

**A REVASZKULARIZÁCIÓS MŰTÉTEKET KÖVETŐ REPERFÚZIÓS
KÁROSODÁSOK CSÖKKENTÉSÉNEK SEBÉSZETI LEHETŐSÉGEI**

PhD Értekezés

Dr. Sínay László

Témavezető
Dr. Jancsó Gábor PhD

Ph.D. program vezetője
Prof. Dr. Róth Erzsébet PhD, DSc

Pécsi Orvostudományi Egyetem Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Tanszék

Pécs 2009

1. BEVEZETÉS

Az érsebészetben a keringés javítását célzó műtétek során az ereken végzett beavatkozások idejére a végtagot kirekesztjük a keringésből. Az érpálya rekonstrukciója után az addig iszkémiás szöveteket egy megnövekedett volumenű és nyomású keringés terheli meg, amely a kirekesztés idejétől, az elzáródás magasságától és szövetek általános állapotától (endothel diszfunkció, diabetes mellitus) függően reperfúziós károsodást idézhet elő. Ezek a klinikai szinten kevésbé monitorozható folyamatok döntően befolyásolják a műtétek eredményeit és a posztoperatív időszak lefolyását, ezért a csökkentésükre, vagy mérséklésükre irányuló törekvések mindenképpen alapvető fontosságúak a sebészi kutatásokban.

A reperfúziós károsodás alapvető oka, hogy a korai reperfúzió alatt keletkező oxigén szabadgyökök, reaktív oxigén intermedierek (ROI) mennyisége meghaladja az endogén antioxidáns rendszer (EAR) (antioxidáns enzimek, szabadgyökfogó vegyületek, lipolitikus és proteolitikus enzimek, proteázok, foszfolipázok, hősokk fehérjék) kapacitását és kialakul az oxidatív stressz. Ennek ismert celluláris következményei: a membrán lipid peroxidáció fokozódása, membrán fehérje szerkezeti elváltozások, különböző ioncsatornák és receptorok károsodása, valamint DNS denaturáció. Mindezen patológiás elváltozások az intracelluláris ion homeosztázis megváltozásához, a sejtmembrán permeabilitás fokozódásához, a kalciumion kontrollálatlan intracelluláris beáramláshoz és sejthalálhoz vezetnek.

Az iszkémia-reperfúzió (IR) hatására a károsodott endothelsejtekből nitrogén monoxid, endothelin, citokinek (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10) és egyéb kemotaktikus anyagok szabadulnak fel. Ezen faktorok, és maga az IR hatására aktiválódó leukociták a felszínükön adhéziós molekulákat expresszálnak, amelyek a fehérvérsejtek az endothelsejtekhez kapcsolódását irányítják, és az endothelen való átjutást és az extravazális migrációt szabályozzák. Az endothelen való kitapadásban és a transzmigrációban az integrinek játszanak döntő szerepet, mint a leukocita funkcionális antigén-1 (LFA-1) amely a CD11a és CD18 komplexe és az endothelsejtek által prezentált intracelluláris adhéziós molekula-1 (ICAM-1) komplementere. Az aktivált és az extracelluláris térbe került leukociták oxigén szabadgyököket, proteolitikus enzimeket, hisztamint termelve gyulladást okozó folyamatokat alakítanak ki és tartanak fenn, következményes lokális és szisztémás szövet- és mikrocirkuláció károsodást, a sejtek és a szövetek necrosisát okozva. Mindezekből következik, hogy a reperfúziós károsodások kivédése alapvetően fontos a teljes klinikai restitúció eléréséhez.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Első vizsgálat sorozatunkban az iszkémiás posztkondicionálás védő hatását kívántuk vizsgálni, iszkémia-reperfúziót követően perifériás szöveteken állatmodellben.

Infrarenális aorta okklúziót követően iszkémiás posztkondicionálást alkalmaztunk, és vizsgáltuk a kialakuló oxidatív stressz és gyulladást okozó válaszreakciók mértékét. Az oxidatív stressz mértékét a lipidperoxidáció (szérum peroxid szint) mérésével kívántuk jellemezni. A reperfúzió indukálta gyulladást okozó válaszreakciót a citokin (TNF alfa) szint meghatározásával, a leukocita aktiváció, a szérum myeloperoxidáz (MPO) változásával, és a fehérvérsejtek indukált szabadgyöktermelésével jellemeztük.

Továbbá vizsgáltuk az intracelluláris pro-, és antiapoptotikus jelátviteli útvonalak (pGSK, pAKT, pERK1/2, pp38MAPK) aktivációját a korai reperfúzió során.

A második vizsgálat sorozatunkban az iszkémiás posztkondicionálás humán klinikai hatékonyságát kívántuk jellemezni revaszkularizációs műtétek során. Célunk az aorto-bifemorális bypass műtétek követően alkalmazott iszkémiás posztkondicionálás protektív hatásainak megfigyelése volt.

Az oxidative stressz jellemzésére vizsgáltuk a szérum malondialdehid szint változásait és az antioxidáns enzimek (SOD, GSH, SH) mennyiségét, aktivitását. Az inflammatorikus választ jellemeztük: a szérum MPO szintjének meghatározásával, a fehérvérsejtek indukált gyöktermelésének, és a leukocita sejtfelszíni adhéziós molekulák expressziójának megfigyelésével.

