z, Héger J, Csősz B, Németh I, Rázga Z, Vízler C, Garab D, Sántha P, Jancsó G, Boros M, Szabó A. Anti-inflammatory effects of limb ischaemic preconditioning are mediated by sensory nerve activation in rats. NAUNYNSCHMIEDEBERG'S ARCHIVES OF PHARMACOLOGY 2011; 383: 179-189

Hartmann P, Garab D, Erős G, Kaszaki J, Boros M, Szabó A. Limb ischemia-reperfusion differentially affects the periosteal and synovial microcirculation. J SURG RES 2012; 178(1):216-22.

Egyéb témában írt első- vagy társszerzős szakcikkek

Török L, **Hartmann P**, Szabó A, Varga R, Kaszaki J, Greksa F, Boros M: A csontthártya mikrokeringésének kísérletes vizsgálata intravitális fluoreszcens videó-mikroszkópiával
MAGYAR TRAUMATOLOGIA ORTOPÉDIA KÉZSEBÉSZET PLASZTIKAI SEBÉSZET 2008; 51(3): 239-246.

Hartmann P, Greksa F, Garab D, Varga R, Széll M, Keresztes M, Boros M, Szabó A: Microcirculatory consequences of osteoporosis. TIMISOARA MEDICAL JOURNAL 2010; 60(Suppl 2): 100-106.

Tokes T, Eros G, Bebes A, **Hartmann P**, Varszegi S, Varga G, Kaszaki J, Gulya K, Ghyczy M, Boros M: Protective effects of a phosphatidylcholine-enriched diet in lipopolysaccharide-induced experimental neuroinflammation in the rat. SHOCK 2011; 36(5): 458-465.

Szabo A, **Hartmann P**, Varga R, Janvari K, Lendvai Z, Szalai I, Gomez I, Varga G, Greksa F, Nemeth I, Razga Z, Keresztes M, Garab D, Boros M
Periosteal microcirculatory action of chronic estrogen supplementation in osteoporotic rats challenged with tourniquet ischemia. LIFE SCIENCES 2011; 88(3-4): 156-162.

Járomi P, Szabó A, Garab D, Bodnár D, Uhercsák G, Boros M, **Hartmann P**: A húgyhólyag gyulladásos mikrokeringési reakcióinak kísérletes vizsgálata. MAGYAR SEBÉSZET 65 : 4 pp. 184-190. , 7 p. (2012)

Berkó S, Maroda M, Bodnár M, Erős G, **Hartmann P**, Szentner K, Szabó-Révész P, Kemény L, Borbély J, Csányi E: Advantages of cross-linked versus linear hyaluronic acid for semisolid skin delivery systems. EUROPEAN POLYMER JOURNAL 2013; 49(9): 2511-2517.

Meszaros AT, Szilagyi AL, Juhasz L, Tuboly E, Erces D, Varga G, **Hartmann P**: Mitochondria As Sources and Targets of Methane. FRONTIERS IN MEDICINE 2017; 4:195.

Varga G, Ugocsai M, **Hartmann P**, Lajkó N, Molnár R, Szűcs S, Jász DK, Érces D, Ghyczy M, Tóth G, Boros M: Acetylsalicylic acid-tris-hydroxymethyl-aminomethane reduces colon mucosal damage without causing gastric side effects in a rat model of colitis. INFLAMMOPHARMACOLOGY 2018; 26(1): 261-271.

Tenk J, Mátrai P, Hegyi P, Rostás I, Garami A, Szabó I, **Hartmann P**, Pétervári E, Czopf L, Hussain A, Simon M, Szujó S, Balaskó M: Perceived stress correlates with visceral obesity and lipid parameters of the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. PSYCHONEUROENDOCRINOLOGY 95 pp. 63-73. , 11 p. (2018)

Szilagyi AL, Matrai P, Hegyi P, Tuboly E, Pecz D, Garami A, Solymar M, Petervari E, Balasko M, Veres G, Czopf L, Wobbe B, Szabo D, Wagner J, **Hartmann P**: Compared efficacy of preservation solutions on the outcome of liver transplantation: Meta-analysis. WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 2018; 24(16): 1812-1824.

