

**A kísérletes végtag ischaemia-reperfúzió gyulladásos
következményei. Terápiás lehetőségek**

Dr. Varga Renáta

PhD Tézis

**Sebészeti Műtéttani Intézet
Szegedi Tudományegyetem**

2009

Szeged

Bevezetés

A civilizáció egyik következménye a széleskörű motorizáció, melynek következtében globálisan megnőtt a súlyos végtagsérülések száma. A traumatológiai beavatkozások egy része vértelenségben, tourniquet alkalmazásával történik, így a végtag hipoperfúzió-reperfúzió e műtétek általános velejárója. A törések mellett radikális tumor resectiók is okozhatnak csontdefektust, és a rekonstrukció, vagy az autotranszplantáció keringési következményei is lényegileg hasonlóak. E folyamatokban a csonton kívül természetesen a csonthártya is érintett, és e szöveti struktúra szoros összefüggésben áll a különböző csontgyógyulási zavarokkal (pseudoarthrosis, sequester képződés).

E beavatkozások során átmeneti, lokális végtag ischaemia jön létre. A hipoperfúziós fázist követő reperfúzió, vagyis a vérrellátás megfelelő visszaállása azonban az egyre tökéletesedő sebészi technikák ellenére sem jár mindig megfelelő eredménnyel. Ennek oka a hipoxiás fázist követő reperfúziós – gyulladásos jelenségek kaszkádszerű aktiválódása, melyek kóros biokémiai és mikrokeringési változásokat egyaránt magukban foglalnak. Ma már jól ismert tény, hogy a keringés újraindulását követő ischaemia-reperfúziós (I-R) kóréletteni folyamat végül lokális és távoli szövetkárosodásokhoz vezethet.

A mikrokeringési gyulladás során a reperfúzió első perceiben jelentős mértékben fokozódik a leukociták endotheliumhoz való kitapadása, és az adhézió emelkedett marad órákon keresztül. Számos adhéziós molekula jelenik meg a polymorphonukleáris leukociták (PMN) felszínén és/vagy az endothel sejteken, köztük az immunoglobulin-szerű adhéziós molekulák (ICAM-1, PECAM-1, VCAM-1), integrinek (CD11/CD18) és szelektinek (E-, P-, L-selectin), melyek a PMN akkumuláció folyamatának egyes lépéseit szabályozzák. Az I-R során olyan szolubilis kemotaktikus mediátorok is felszabadulnak, melyek a károsodás mértékétől függő direkt hatást gyakorolnak a PMN akkumulációra.

Habár az I-R károsodás mikrokeringési gyulladásos következményei jól ismertek, a csonthártyában létrejövő változások még nem tisztázódtak. Kísérleteink általános célja tehát az volt, hogy egy klinikailag releváns állatmodellben jellemezzük a postischaemiás csonthártya mikrokeringési gyulladásos reakcióit.

Kísérleteink első részében az ischaemiás prekondicionálást (IPC) hatékonyságát vizsgálatuk a csonthártya mikrokeringési szintű változásaiban. Az IPC definíció szerint rövid ischaemiás periódus ismételt szakaszait jelenti, mellyel jelentősen növelhető a súlyos ischaemiás inzultus következményei elleni rezisztencia (Murry és mtsai 1986). Az is ismert, hogy a lokális hatások mellett távoli szövetvédelem is létrehozható a vese, bél vagy más

szervek rövid periódusokban alkalmazott artériás okklúziójával. Humán körülmények között a végtag IPC könnyen kivitelezhető, a sebészi komplikáció várható kockázata alacsony, és a hatalmas szövetmennyiség elméletileg megfelelő stimulust biztosíthat az IPC kialakulásához. Feltételeztük tehát, hogy a végtag IPC lokális és távoli hatásai potenciális megelőző - terápiás lehetőséget biztosíthatnak a traumatológiában is.