Harmadik vizsgálatsorozatunk célkitűzése volt a kontrollált reperfúzió védő hatásainak megfigyelése kísérletes állatmodellen. Hosszú iszkémiát követően 30 perces krisztalloid oldattal hígított vér reperfúzióját alkalmaztuk alacsony nyomással a perifériás szövetekben. Hipotézisünk szerint az alacsony szaturációjú, hígított, alacsony nyomású vér reperfúziója kisebb mértékű oxidative stressz és gyulladásoos reakciók kialakulását és következményesen kisebb mértékű reperfúziós károsodást indukál. Mértékét kívántuk az indukálódó oxidative stressz és inflammatorikus válasz mértékét, valamint a hígított vér következtében létrejövő rheológiai változásokat.

3. AZ ISZKÉMIÁS POSZTKONDITIONÁLÁS HATÁSAI A LIPIDPEROXIDÁCIÓ, A CITOKIN EXPRESSZIÓ, ÉS A FEHÉRVÉRSEJT AKTIVÁCIÓ MÉRTÉKÉRE REPERFÚZIÓ SORÁN HASI AORTAMŰTÉTET KÖVETŐEN ÁLLATMODELLBEN

3.1. BEVEZETÉS

Vinten-Johansen és munkacsoportja közölte eredményeit, hogy a tartós iszkémiát követően alkalmazott rövid IR ciklusok hatékonyan csökkentik a reperfúziós károsodásokat, a jelenséget iszkémiás posztkondicionálásnak nevezték el. Az iszkémiás posztkondicionálás citoprotektív szerepét számos szerző különböző kísérletes modelleken igazolta a miokardium posztkondicionálása esetében. A jelenség mechanizmusa még kevésbé ismert. A jelenség *mechanikai* magyarázata szerint a posztkondicionálás csökkenti a reperfúzió során az intravazális nyomást, ezáltal csökken a folyadék érpályából történő kiáramlása, és a következményes ödéma, mikrovaskuláris károsodás. A posztkondicionálás csökkenti a keletkező adenosin, valamint az aktiválódó leukociták és az endothel által termelt szabadgyökök kiáramlását a szövetekből, így ezek az adenosinerg G-protein kapcsolt receptorokon keresztül a mitokondriális K-ATP csatornák aktiválását, így következményes citoprotekciót eredményeznek. A *celluláris* magyarázat szerint a posztkondicionálás csökkenti az intracelluláris oxidánsok és kalcium szintjének megemelkedését, meggátolva ezzel a mitokondriális permeability transition pore (mPTP) nyitását, így gátolja mind az apoptózist, mind a sejtnekrózis kialakulását. A *molekuláris* magyarázat szerint a túlélést segítő (survival) jelátviteli utak (PI3 kináz, p-Akt, ERK 1/2) valamint az antiapoptotikus enzimek (Bcl2/Bax arány) aktiválásával csökkentik az apoptózist. Kísérletes körülmények között a posztkondicionálással azonos mértékű védelmet mutattak ki inzulin, glukagon-like peptide-1, erythropoietin és statinok adásával is.

3.2. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.2.1. Állatkísérletes modell

24 db Whistar patkányt (200-250 g) használtunk fel a vizsgálatsorozathoz. Az altatott állatokon medián laparotomiát végeztünk, izoláltuk az infrarenális aortaszakaszt, és 60 percre leszorítottuk az aortát. Az iszkémiát követően a leszorítás felengedésével 120 perces reperfúziót alkalmaztunk.

Az állatokat három csoportra osztottuk. Az első csoportban (iszkémia-reperfúzió IR) a 60 perces iszkémiát teljes nyomású és megszakítás nélküli 120 perces reperfúzió követte. A

második csoportban (iszkémiás posztkondicionálás PostC) a 60 perces iszkémiát 4x15 másodperces posztkondicionálás követte, majd ezután indítottuk a 120 perces teljes reperfüziót. A harmadik csoportban álműtétet végeztünk az aorta leszorítása nélkül.

A véna cava inferior kanülálásával vérmintavételek történtek a műtét előtt, majd a reperfüzió 5; 10; 15; 30; 60 és 120 percében.

3.2.2. Laboratóriumi vizsgálatok

Lipid peroxidok szérumszintjének meghatározása: A vérben az oxidatív stresszre legérzékenyebb komponens az LDL (low density lipoproteins). Az LDL oxidációja a biológiai rendszerekben elsősorban az oxigén eredetű szabadgyökök következménye, mely során az LDL többszörösen telítetlen zsírsavláncjai (PUFAS) átalakulnak a lipid peroxidáció során lipid hidroperoxidokká. A szérumszint kvantitatív mérésére Oxystat colorimetriás assayt (Biomedica Medizinprodukte GmbH, Wien, Austria) alkalmaztunk, követve a gyártó protokollját. Az eredmény direkt összefüggést mutat a keringő lipid peroxidok és a szabadgyökök mennyisége között, ezzel következtetni enged a reperfüzió alatti oxidatív státusz változásaira.