Solymár M, Ivic I, Pótó L, Hegyi P, Garami A, **Hartmann P**, Pétervári E, Czopf L, Hussain A, Gyöngyi Z, Sarlós P, Simon M, Mátrai P, Bérczi B, Balaskó M: Metformin induces significant reduction of body weight, total cholesterol and LDL levels in the elderly - A meta-analysis 2018; PLOS ONE 13(11): e0207947

Olah E, Poto L, Hegyi P, Szabo I, **Hartmann P**, Solymar M, Petervari E, Balasko M, Habon T, Rumbus Z, Tenk J, Rostas I, Weinberg J, Romanovsky AA, Garami A: Therapeutic Whole-Body Hypothermia Reduces Death in Severe Traumatic Brain Injury if the Cooling Index Is Sufficiently High: Meta-Analyses of the Effect of Single Cooling Parameters and Their Integrated Measure. JOURNAL OF NEUROTRAUMA 2018; 35(22): 2407-2417.

Németh N, Mátrai P, Hegyi P, Czéh B, Czopf L, Hussain A Pammer J, Szabó I, Solymár M, Kiss L, **Hartmann P**, Szilágyi ÁL, Kiss Z, Simon M: Theory of mind disturbances in borderline personality disorder: A meta-analysis. PSYCHIATRY RESEARCH 2018; 270: 143-153.

Jaromi P, Garab D, **Hartmann P**, Bodnar D, Nyiri S, Santha P, Boros M, Jancso G, Szabo A: Capsaicin-induced rapid neutrophil leukocyte activation in the rat urinary bladder microcirculatory bed. NEUROUROLOGY AND URODYNAMICS 2018; 37(2): 690-698.

Demcsák A, Lantos T, Bálint ER, **Hartmann P**, Vincze Á, Bajor J, Czopf L, Alizadeh H, Gyöngyi Z, Márta K, Mikó A, Szakács Z, Pécsi D, Hegyi P, Szabó IL: PPIs Are Not Responsible for Elevating Cardiovascular Risk in Patients on Clopidogrel—A Systematic Review and Meta-analysis. FRONTIERS IN PHYSIOLOGY 2018; 9: 1550

Varga P, Vida N, **Hartmann P**, Szabó A, Mohácsi Á, Szabó G, Boros M, Tuboly E: Alternative methanogenesis - Methanogenic potential of organosulfur administration PLOS ONE 2020; 15(7): e0236578

Váncsa S, Hegyi PJ, Zádori N, Szakó L, Vörhendi N, Ocskay K, Földi M, Dembrovszky F, Dömötör RZ, Jánosi KF, Rakonczay Z, **Hartmann P**, Horváth T, Erőss B, Kiss S, Szakács Z, Németh D, Hegyi P, Pár G, Szakó L, KETLAK Study Group (Kollaborációs szervezet): Pre-existing liver diseases and on-admission liver-related laboratory tests in COVID-19: a prognostic accuracy meta-analysis with systematic review. FRONTIERS IN MEDICINE 21020; 7: 572115

Jávor P, Varga E, Fekete K, Toth F, **Hartmann P**: Novel coronavirus and trauma surgery: successful infection control from a level I trauma centre. EUROPEAN JOURNAL OF TRAUMA AND EMERGENCY SURGERY 2020; 46(4): 737-741.

Horváth T, Hanák L, Hegyi P, Butt E, Solymár M, Szűcs Á, Varga O, Thien BQ, Szakács Z, Csonka E, **Hartmann P**: Hydroxyapatite-coated implants provide better fixation in total knee arthroplasty. A meta-analysis of randomized controlled trials. PLOS ONE 2020; 15:5 e0232378

Földi M, Farkas K, Kiss S Zádori N, Váncsa S, Szakó L, Dembrovszky F, Solymár M, Bartalis E, Szakács Z, **Hartmann P**, Pár G, Erőss B, Molnár Z, Hegyi P, Szentesi A, KETLAK Study Group (Kollaborációs szervezet): Obesity is a Risk Factor for Developing Critical Condition in COVID-19 Patients: a Systematic Review and Meta-analysis. OBESITY REVIEWS 2020; 21:10 e13095

Erős A, Soós A, Hegyi P, Szakács Z, Benke M, Szűcs Á, **Hartmann P**, Erőss B, Sarlós P: Sarcopenia as an independent predictor of the surgical outcomes of patients with inflammatory bowel disease: a meta-analysis. SURGERY TODAY 2020; 50(10): 1138-1150.