A kísérletek második sorozatában a foszfatidilkolin (PC) kezelés hatékonyságát vizsgáltuk. Korábbi vizsgálati eredmények utaltak arra, hogy az I-R folyamatához fizikai membrán defektus, PC degradáció és az endogén PC források kimerülése társul (Bruhl és mtsai 2004). Ezek az adatok azt is sugallták, hogy a PC, mint mindenütt jelenlévő membránképző entitás, a kóros ingerek hatására depletálódhat, és az endogén PC raktárak feltöltése ezzel ellentétes, kedvező hatású lehet (Jones és mtsai 1989). A csont esetében azt is kimutatták, hogy az endogén PC számos élettani folyamatot befolyásolhat, így szabályozza a csontképződés indukcióját, a reszorpciót valamint a kalcifikációt is. A PC szerepe a végtag ischaemiával járó kórállapotok vonatkozásában azonban korábban nem volt ismert.

A harmadik tanulmányban különböző kolloid oldatok mikrokeringésre gyakorolt hatását vizsgáltuk. A folyadék reszuszcitáció általános, fő célja a szöveti perfúzió hatékony visszaállítása és fenntartása. Ennek során a krisztalloid és kolloid oldatok számos kombinációban nyertek teret; a kolloidok előnye a krisztalloidokkal szemben a tartós keringés-javító hatás (Hoffmann JN és mtsai 2002, Marx G és mtsai 2004) és gyulladáscsökkentő aktivitás (Lang K és mtsai 2003, Tian J és mtsai 2004). Számos kísérletes és klinikai adat támasztja alá a makrohemodinamikai válaszokban létrejövő különbségeken kívül a szöveti reoxigenációban (Rittoo D és mtsai 2004) és a mikrokeringési gyulladáscsökkentő reakciókban megnyilvánuló védő hatásokat is (Kaplan SS és mtsai 2000, Jaeger K és mtsai 2001, Feng X és mtsai 2007). A gyulladáscsökkentő hatások és a mikrokeringési következmények egymással összefüggő események. A PMN leukociták adhéziójának kialakulásának megszakítása elméletileg javítja, vagy megakadályozza a mikrokeringési diszfunkció kialakulását és a hipoperfundált szövetek károsodását is. Korábban kimutatták, hogy a mesterséges kolloid oldatok mérséklék a hypoxia indukálta endothel sejt diszfunkciót és megakadályozzák az adhéziós molekulák expresszióját, melyek szerepet játszanak a leukocita-endothel sejt interakciók kialakulásában (Kaplan SS és mtsai 2000, Steinbauer M és mtsai 1998). Kevés *in vivo* áll azonban rendelkezésre, melyben a különböző mesterséges kolloid oldatok (dextran (DEX); alacsony molekulásúlyú hidroxietil keményítő (HES) és a zselatin (GEL)) mikrokeringésre gyakorolt hatását hasonlítja össze.

Célkitűzések

Célunk az I-R lokális, csonthártyára gyakorolt mikrokeringési gyulladással szembevetésének vizsgálata volt, átmeneti végtag ischaemia állatkísérletes modelljében. A tanulmányok során különböző terápiás lehetőségek alkalmazásának hatékonyságát vizsgáltuk a lokális periostealis leukocita-endothel sejt interakciók változására, és a folyamatban szerepet játszó adhéziós molekulák expressziójára kifejtett hatásuk szempontjából.

I. Tanulmány: Kísérleteink elsődleges célja az IPC által létrehozott lokális mikrokeringési védelem mértékének megismerése volt kísérletes végtag I-R modellben intravitális videómikroszkóp alkalmazásával, patkányon. További célul tűztük ki a lokális ischaemiás trigger által kiváltott szisztémás gyulladással szembevetésének vizsgálatát, valamint az IPC indukált védelem mértékének meghatározását.

II. Tanulmány: Kísérletes vizsgálataink második célja az I-R által kiváltott gyulladással szembevetésének befolyásolása volt exogén PC adásával. Kísérleteinkben intravitális fluoreszcens videómikroszkópiát alkalmaztunk a csonthártya mikrokeringési változások *in vivo* megjelenítésére. Megvizsgáltuk az I-R károsodás alatt a csonthártyában kialakuló leukocita reakció minőségi és időbeli változását, valamint a csontot határoló vázizomzatban bekövetkező hízósejt degranuláció mértékét.

III. Tanulmány: Harmadsorban célul tűztük ki a DEX (6%; 60 kDa MW), az alacsony molekulású HES (6%; 130 kDa/0.4) és a GEL (4%; 35 kDa) pleiotrop hatékonyságának összehasonlító jellemzését a csonthártya mikrokeringési szintű PMN reakciókra gyakorolt hatásuk alapján, *in vivo* mikroszkópos módszereket alkalmazva.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat patkányokon végeztük (átlag súly 300 ± 20 g) a NIH irányelveinek megfelelően (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals), a kísérleteket a Szegedi Tudományegyetem Állatvédő Etikai Bizottságának engedélyével.