Citokin expresszió - TNF-alfa szérumszintjének alakulása: A szérumszint mérésére Rat TNF-alfa/TNFSF1A ELISA kitet (R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA) alkalmaztunk, követve a gyártó cég utasításait.

Neutrophyl granulocyták aktiváció - az MPO szérumszintjének meghatározása: 1ml munkaoldathoz (tartalmaz: 10.9 ml Na-citrát 0.1 M, pH: 5.5; 100 µl o-Dianisidin; 1 ml H₂O₂; 5 µl Triton-X 0.05%) 200 µl szérumszintet adva, majd 37°C-on inkubálva 5 percre. 1 ml 35 %-os perklórsavat adva a mintához 10 perc centrifugálás következett 2500/perces fordulatszámon. A felülúszó fotometriás értékelése 560 nm-en történt, vak mintaként munkaoldatot használva.

Leukocyták aktiváció - leukocyták PMA indukált gyöktermelése: A leukocyták indukált szabadgyök (ROS) termelésének detektálása teljes vérből történt. A szuperoxid-anion termelés indukációjára 0.2 µg/ml phorbol 12-miristat 13-acetat (PMA) szolgált (Sigma-Aldrich Kft, Budapest). A detektálás 3.33 µg/ml luminollal (Boehringer GmbH Mannheim, Germany) történt egy Chrono-log 560-VS lumino-aggregométerrel (Chrono-log Corp., USA). A szabadgyök termelést regisztráltuk.

Jelátviteli útvonalak vizsgálata szövetmintákból: A szövetminta vétel a 2. óra után történt a következő helyekről: izom, máj, szív, tüdő, vese. A mintákat -78°C-on tárolva a feldolgozásig.

A pAKT, a pGSK, a pERK valamint a pp38 fehérjék detektálására és mennyiségének meghatározására Western-blot (immunoblot) módszert használtunk. A fehérjekeveréket poliakrilamid gélelektroforézissel frakcionáltuk, majd a fehérjéket blotting technikával nitrocellulóz filterre vittük át. A membránt ezután a keresett fehérje elleni antitesttel kezeltük, majd az első antitest ellen termelt második ellenanyaggal reagáltattuk. A második antitest speciális enzimmel konjugált, majd fényreakcióval detektáltuk a végeredményt.

3.3. EREDMÉNYEK

A lipid peroxidok szérumszintjének meghatározása: A lipid peroxidok szérumszintjét in vivo állatmodellen mértük. A nulla időpont az infrarenális aortán a clip felengedését jelzi, a koncentrációkat a reperfüzió 120 perce alatt követtük. A szérumszint mindkét csoportban egy tipikus görbét ír le: meredek emelkedés látszik az oxidált LDL szérumszintjében a kiindulási időponttól az első 15 percen belül, majd folyamatos

csökkenés mérhető (eliminációs fázis). Az eredményeink szignifikáns különbséget igazoltak a két csoport közt a korai emelkedés fázisában: a peroxid koncentráció szignifikánsan alacsonyabb a PS csoport esetén az 5. és 15. percben vett mintákban. Az eliminációs periódusban nincs jelentős különbség a csoportok között.

Citokin expresszió- TNF-alfa szérumszintjének alakulása: A szérumszintet a műtét előtt és a reperfüzió 2. órájában mértük. Az iszkémia előtti (kontroll) értékhez viszonyítva mindkét kísérleti csoportban szignifikánsan emelkedett szintek láthatóak a vártak megfelelően. Viszont a PS csoportban detektált koncentráció szignifikánsan kisebb az IR csoporthoz képest.

A TNF- α gyulladáscitokin, a szisztémás gyulladáscsökkentés kialakításában játszik szerepet. A receptorához kötődve az apoptózis extrinsecus útját indítja be. Az aktivált makrofágok és T-sejtek termelik. Ismert hatásai: az érendothel aktiváció, az érfa átjárhatóság fokozása illetve adhéziós molekulák expressziója az érfa falán és a láz, mint szisztémás hatás. Szöveti tárolását a hízósejtek végzik. Kísérletes adatok alapján a TNF- α reperfüzió alatti szekréciója az iszkémiás inzultus időtartamával szoros összefüggésben áll.

Neutrofil granulocita aktiváció- az MPO szérumszintjének meghatározása: A reaktív oxigén gyökök lipid mediátorokon keresztül kemotaktikus hatásúak a fehérvérsejtekre. A neutrofil aktiváció, vagy amplifikáció a reperfüzió korai szakaszában beindul és egy önmagát erősítő folyamat. Az ún. oxidatív burst során a sejtek NADPH-oxidáz enzime a molekuláris oxigénből 90%-ban szuperoxidot képez. A neutrofil aktiválódás és kitapadás markere a mieloperoxidáz (MPO).

A neutrofil aktiváció meghatározására így a szérumszint követése megfelelő marker. A reperfüzió két óráját követően a kísérletes csoportok értékei között szignifikáns különbség mutatható ki: a nem-kondicionált csoportban szignifikánsan magasabb a szérumszint MPO koncentrációja.