Wobbe B, Wagner J, Szabó DK, Rostás I, Farkas N, Garami A, Balaskó M, **Hartmann P**, Solymár M, Tenk J, Ottóffy M, Nagy A, Habon T, Hegyi P, Czopf L: Ultrafiltration is better than diuretic therapy for volume-overloaded. HEART FAILURE REVIEWS 2021; 26(3): 577-585. 9 p.

Török L, Jávör P, **Hartmann P**, Bánki L, Varga E: Should we abandon the patient-specific instrumentation ship in total knee arthroplasty? Not quite yet! BMC MUSCULOSKELETAL DISORDERS 2021; 22(1): 730

Jávör P, Csonka E, Török L, **Hartmann P**, Varga E: Trauma regiszterek tervezésének áttekintése: Javaslatok egy magyar trauma regiszter létrehozásához. MAGYAR TRAUMATOLÓGIA ORTOPÉDIA KÉZSEBÉSZET PLASZTIKAI SEBÉSZET 2021; 64(1-4): 7-16.

Horváth T, Jász DK, Baráth B, Poles MZ, Boros M, **Hartmann P**: Mitochondrial Consequences of Organ Preservation Techniques During Liver Transplantation. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 2021; 22(6): 2816

Török L, Jávör P, Török K, Ráosi F, **Hartmann P**: Early Return to Play After Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: Is It Worth the Risk? ANNALS OF REHABILITATION MEDICINE 2022; 46(2): 97-107.

Lantos J, Németh T, Barta Z, Szabó Z, Paróczai D, Varga E, **Hartmann P**: Pathophysiological Advantages of Spontaneous Ventilation. FRONTIERS IN SURGERY 2022; 9: 822560

Lantos J, Furák J, Zombori-Tóth N, Zombori T, Bihari K, Varga E, **Hartmann P**: A csecsemőmirigy T-sejtjeinek összetételében létrejövő változások a COVID-19-pandémia alatt [Changes of the T cell composition in the thymus during the COVID-19 pandemic]. ORVOSI HETILAP 2022; 163(52) 2062-2066.

Jávör P, Mácsai A, Butt E, Baráth B, Jász DK, Horváth T, Baráth B, Csonka Á, Török L, Varga E, **Hartmann P**: Mitochondrial Dysfunction Affects the Synovium of Patients with Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis Differently. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES 2022; 23(14): 7553

Jávor P, Rárosi F, Horváth T, Török L, Varga E, **Hartmann P**: Detection of exhaled methane levels for monitoring trauma-related haemorrhage following blunt trauma: study protocol for a prospective observational study. *BMJ OPEN* 2022; 12(7): e057872

Baráth B, Jász DK., Horváth T, Baráth B, Maróti G, Strifler G, Varga G, Sándor L, Perényi D, Tallósy S, Donka T, Jávor P, Boros M, **Hartmann P**: Mitochondrial Side Effects of Surgical Prophylactic Antibiotics Ceftriaxone and Rifaximin Lead to Bowel Mucosal Damage. *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES* 2022; 23(9): 5064

Jávor P, Rárosi F, Horváth T, Török L, **Hartmann P**: Mitochondrial Dysfunction in Trauma-Related Coagulopathy: Is There Causality? Study Protocol for a Prospective Observational Study. *EUROPEAN SURGICAL RESEARCH* 2023; 64(2): 304-309.