Kísérleti protokoll

I. Tanulmány

Ezen kísérletek során az IPC végtag ischaemia-reperfúzió által kiváltott mikrokeringési gyulladáshoz kapcsolódó reakciókra gyakorolt hatásait vizsgáltuk két kísérlet-sorozatban Sprague-Dawley patkányokon. Az első sorozatban az I-R által indukált mikrokeringési változásokat határoztuk meg a tibia csontthártyában. Mivel a fluoreszcens technika interferál a CD11b molekula expresszió változás vizsgálatával, egy második sorozatban történtek azok a vérvételek, melyek a különböző adhéziós molekulák (sICAM-1 és CD11b) detektálására szolgálnak.

Az első sorozatban az első csoport álműtött kontrollként szolgált (SH, n=8), a másodikban IPC-t (10 perc teljes hátsóvégtag ischaemiát 10 perc reperfúzió követett, 2 ciklusban) kombináltuk az álműtött protokollal (IPC+SH, n=6). Az ischaemiát az a. femoralisra felhelyezett miniklip és tourniquet együttes alkalmazásával hoztuk létre. A harmadik csoportban (IR, n=11) 60 perc teljes végtag ischaemiát idéztünk elő, melyet 180 perc reperfúzió követett. Az állatok negyedik csoportjában IPC-t kombináltuk ischaemia-reperfúzióval (IPC+IR, n=9).

A második sorozatban a kontroll állapotban és a reperfúzió 120. és 180 percében EDTA tartalmú csövekbe történt a szolubilis ICAM-1 és CD11b molekulák meghatározására (n=6-14).

II. Tanulmány

Ezekben a kísérletekben az exogén PC hatását vizsgáltuk a periosteum mikrokeringési és a környező izom biokémiai reakcióira teljes végtag I-R során. Ebben a sorozatban az első két csoport álműtött, hordozóanyaggal (SH, n=7) vagy PC-vel kezelt (SH+PC, n=6) kontrollként szolgált, míg a másik két csoportban a fent ismertetett módon ischaemiát hoztunk létre hordozóanyag (IR (n=7) vagy PC oldat (IR+PC, n=6, 50 mg kg⁻¹) intravénás adása mellett a reperfúzió elején. A kísérletek végén a környező izomból (m. gracilis anterior) biopsziákat vettünk biokémiai és szövettani analízis céljából.

III. Tanulmány

Kísérleteink harmadik csoportjában különböző klinikailag alkalmazott kolloid oldatok I-R által kiváltott gyulladáshoz kapcsolódó reakcióira gyakorolt hatásait vizsgáltuk. Az első csoport álműtött kontrollként szolgált (n=10), ahol Ringer-laktát oldatot (LR) adtunk az állatoknak. A második csoportban I-R-t hoztunk létre a korábban leírtak szerint. A 2-5 csoportokban LR (n=10), GEL (Gelofusine 4%; 35 kDa; n=6), DEX (Macrodex 6%; 60 kDa; n=9) vagy HES (Voluven 6%; 130 kDa/0.4; n=8) 15 ml kg⁻¹h⁻¹ dózisban iv, az ischaemia utolsó 10.percében

elkezdve. A dózis az reperfüzió első órájában változatlan volt, majd a reperfüzió 2. és 3. órájában $5 \text{ ml kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ -ra csökkentettük. A második sorozatban a korábban leírtak szerint vérvétel történt a sICAM-1 és CD11b adhéziós molekulák meghatározására (n=6-12).