Leukocita aktiváció- a leukociták PMA indukált gyöktermelése: A fehérvérsejtek aktivációjának objektív jellemzője a gyöktermelés fokozódása. A PMA indukált maximális szabadgyök termelés a leukociták aktivációs szintjét mutatja. A nem kondicionált (IR) csoportban a műtét előtti időponthoz képest szignifikáns emelkedés mérhető a reperfüzió 2. órájában. A PS csoportban ellenben nem detektálható jelentős különbség a két időpont összehasonlításakor.

A PMA a leukociták gyöktermelésének jellemzésére használatos. Ennek mutatója, hogy a keringésben mennyi gyulladáscsökkentő mediátor van jelen, vagyis mennyire vannak érzékenyítve a keringő granulociták. Mechanizmusát tekintve a PMA nem jelátviteli úton aktiválja a granulocitákat, hanem intracellulárisan, mivel szabadon diffundál a sejtmembránon. Ha nincsenek aktiválva a keringésben jelenlévő granulociták, lapos, elhúzódnak a gőrcsatornákat. Az aktiváció esetén detektáltak paraméterek a görbe meredeksége és a gyöktermelés maximuma. Minél nagyobb a meredekség, annál inkább érzékenyítettek a granulociták.

Jelátviteli útvonalak vizsgálata szövetmintákból: Az AKT fehérje foszforilált állapotban túlélési jelátvitelt közvetít. A kontrollhoz viszonyítva megemelkedett a foszforilált AKT fehérje mennyisége mind az IR mind a PS csoportban. A vázizom, a szív, a tüdő és máj minták esetében is erőteljesebb az emelkedés a poszt-kondicionáláson átesett állatok mintáiban. A vese esetén nem látszik jelentős változás.

Az antiapoptotikus hatással is bíró pERK $\frac{1}{2}$ foszforiláltsága is fokozódik mindkét csoportban. Az emelkedés szintén jelentősebb a PS csoportban.

Mind az AKT mind az ERK fehérjék aktiválódásának következménye lehet a GSK foszforilációja. A pGSK esetén az IR csoportban nincs jelentős emelkedés, ellenben a PS mintákban fokozott foszforilációt észlelünk.

A p38MAPK egyike a stresszkinázoknak. Átmeneti aktivációja többek között a sejt oxidatív stresszre adott válaszában része, tartós aktivációja apoptózishoz járulhat hozzá.

A reperfundált csoportban emelkedik a pp38 mennyisége minden vizsgált szövetben. A poszt-kondicionált szív, máj, vázizom mintákban a kontrollhoz képest emelkedett a foszforiláció, de az emelkedés kisebb, mint a csak reperfundált csoportban. A poszt-kondicionált tüdőben a kontrollal összevethető értéket kaptunk, míg a vesében az IR és a PS csoportban azonos mértékű, a kontrollhoz képest magasabb a foszforiláció.

4. AZ ISZKÉMIÁS POSZTKONDITIONÁLÁS HATÁSAI HUMÁN ÉRSEBÉSZETI MŰTÉTEKBEN

4.1. BEVEZETÉS

Az iszkémiás poszt-kondicionálás nemcsak állatkísérletes modelleken, de humán kardiológiai intervenciók során is hatékonynak bizonyult a reperfúziós károsodások csökkentésében. Az első vizsgálat-sorozatunkban igazoltuk a poszt-kondicionálás protektív szerepét perifériás szöveteken állatkísérletes modellben. A humán érsebészeti klinikai hatékonyság igazolására aorto-bifemorális bypass műtétet követően alkalmaztunk iszkémiás poszt-kondicionálást, és vizsgáltuk a reperfúziós folyamatok intenzitását.

4.2. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgálatban résztvevő betegek atherosclerosis miatt kialakult distalis aorta, illetve aorto-biiliacalis occlusio miatt kerültek elektív műtetre, és aorto-bifemorális bypass műtétet végeztünk.

A poszt-kondicionált csoportban (10 beteg) a disztális anasztomózis elkészítése után a teljes reperfúzió megindítása előtt 2x30 másodperces poszt-kondicionálást végeztünk a graftszárak felengedésével-leszorításával.

Az iszkémia-reperfúziós csoportban (10 beteg) a disztális anasztomózisok elkészítése után teljes és folyamatos reperfúziót biztosítottunk.

4.2.2. Vizsgált paraméterek meghatározása

Az oxidatív stressz paraméterek közül a lipidperoxidáció mértékét jelző malondialdehid plazmaszintjét vizsgáltuk, illetve az antioxidáns státusz meghatározását végeztük (GSH, totál-SH csoport, SOD). A gyulladáshoz való válaszreakciók mértékét a fehérvérsejtek aktivációját jellemző indukált gyöktermelés meghatározásával, a plazma myeloperoxidase (MPO) aktivitás vizsgálatával, illetve a leukocita adhéziós molekulák (CD11a és CD18) expressziójának monitorozásával jellemeztük.

4.2.3. Oxidatív stressz paraméterek vizsgálata

Malondialdehid meghatározás: *Minta-előkészítés:* thiobarbitursav (TBA, Renal) 10%-os perklórsavban (Reanal) készített túltelített oldatát háromszoros mennyiségű 20 %-os triklórecetsavval (TCA, Carbo Erbe) elegyítettük. Az így kapott 1:3 arányú elegy 4,5 ml-éhez 0,5 ml alvadásban gátolt vért (EDTA) adunk. A keletkezett mintát forrásban levő vízfürdőben 20 percig főztük, majd jégben gyorsan hűtöttük és 4000 rpm-en 15 percig centrifugáltuk (Universal 3RF, Hetterich Zentrifugen). A felülúszót 532 nm-en, a TBA-TCA elegy ellenében fotometráljuk (Milton Roy Spectronic 6001 spektrofotométer). A minták koncentrációját (nmol/ml) standardgörbe alapján határoztuk meg.