Jávor P, Donka T, Horváth T, Sándor L, Török L, Szabó A, **Hartmann P**: Impairment of Mesenteric Perfusion as a Marker of Major Bleeding in Trauma Patients. *JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE* 2023; 12(10): 3571

Csete K, Baráth B, Sándor L, Holovic H, Mátrai P, Török L, **Hartmann P**: Does Combined Reconstruction of the Medial Collateral and Anterior Cruciate Ligaments Provide Better Knee Function? A Systematic Review and Meta-Analysis. *JOURNAL OF CLINICAL MEDICINE* 2024; 13(13): 3882

Kurokawa T, Csete K, Jávor P, Sándor L, Baráth B, Holovic H, Török L, Hartmann P: Anterior cruciate ligament reconstruction in the elderly: 5-Year follow-up study. *INJURY: INTERNATIONAL JOURNAL OF THE CARE OF THE INJURED* 2024; 55(Suppl. 3): 111529

Könyv (Könyvfejezet)

Hartmann P, Varga G: Sebészet: Aszepszis és antiszepszis gyakorlata; higiénés kézmosás, a műtői személyzet bemosakodása, beöltözése; viselkedés és mozgás a műtőben, steril környezetben. In: Dénes, Tamás; Hamar, Attila; Horváth, Kitti; Kovács, Rita; Maróti, Péter (szerk.) Módszertani kézikönyv skill képzésekhez. Budapest, Magyarország: Állami Egészségügyi Ellátó Központ (2019) 670 p. pp. 208-213., 16 p.

Oláh J, **Hartmann P**: Bőrgyógyászat: Bőrsébsészet (benignus-elváltozások eltávolítása, lipómák, ciszták). In: Dénes, Tamás; Hamar, Attila; Horváth, Kitti; Kovács, Rita; Maróti, Péter (szerk.) Módszertani kézikönyv skill képzésekhez. Budapest, Magyarország: Állami Egészségügyi Ellátó Központ (2019) 670 p. pp. 324-327., 4 p.

Tuboly E, **Hartmann P**: Sebészet: Műtétek – a helyi érzéstelenítés alapjai; kötések, kötéstípusok. In: Dénes, Tamás; Hamar, Attila; Horváth, Kitti; Kovács, Rita; Maróti, Péter (szerk.) Módszertani kézikönyv skill képzésekhez. Budapest, Magyarország: Állami Egészségügyi Ellátó Központ (2019) 670 p. pp. 231-239., 9 p.

Szabadalom

Erős G, Hartmann P, Degovics D, Kemény L: Pharmaceutical composition comprising a ryanodine receptor antagonist for facilitating wound healing. Benyújtás éve (szabadalom): 2013, Benyújtás száma: P1300720, Benyújtás országa: Magyarország

8 SZCIENTOMETRIA

Hartmann Petra tudományos és oktatói munkásságának összefoglalása (2025.03.30)
MTA V. Orvosi Tudományok Osztálya

Tudományos közlemények	Szám		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Tudományos folyóiratszócikk²	<u>57</u>			
szócikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű		<u>41</u>	<u>566</u>	<u>675</u>
szócikk hazai idegen nyelvű		0	0	0
szócikk magyar nyelvű		<u>4</u>	<u>2</u>	<u>2</u>
szócikk sokszerzős, érdemi szerzőként ³		<u>2</u>	<u>213</u>	<u>218</u>
összefoglaló közlemény		<u>9</u>	<u>190</u>	<u>203</u>
rövid közlemény		<u>1</u>	<u>6</u>	<u>6</u>
II. Könyvek	0			
a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként	0			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv		0	0	0
b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként	0			
idegen nyelvű		0		
magyar nyelvű		0		
bb) Felsőoktatási tankönyv		0		
III. Könyvrészlet	0			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvrészlet		0	0	0
IV. Konferenciaközlemény⁴	0		0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)		0	0	0
Tudományos közlemények összesen (I-IV)		<u>57</u>	<u>977</u>	<u>1104</u>
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)	<u>57</u>		<u>977</u>	<u>1104</u>
V. További tudományos művek	<u>12</u>			
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratban megjelent teljes folyóiratcikket is		<u>11</u>	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		0	0	0
Összetevők (szabadalmak)		<u>1</u>	0	0
VI. Hivatkozott absztraktok⁵	<u>2</u>		<u>4</u>	<u>4</u>
Összes hivatkozás¹			<u>981</u>	<u>1108</u>
Hirsch index⁶	<u>18</u>			
g index⁶	<u>32</u>			

Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	<u>6</u>	<u>124</u>
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma ²	<u>27</u>	<u>210</u>
A tudományos fokozat (PhD 2011) elnyerése utáni teljes tudományos folyóiratcikkek száma	<u>51</u>	<u>975</u>
Az utolsó 10 év (2015-) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkek száma	<u>45</u>	<u>905</u>
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	<u>201</u>	18,14%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben		<u>92</u>
Jelentés, guideline	<u>1</u>	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	0	0

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni mély hálámat mindazoknak, akik az elmúlt közel 20 év során támogattak, inspiráltak, és szakmai segítséget nyújtottak kutatómunkám során. Különösen hálás vagyok a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Műtéttani Intézetének, ahova 2007-ben első gyermekem születése után kerültem, az akkor 3 éve tartó ortopédia-traumatológia szakképzésem megszakításával.

Legnagyobb köszönettel Dr. Szabó Andrea Tanárnőnek tartozom, aki életem egy kritikus időszakában bizalmat szavazott nekem, annak ellenére, hogy korábban nem volt érdemi tudományos tevékenységem. Lehetőséget adott, hogy PhD-hallgatóként csatlakozzam a mikrokeringési kutatócsoportjához, és nemcsak a kísérletek technikai kivitelezésére tanított meg, hanem arra a tudományos gondolkodásmódra is, amelynek alapelveit a mai napig követem a kutatómunka tervezésében és az eredmények értékelésében. Ezért a tanításáért örökké hálás leszek.

Külön köszönetet mondok Boros Mihály Professzor Úrnak, aki lehetővé tette számomra, hogy elméleti intézeti munkám mellett befejezhessem a szakképzésemet, majd a szakvizsgám után párhuzamosan gyakorolhassam orvosi hivatásomat is. Hálás vagyok a Sebészeti Műtéttani Intézet akkori és jelenlegi munkatársainak, akik önzetlen munkájukkal és támogatásukkal segítettek.

PhD fokozatom megszerzése (2011) után visszatértem a Traumatológiai Klinikára, hogy a szakvizsgálathoz szükséges gyakorlati időmet megszerezze, majd megbízási szerződéssel folytattam a munkát. Kis megszakítással, második gyermekem születése miatt, végül 2021 óta ismét főállású munkatársként dolgozom itt.

Hálásan köszönöm Varga Endre Professzor Úr támogatását, aki révén bekapcsolódhattam a klinikai kutatásokba, és a mai napig fordulhatok hozzá kérdéseimmel. Klinikánk jelenlegi vezetőjének, Török László Tanár Úrnak szintén köszönettel tartozom, hogy szívügyének tekinti a klinikai kutatásokat és biztos háttérként segíti kutatásainkat, megteremtve ehhez a szükséges feltételeket és időt a munkatársak számára.

Hálával tartozom PhD és TDK hallgatóimnak, akik nemcsak tanítványaim, hanem teljes értékű kutatótársaim is voltak. Szerencsésnek érzem magam, hogy ilyen tehetséges, kreatív és szabadon gondolkodó emberekkel dolgozhattam együtt. Kutatásaim sikeréhez mindig az ő lelkesedésük, szorgalmuk és munkájuk járult hozzá.

Végül, de nem utolsósorban, szívből köszönöm családomnak, férjemnek, Dr. Rakonczay Zoltánnak, valamint gyermekeimnek, Dorottyának és Zitának, akik mindig szeretettel és odaadással támogattak pályám során. Nélkülük ez a munka nem valósulhatott volna meg.

A Doktori műben bemutatott kutatásokat közvetlenül segítő főbb támogatások:

OTKA60752 (Szabó A.), OTKA75161 (Boros M);

OTKA109388 (Szabó A), OTKA116689 (Kaszaki J), OTKA 120232 (Boros M)

OTKA FK138839 (Hartmann P); MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (2021-2023, Hartmann P); „MTA doktora cím megszerzésére szükséges értekezés megírásának támogatására 14 év alatti gyermeket nevelő kutató számára” címmel kiírt ösztöndíj (2024, Hartmann P)