Sebészi előkészítés, a tibia csonthártya preparálása

Kísérleteinket hím patkányokon (átlagos testsúly $300 \pm 20 \text{ gr}$) végeztük Napentobarbital anesztéziában (45 mg/kg ip). Az állatokat véletlenszerűen 4 kísérleti csoportba (n=26) osztottunk. A jobb jugularis vénát és carotis artériát kiproparáltuk és kanüláltuk, a laboratóriumi vizsgálatok és a parenterális folyadékpótlás, valamint a folyamatos artériás vérnyomásmérés (Statham P23 Db transducer) céljából. Az állatokat háton fekvő helyzetben fűtőpadra helyeztük, a testhőmérsékletet állandóan $36\text{-}37 \text{ }^\circ\text{C}$ -on tartottuk, a kísérlet során folyamatosan $10 \text{ ml tskg}^{-1}\text{h}^{-1}$ Ringer-laktát infúziót, valamint időnként kis adag Napentobarbitál kaptak. A tracheát intubáltuk a légzés biztosítása céljából; a jobb oldali femoralis artériát, valamint a jobb tibia medialis felszínén lévő csonthártyát operációs mikroszkóp segítségével (Zeiss 6x nagyítás), atraumatikus sebészi technika kiproparáltuk, alkalmazásával a m. gracilis anterior és posterior átvágása révén tettük láthatóvá.

Intravitális videómikroszkópia, videó analízis

A tibia mikrokeringésének vizsgálatát Zeiss AxioTech Vario 100HD típusú intravitális mikroszkóp segítségével fluorescein isothiocyanat-tal jelzett vörösvérsejtek és rhodamine-6G-vel jelzett leukocyták révén végeztük. A mikroszkópot CCD kamera révén egy S-VHS videorekorderhez kapcsoltuk és a mikrokeringés változásait rögzítettük kontroll állapotban, majd a reperfüzió 30, 60, 120 és 180. percében. A mikrokeringési paramétereket számítógépes software segítségével „*off-line*” analizáltuk. (A kitapadt leukocyták száma, vagyis azok a sejtek, amik nem mutatnak mozgást az endothelsejtek felszínén 30 s alatt (sejtszám mm^{-2}), a rollingot (gördülést) mutató leukocyták aránya, vagyis olyan leukocyták száma (II.-III. Tanulmány) vagy százalékos aránya (I. Tanulmány), melyek nem érték el a középvezetékben haladó vörösvérsejtek sebességének 40% -át.

A CD11b adhéziós molekula áramlási citometriás meghatározása

A CD11b adhéziós molekula sejtfelszíni expresszióját a perifériás vérben található granulocytákon határozzuk meg teljes vér flow-citometriával (Keresztes M és mtsai 2007).

A szolubilis ICAM-1 szint meghatározása

A plazma sICAM-1 szinteket Quantikine sICAM-1-ELISA Kit-tel határoztuk meg (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN), a gyári instrukcióknak megfelelően.

A szöveti ICAM-1 expresszió immunohisztokémiai analízise

A kísérlet végén izomszövetrel együtt a tibiát eltávolítottuk, majd formalinban fixáltuk 48 óráig. A mintákat ezután dekalcifikáltuk (Sakura TDE30; Sakura Finetek Corp. USA), elektroforetikus apparátussal, majd paraffinba ágyasztuk, a mintákat egér monoklonális ICAM-1 antitesttel (BD Pharmingen, BD Biosciences, San Jose, CA) inkubáltuk (1:200; 30 min). A másodlagos ellenanyaggal való kötést tormaperoxidáz-diaminobenzidin reakcióval tettük láthatóvá. Az ICAM-1 szemikvantitatív meghatározása az immunpozitív erek százalékos előfordulási arányával történt.

Mieloperoxidáz meghatározás

A postischaemiás izomszövetből meghatároztuk a mieloperoxidáz (MPO) enzimaktivitást Kübler és mtsai módszerével (1996), a PMN eukocyták szöveti akkumulációjának vizsgálata céljából.

A hízósejt degranuláció hisztológiai vizsgálata

A kísérletek végén izomszövetből mintavétel történt, a minták kezelése és festése Szabó és mtsai által leírtak (*Shock* 1997) szerint történt.

Statisztikai analízis

Eredményeink kiértékeléséhez statisztikai analízisként nem paraméteres tesztek alkalmaztunk.

Eredmények

Az IPC lokális gyulladáscsökkentő hatása a postischaemiás csonthártyában

A gördülő leukociták száma jelentősen emelkedett ischaemiát követően a reperfüzió kezdeti szakaszában és fokozott PMN kitapadás volt megfigyelhető a reperfüzió 120. és 180. percében az I-R csoportban. IPC kivédte az I-R-indukált emelkedést mindkét paraméter esetében, míg önmagában nem okozott fokozott leukocita gördülést vagy kitapadást.