Redukált glutation (GSH) meghatározás teljes vérből: Alvadásgátolt vér (EDTA) 1 ml-éhez 4 ml 10%-os triklór ecetsavat (TCA, Carbo Erbe) adtunk. Az elegyet 15 percig 4000 rpm-en centrifugáltuk. A felülúszó 2 ml-éhez 4 ml 0,4 M-os (pH 8,7) Trisz-(hidroximetil)-amino-metan (TRIS, Reanal) puffert adtunk. Az így kapott elegyet 100 µl 5,5-Dithiobisz-2-nitrobenzoésav (DTNB, SERVA) hozzáadása után 5 percen belül, 412 nm-en fotometráltuk (Milton Roy Spectronic 6001). A minta GSH koncentrációját nm/ml-ben standardgörbe alapján határoztuk meg.

Totál –SH csoport meghatározás: Bizonyos plazmafehérjék jelentős antioxidáns kapacitással rendelkeznek. A plazma-albumin főleg thiol csoportjai révén a legjelentősebb extracelluláris antioxidáns molekula, melynek antioxidáns kapacitását számos körülmény befolyásolhatja. A plazmafehérjék antioxidáns kapacitását jellemeztük a totál –SH csoportok mérésével. A mérésekhez Ellman's reagenst (99 mg 5,5'-dithiobis-2-nitro-benzoésav (DTNB); SERVA) használtunk. A 0,1 ml plazmát 0,8 ml TRIS pufferhez adtuk (2,3723 g EDTA 50 ml vízben oldva, melyhez 12,1 g TRIS-t adtunk, és 500 ml-re egészítettünk ki; 0,2M TRIS, pH: 8,2) és 0,1 ml Ellman's reagenst adtunk hozzá és 412 nm-en, 0,9 ml TRIS puffer + 0,1 ml Ellman's reagenssel szemben Milton Roy Spectronic 6001 Spektrofotométerrel mértük. A koncentrációt standard-görbe alapján határozzuk meg.

Szuperoxid dizmutáz enzim aktivitás mérése mosott vörösvérsejtből: A mérés alapelve, hogy a szövetekben, vérben, plazmában található SOD enzim gátolja az adrenalin átalakulását adrenochrommá (színes, fotometrálható komplex). A gátlás mértékéből (optimálisan 50%-os) a benne levő enzim mennyisége kiszámítható.

Minta előkészítés: Alvadásgátolt vérhez (EDTA) háromszoros mennyiségű hideg fiziológiás sóoldatot adtunk, 2000 rpm-en 3 percig centrifugáltuk. A felülúszót elöntöttük, majd a műveletet addig ismételtük, míg áttetsző felülúszót nem kaptunk. Az üledékből 10-szeres hígítást készítettünk, melynek 500µl-éhez kloroform-etanol (1:2) elegy azonos mennyiségét adtuk. Az így kapott mintát alapos keverés után 15000 rpm-en 5 percig centrifugáltuk (Hettich Zentrifugen Universal 3RF) 4C°-on. A felülúszót használtuk a fotometriás méréshez (Hitachi U-2001 típusú spektrofotométer). *Adrenalin standard (ASTD):* 1,6488 mg/ml 0,1N sósavban. *Reakcióelegy:* Na₂CO₃, NaHCO₃, Na-EDTA; 0,05M, pH: 10,2., melyhez 100 µl-t adtunk az ASTD-ből. A minta mennyiségét úgy változtattuk, hogy lehetőleg 50%-os gátlást kapjunk. A végső térfogat mindig 3 ml. *Aktivitásmérés:* Az abszorbanciát 480 nm-en 3 percig folyamatosan mértük és regisztráltuk. A kontroll görbe és a minta jelenlétében kapott görbe felszálló szárának meredeksége közötti eltérésből számítottuk ki a gátlás mértékét, az alábbi módon:

$((\text{Kontroll meredekség-minta meredekség})/\text{kontroll meredekség}) \times 100 = A$

$1/A = B - 0,010989 \text{ (konstans)} = C$

$0,009011/C = D$

$D \times \text{a hígítás mértéke} = U/\text{ml}$

4.2.4. Gyulladásos válaszreakció jellemzése

Fehérvérsejtek szabadgyök termelésének meghatározása teljes vérből: A teljes vérben lévő fehérvérsejtek szabadgyök termelését luminometriás módszerrel vizsgáltuk. A szuperoxid anion képződést 0.2 µg/ml phorbol 12-miristate 13-acetat-tal (PMA) (Sigma-Aldrich Kft, Budapest), indukáltuk. A keletkezett szabadgyököt luminol (Boehringer Mannheim GmbH, Germany; 3,33 µg/ml) hozzáadásával tettük mérhetővé. A méréseket Chrono-log 560-VS típusú lumino-aggregométerrel mértük (Chrono-log Corp. USA), kétcsatornás direktíró segítségével. A kapott diagrammok alapján az indukciót követő

szabadgyök termelés idejét („lag time” (sec)), a szabadgyök termelés sebességét (arbitrális egység/sec) és a szabadgyök termelés fehérvérsejt számra vonatkoztatott csúcsertékét határoztuk meg (arbitrális egység/mm³-enkénti fehérvérsejt szám).

A myeloperoxidáz (MPO) szérum koncentrációjának meghatározása: Neutrophyl granulocytá aktiváció jellemzésére használt módszer. 1ml munkaoldathoz (tartalmaz: 10.9ml Na-citrát 0.1M, pH:5.5; 100µl o-Dianisidin; 1ml H₂O₂; 5µl Triton-X 0.05%) 200µl szérumot adva, majd 37°C-on inkubálva 5 percre. 1ml 35%-os perklórsavat adva a mintához 10 perc centrifugálás következett 2500/perces fordulatszámon. A felülúszó fotometriás értékelése 560 nm-en történt, vak mintaként munkaoldatot használva.

Leukocytá adhézíós molekulák expressziójának vizsgálata: Az adhézíós molekulák expresszióját flowcitometriás módszerrel határoztuk meg. Nátrium-citráttal alvadást gátolt teljes vért fluoreszcein izotiocianáttal (FITC) jelölt humán felszíni adhézíós molekula (CD11a, CD11b, CD18, CD49d, és CD97) ellenes antitesttel (BD Biosciences, Pharmingen, USA) 15 percen át szobahőmérsékleten inkubáltuk. A monocitá populáció elkülönítésére humán CD14 ellenes antitestet (BD Biosciences, Pharmingen, USA) használtunk az előbb említett antitestekkel együtt. A vörösvérsejtek lizálása után a mintákat centrifugáltuk (7 perc, 200 g), a pelletet foszfát pufferben (PBS) újra hígítva mostuk és ismét centrifugáltuk (7 perc, 200 g). Az izolált és jelölt sejteket 0,5%-os formaldehid oldatban hígítottuk, fixáltuk. A mintákat 4°C-n tároltuk, és 5 napon belül BD FACS Calibur (BD, USA) flowcitométerrel végeztük a méréseket. A mérési eredményeket Cellques szoftverrel analizáltuk, az egyes fehérvérsejt típusok felszíni adhézíós molekulák festődését arbitrális egységben (AU) adtuk meg.

4.3. EREDMÉNYEK

A plazma MDA koncentráció a műtét előtt megegyezett a két csoportban. Mindkét csoportban jelentős emelkedést találtunk a rekonstrukciót követően, de a nem-kondicionált csoportban szignifikánsan magasabb volt a poszt-kondicionált csoporthoz képest. Hasonló változást mértünk a 24. órában, és a 7. napon az MDA plazma cc. a kiindulási értékre csökkent.

A thiol csoport koncentrációja a nem-kondicionált csoportban szignifikánsan csökkent a korai reperfúzióban. A 24 órás értékek nem mutattak szignifikáns különbséget a kontrollhoz képest. A nem-kondicionált csoportban egy hét múlva ismét enyhe csökkenést mértünk.

A redukált glutathion plazmaszintje mindkét csoportban szignifikánsan csökkent a korai reperfúzióban. Az első naptól folyamatos emelkedést tapasztaltunk a hetedik napig, ahol mindkét csoportban a műtét előtti szintet mértünk.

A szuperoxid dizmutáz aktivitása mindkét csoportban a műtét előtt alacsonyabb volt mint a kontroll csoportban, és közvetlen a rekonstrukció után nem tapasztaltunk változást. 24 órával később a nem-kondicionált csoportban szignifikáns csökkenést mértünk, amely a hét végére eltűnt.

A leukocitá aktiváció a nem-kondicionált csoportban szignifikánsan megemelkedett közvetlenül a műtét után, és ezt az emelkedést a poszt-kondicionált csoportban nem tapasztaltuk. A késői reperfúzió során a leukociták indukált gyöktermelésének maximuma mindkét csoportban jelentősen emelkedett, a két csoport között azonban statisztikai különbséget nem mértünk.

A MPO koncentráció mindkét vizsgálati csoportban magasabb volt, mint a kontroll (egészséges véradók) mintákban. A hetedik napig nem mértünk változást. Az utolsó napon a

plazma MPO szint a nem-kondicionált csoportban szignifikánsan megemelkedett, amely változást a posztkondicionált csoportban nem láttunk.

A granulocita felszíni adhéziós molekulák expresszióját flowcytométerrel detektáltuk. A CD11a expressziója a műtét utáni mintákban szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a műtét előtt. A két csoport között azonban különbséget nem láttunk. A 24 órás mintákban azonban a nem-kondicionált csoportban szignifikáns fokozódást mértünk, amelyet a posztkondicionált csoportban nem tapasztaltunk. A vizsgált periódus végére a mért értékek megegyeztek a kiindulási értékekkel.