Az IPC által csökkentett szisztémás gyulladáshoz vezető reakciók végtag ischaemiát követően

A CD11b adhéziós molekula expresszió mintegy kétszeres emelkedést mutatott az I-R csoportban, ahol az IPC kivédte ezt az emelkedést, önmagában azonban nem befolyásolta a változást.

A szolubilis ICAM-1 adhéziós molekula vizsgálata során, habár nagy esetszámmal dolgoztunk, az eredmények nagy szórást mutattak, az I-R csoportban sem lehetett szignifikáns különbséget kimutatni.

A szöveti ICAM-1 denzitás szignifikánsan emelkedett az I-R csoportban az álműtöthöz képest, az IPC nem befolyásolta ezt a növekedést.

A PC kezelés lokális gyulladáscsökkentő hatása a postischaemiás csontthártyában

A 60 perces ischaemiát követő reperfúzió alatt szignifikáns emelkedést figyeltünk meg mind az elsődleges, mind a másodlagos leukocita-endothel sejt interakciókban. Mind a gördülő leukociták százalékos aránya, mind a kitapadást mutatók száma jelentősen növekedett (20.8%-ról, 34.4% és 40.0%-ra) a reperfúzió 120 és 180. percére. A PC hatására ezen értékek mindvégig szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint az I-R csoportban.

Az PC által javított gyulladási reakciók egyéb jelei végtag ischaemiát követően

Az izom MPO aktivitás mintegy háromszorosára emelkedett, a degranulációt mutató hízósejtek aránya pedig 7,6%-ról 82,5%-ra nőtt az I-R hatására. A PC kezelés mindkét változást szignifikánsan mérsékelte.

A kolloid oldatok lokális gyulladáscsökkentő hatása a postischemiás csontthártyában

Az I-R csoportban mind a rolling, mind a sticking szignifikáns emelkedést mutatott reperfúzió különböző időpontjaiban (a szoros adhézió 140 mm^{-2} -ről 1000 mm^{-2} -re változott a reperfúzió 120. percében). A PMN rolling postischaemiás emelkedését a különböző kezelések nem befolyásolták jelentősen, de a HES kezelés mérsékelt javulással járt a reperfúzió későbbi szakaszaiban. A HES kivédte I-R által létrehozott emelkedést kitapadásban. A reperfúzió során átmeneti javulás volt megfigyelhető a GEL és DEX kezelt csoportokban.

A különböző kolloid oldatok által javított szisztémás gyulladási reakciók végtag ischaemiát követően

A CD11b adhéziós molekula expressziója mintegy kétszeresére emelkedett az LR kezelt I-R csoportban a reperfúzió 120. és 180. percében. Hasonló emelkedés volt megfigyelhető a DEX és GEL-lel kezelt csoportokban, míg a HES kezelés szignifikánsan csökkentette az

emelkedést. A szolubilis ICAM-1 molekula szint nem emelkedett az I-R csoportban, ám a GEL kezelés után a reperfüzió 180. percében jelentősen növekedett.

Megbeszélés

A különböző terápiás lehetőségek leukocita-endothel sejt reakciókra gyakorolt hatásai

A csonthártya mikrokeringésének helyreállítása elengedhetetlen a fertőzés megelőzésében vagy a mikrovaszkuláris csontgraftok túlélésében. Kísérleteinkben teljes végtag I-R során a csonthártyában mikrokeringési diszfunkció, a környező izmokban pedig jelentős hízósejt degranuláció jött létre. Habár a teljes vaszkuláris okklúzió az érintett végtagon keringési zavart hoz létre a csonthártyában, a környező izmok ischaemiás érzékenysége sokkal alacsonyabb. Modellünkben a lokális károsodás hatására az elsődleges és másodlagos leukocita-endothel sejt interakciók jelentős mértékben emelkednek a csonthártya posztkapilláris venuláiban reperfüzió során. Ezen reakciókat IVM segítségével kvantifikálni lehet, és a különböző terápiás lehetőségek így objektíven összehasonlíthatóvá válnak.