4.4. ÖSSZEFOGLALÁS

A posztkondicionálás jelensége, technikai egyszerűsége, gyorsasága és hatékonysága miatt felveti a klinikai alkalmazhatóság lehetőségét. Átmeneti iszkémiával járó tervezett beavatkozások során lehetőséget biztosítana a szövetek iszkémiás toleranciájának megnövelésére, a műtétet követő lokális és szisztémás reperfúziós károsodások csökkentésére.

5. A KONTROLLÁLT REPERFÚZIÓ HATÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA A REPERFÚZIÓS KÁROSODÁSOK CSÖKKENTÉSÉRE

5.1. BEVEZETÉS

Akut iszkémiás kórképek sebészeti megoldását követően, függően az iszkémia időtartamától, a kollaterális keringéstől, mindig számolnunk kell reperfúziós károsodással, melyek súlyosabb esetekben revaszkularizációs szindrómához vezethetnek. A reperfúziós folyamatok indukcióját elsősorban az iszkémiás intimarendszerben, és anaerob anyagcserére átvált, anerg szövetekben megjelenő oxigén okozza, melyből a sérült mitokondriális légzési láncban nagy mennyiségű oxigén eredetű szabadgyök keletkezik.

A kontrollált reperfúzió során az iszkémiás időszakot egy átmeneti, kontrollált perfúzió követi. Ennek során a végtagot krisztalloid oldattal erősen hígított, alacsony oxigén szaturációjú, alacsony nyomású vérrel perfundáljuk, így csökkentve a sejtek oxidatív terhelését.

5.2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgálatainkat altatott Yorkshire sertéseken végeztük. Az állatokat két csoportra osztottuk. A kontroll (5 állat) csoportban az infrarenális aortát 4 órára lezörítöttük, majd felengedést követően teljes nyomású, és volumenű vérrel indítottuk meg a reperfúziót (teljes reperfúzió / TR csoport).

A kontrollált reperfúziós csoportban (5 állat) a 4 órás kirekesztést követően 30 percig kontrollált reperfúziót végeztünk, majd ezt követően engedték a teljes nyomású, és volumenű vér reperfúzióját (kontrollált reperfúziós / CR csoport).

5.3. Kontrollált reperfúzió

Az aorta okklúzióját követően, a felengedés előtt 10-Ch kanült helyeztünk proximális irányba az aortába, és egy másik ugyanilyen kanült a disztális irányba. Mindkét kanült egy közös, 200 ml krisztalloid oldatot tartalmazó zsákba vezettük. Első lépésben proximális irányba nyitottuk meg a zsákot, és 200 ml vért engedünk az oldathoz. Ezt követően proximális irányba zártuk, majd disztális irányba nyitottuk a zsákot, és a hígított vérrel, maximum 60Hgmm-es nyomással perfundáltuk a perifériát. Az eljárást 30 percig folytattuk. Ezt követően az arteriotomiát zártuk, és a normál keringést helyreállítottuk.

Vérmintavétel időpontjai:

Műtét előtt (perifériás vér fülvénából), iszkémia végén, 15 perccel, majd 60 perccel a reperfúziót követően (véna cava inferiorból), 24 óra elteltével és a 7. napon (perifériás vér fülvénából).

Az oxidatív stressz paramétereit és a gyulladásos válaszreakció mértékét az előző fejezetben említett módszerekkel határoztuk meg.

Hisztológiai vizsgálatok

Az állatokat a beavatkozást követően egy héttel anesztéziában termináltuk, és szövetmintát vettünk a quadriceps femoris izomzatból, májból, veséből, tüdőből, szívből és vékonybélből.

5.4. EREDMÉNYEK

Hemodinamikai paraméterek

A szívfrekvencia, szisztolés, diasztolés nyomás eredményei nem mutattak szignifikáns különbséget a két csoport között.

Oxidatív stressz paraméterek

A plazma MDA cc a TR csoportban a reperfúzió megkezdését követően megemelkedett, majd a 24. órában lecsökkent. Ez a korai reperfúzióban mért emelkedés a CR csoportban szignifikánsan kisebb volt. A vizsgált periódus végén a TR csoportban ismét emelkedést mértünk, de ez kisebb mértékű volt.

A TR csoportban az –SH csoport szignifikáns csökkenést mutatott a reperfúzió első órájában. A CR csoportban ezt a csökkenést nem tapasztaltuk.

A GSH plazmaszintje mindkét csoportban csökkent a reperfúzió 24. órájáig, a két csoport között statisztikai különbséget nem találtunk.

A SOD aktivitás az iszkémia alatt és a korai reperfúzióban nem mutatott jelentős változást. A TR csoportban a 24. órában láttunk szignifikáns csökkenést, amelyet a CR csoportban nem tapasztaltunk. Az utolsó mérési időpontban mindkét csoportban az iszkémia előtt mért értékeket találtuk, a két csoport között nem volt különbség.

A fehérvérsejtek indukált szabadgyöktermelésének sebessége, és maximuma a korai reperfúzió szakában a CR csoportban alacsonyabb mértékű volt, mint a TR csoportban. A késői reperfúzióban nem mértünk statisztikai különbséget a két csoport között.

Hisztológiai eredmények

A harántcsikolt izomzatból készített metszeteken a CR csoportban kisebb mértékű harántcsikolt izomrost degeneráció, kisebb mértékű leukocitás infiltráció figyelhető meg.