Elsőként a végtag IPC hatásait vizsgáltuk, mely könnyen kivitelezhető és alacsony rizikójú terápiás lehetőség lehet. Kimutattuk, hogy az IPC közvetlenül vagy közvetve a PMN reakciókon keresztül befolyásolhatja az endothelium működését, kísérleteinkben az IPC hatékonyan csökkentette az I-R károsodás lokális jeleit a csonthártya mikrokeringésében.

A komplex gyulladáshoz vezető reakciókat a PC kezelés is hatékonyan javította, bár ez más úton valósult meg. A PC a szervezet egyik leggyakrabban előforduló komponense, ezért felvetődik, hogy a jelen hatás hátterében is a membránraktárak részleges helyreállítása áll. Kimutatták, hogy noxák hatására a foszfolipáz-D aktiválódás szerepet játszik olyan membrán alkotórészek lebomlásában (és ezáltal biológiai hozzáférhetőségének csökkenéséhez) (Exton és mtsai 1999, Hansen és mtsai 2000), melyek endogén védő szerepet játszhatnak az I-R-hoz társuló oxido-reduktív stressz hatásainak ellensúlyozásában (Ghyczy és mtsai 2001). Éppen ezért a PC kezelés szubsztrátot biztosít ezen enzimrendszernek, és feltételezhetően nem maga a PC, hanem annak metabolitjai fejtenek ki védő hatást intracelluláris szinten. A PC kezelés csökkentette a hízósejt degranulációt, mely összefüggésben állhat a gyulladáshoz vezető reakciók kialakulásával, és a csökkent PMN akkumulációval a végtag ischaemiát követően.

A harmadik kísérletsorozatban különböző kolloid oldatok (DEX, HES és GEL) alkalmazási lehetőségeit vizsgáltuk az I-R következtében kialakuló mikrokeringési zavarokra és gyulladáshoz vezető reakciókra. Az oldatok közül csak a HES kezelés hatására javultak lényegesen

a mikrokeringési gyulladási reakciók, s ebben a szer speciális molekuláris tulajdonságai játszhatnak szerepet.

A különböző terápiás lehetőségek az adhéziós molekulák expressziójára gyakorolt

hatásai

Kísérleteink egyik fontos megállapítása, hogy végtag I-R hatására a CD11b expresszió jelentősen fokozódik, mely a PMN leukociták szisztémás gyulladási aktiválódására utal. Ez a megfigyelés arra is felhívja a figyelmet, hogy olyan traumatológiai beavatkozások, amelyeknél végtag ischaemia jön létre, potenciálisan szisztémás gyulladási szövődeményekkel járhatnak. A leukocita-endothel sejt interakciók második lépését, vagyis az adhéziót az integrinek mediálják. Tanulmányainkban a PMN felszínén megjelenő CD11b-t és e molekula endotheliális ligandját, az ICAM-1 adhéziós molekulát vizsgáltuk. Az IPC hatására csökkent a lokális gyulladási reakciók (rolling és sticking) a csonthártyában, de emellett az eljárás a szisztémás paramétereket is befolyásolta, ugyanis csökkentette a CD11b expressziót. A CD11b endotheliális ligandja, az ICAM-1, a PMN migrációs folyamat indukálható transzmembrán fehérjéje. Szolubilis formájának megjelenése arányos a sejt felszín (endothelsejt) expressziójával, így alkalmas az endotheliális aktiválódás jellemzésére. Kísérleteinkben azonban rendkívül nagy szórást észleltünk a plazmában, ám a szöveti forma a csonthártyában jelentős növekedést mutatott. A védelem jeleként az IPC hatására ennek szintje szintén csökkent.

A HES kolloid oldat hatására végtag ischaemiát követően a CD11b expresszió szintén mérséklődött. E kísérletek nem adnak a molekuláris hátérrel információt, de más munkacsoportok kimutatták, hogy a HES gátolja a szöveti NF- κ B aktivációt és a szisztémás TNF- α emelkedést mind helyi, mind szisztémás gyulladási inzultusok hatására (Tian J és mtsai 2004, Feng X és mtsai 2007). Ez a jelátviteli útvonal tehát szerepet játszhat a HES lokális gyulladásra kifejtett kedvező hatásaiban. A HES kezeléssel szemben a GEL nem csökkentette, sőt növelte a posztischemiás sICAM-1 szintet.

A fokozott adhéziós molekula expresszió összefügghet a hízósejtből felszabaduló meditátorok hatásával is. Mind a PMN leukociták, mind az endothel sejt felszínén megtalálhatóak olyan receptorok, melyekhez a hízósejtekből felszabaduló proteázok kapcsolódni képesek és így közvetlenül befolyásolhatják az adhéziós molekula expressziót és a PMN-endothel sejt interakciókat (Meyer MC és mtsai 2005, Shpacovitch VM és mtsai 2004). A PC hatásmechanizmusa e tekintetben nem tisztázott, azonban kimutatták, hogy a kolin deficiencia megnövekedett ICAM-1 expresszióhoz vezet az endothel sejtek felszínén

(Lundberg AH és mtsai 2001). Kísérletes modellünk csak a csonthártyát körülvevő izom hízósejt degranuláció vizsgálatára adott lehetőséget, melyet a szisztémás PC kezelés a leukocita akkumuláció gátlása mellett szintén jelentősen csökkentett.

Az eredmények összefoglalása

1. Kimutattuk, hogy teljes végtag I-R nemcsak lokális, hanem szisztémás gyulladással is járhat, mely hatásokat figyelembe kell venni a tourniquet alkalmazásával járó traumatológiai beavatkozások során.
2. A végtag IPC potenciális terápiás lehetőséget jelenthet mind a helyi, mind a szisztémás gyulladással szemben, így egyszerű és könnyen alkalmazható lehetőséget biztosíthat a sebészi beavatkozások esetleges szövődésének mérséklése céljából.
3. A PC kezelés hatékonyan javította a végtag I-R által indukált gyulladással kapcsolatos reakciókat, csökkent a leukociták adhézióját és postishemiás szöveti nekrotizációját. A PC hatását részben a hízósejt stabilizáció közvetítette. A PC kezelés e hatásai hozzájárulhatnak a sebészi beavatkozások rizikójának csökkentéséhez.
4. A különböző kolloid oldatoknak jelentősen eltérő mikrokeringési hatásai vannak a végtagok ischaemiáját követően. A HES kezelés jelentősen befolyásolja a lokális gyulladással kapcsolatos reakciókat és megelőzi a szisztémás gyulladással kapcsolatos következmények kialakulását, míg a DEX és GEL kezelés nem igazolt hasonló védelmet.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton fejezem ki tiszteletemet és hálámat Boros Mihály Professzor Úrnak a rendkívüli lehetőségért, hogy intézetében támogatását élvezve dolgozhattam.

Köszönettel tartozom Nagy Katalin Professzor Asszonynak (Szegedi Tudományegyetem, Fogorvostudományi Kar Dékán), aki a kezdetektől támogatott ezen irányú tevékenységemben.

Hálás köszönettel tartozom Dr. Szabó Andreának, egykori TDK témavezetőmnek, majd PhD témavezetőmnek, valamint Dr. Kaszaki Józsefnek a tudományban való fejlődésem előmozdításáért, tudományos munkában és publikációban nyújtott segítségükért és nagy szabadságot jelentő támogatásukért.

Szintén köszönettel tartozom Dr. Rázga Zsoltnak és Dr. Németh Istvánnak a

hisztológiai vizsgálatokért.

Szintén tisztelettel és köszönettel adózom a Sebészeti Műtéttani Intézet valamennyi dolgozójának értékes és lelkes munkájáért, mellyel hozzájárultak kísérleteim sikeréhez.

A tézis alapjául szolgáló közlemények

I. Szabó A, **Varga R**, Keresztes M, Vízler Cs, Németh I, Rázga Zs, Boros M: Ischemic limb preconditioning downregulates systemic inflammatory activation. *J Ort R* (Epub ahead of print).

II. Gera L, **Varga R**, Török L, Kaszaki J, Szabó A, Nagy K, Boros M: Beneficial effects of phosphatidylcholine during hindlimb reperfusion. *J Surg Res.* 139(1):45-50, 2007.

III. **Varga R**, Török L, Szabó A, Kovács F, Keresztes M, Varga G, Kaszaki J, Boros M: Effects of colloid solutions on ischemia-reperfusion-induced periosteal microcirculatory and inflammatory reactions: Comparison of dextran, gelatin, and hydroxyethyl starch. *Crit Care Med* 36:2828-2837, 2008.