A távoli szerveken szintén jellemző a TR csoportban látható fokozott leukocita infiltráció, azonban markáns különbségek sejtnekrózis megítélésében nem láthatók.

5.5. ÖSSZEFOGLALÁS

Eredményeink alátámasztják a hipotézist, mely szerint a kontrollált reperfúzióval csökkenthető a kritikus iszkémiát követő reperfúziós károsodások. Méréseink igazolták, hogy a kontrollált reperfúzió csökkenti a kialakuló oxidatív stressz mértékét, és mérsékli a gyulladásos válaszreakciókat a reperfúzió korai időszakában.

tűnik a kritikus végtagiszkémiák ellátásában.

6. ÚJ EREDMÉNYEK

Első vizsgálatsorozatunkban az iszkémiás posztkondicionálás protektív hatását figyeltük meg aorta okklúziót követő reperfúziós folyamatokban kísérletes állatmodellben.

1. Eredményeink igazolták, hogy az iszkémiás posztkondicionálás szignifikánsan csökkenti a reperfúzió indukálta korai oxidatív stressz és gyulladáshoz vezető folyamatok (leukocyták aktiváció, citokin expresszió, myeloperoxidáz) mértékét perifériás iszkémiát követően.
2. Molekuláris biológiai vizsgálataink kimutatták, hogy a harántcsíkolt izomzat iszkémia-reperfúzió egyaránt proapoptotikus és antiapoptotikus jelátviteli utakat aktivál az iszkémia által közvetlenül nem érintett szervekben is (szív, tüdő, vese, és máj).
3. Perifériás iszkémiát követő posztkondicionálás szignifikánsan csökkentette a proapoptotikus, és fokozta az antiapoptotikus (védő) szignál aktivációt távoli szöveteken is. Ezen eredmények alapján feltételezzük, hogy az iszkémiás posztkondicionálás nemcsak a lokális reperfúziós károsodást csökkenti, hanem védi a távoli szöveteket, szerveket is a reperfúziós folyamatoktól.

Második vizsgálatsorozatunkban leírtuk az iszkémiás posztkondicionálás védő hatását humán revaszkularizációs műtétek során. Eredményeink igazolták, hogy aorto-bifemorális bypass követően korai reperfúzióban szignifikánsan csökkentette oxidatív stressz mértékét, megőrizte az antioxidáns kapacitást, és csökkentette a lokális és szisztémás gyulladáshoz vezető folyamatokat.

A posztkondicionálás hatékony, és alkalmas módszernek tűnik viszonylagosan hosszabb iszkémiát követő reperfúziós szövődmények kivédésére humán érsebészeti műtétekben.

Harmadik vizsgálatsorozatunkban a kontrollált reperfúzió hatékonyságát vizsgáltuk hosszú idejű aorta okklúziót követő reperfúziós folyamatokban állatkísérletes modellben.

Igazoltuk, hogy a kristalloid oldattal hígított, alacsony nyomású vér perfúziója szignifikánsan csökkenti az oxidatív stressz és fehérvérsejt aktiváció mértékét, és megőrzi a plazma antioxidáns kapacitását.

Hisztológiai vizsgálataink csökkent sejtnekrózist és intracelluláris ödémát mutattak a harántcsíkolt izomban a kontrollált reperfúzió alkalmazása esetén.

Kontrollált reperfúzió továbbá csökkentette a tüdő, vese, máj, és miokardium reperfúzió indukálta károsodását.

A kontrollált reperfúzió hosszú - kritikus - iszkémiát követően hatékonyan csökkenti a lokális és szisztémás reperfúziós károsodásokat, hatékony terápiás protokollnak tűnik akut végtagi iszkémiás kórképek terápiás protokolljának.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném megköszönni témavezetőmnek, Prof. Dr. Róth Erzsébetnek és Dr. Jancsó Gábornak folyamatos, önzetlen, segítő támogatásukat, mely nélkül e munka nem jöhetett volna létre.

Köszönöm munkahelyi vezetőmnek, Prof. Dr. Kollár Lajosnak, hogy lehetőséget biztosított számomra a kutatómunkához és mindvégig lelkesen támogatta, szakmailag segítette azt.

Köszönöm Dr. Lantos János docens Úrnak és Kürthy Mária biológusnőnek és a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet munkatársainak a laboratóriumi mérések és azok kiértékelése során nyújtott fáradhatatlan segítségüket.

Köszönöm Dr. Kovács Krisztinának, Kiss Alízna és Prof. Dr. Sümegi Balázsnak a molekuláris biológiai vizsgálatok során nyújtott pótolhatatlan segítségüket.

Külön köszönettel tartozom Dr. Hegedűs Géza főorvos Úrnak a szövettani minták feldolgozása során nyújtott felbecsülhetetlen segítségéért.

Köszönöm Dr. Arató Endre főorvos Úrnak az elmúlt tizennégy évben nyújtott önzetlen támogatását és barátságát.

Köszönöm a Baranya Megyei Kórház Sebészeti Tanszék valamennyi dolgozójának támogató segítségét.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm családomnak türelmüket, támogató szeretetüket.

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK PUBLICATIONS

EREDETI KÖZLEMÉNYEK ORIGINAL PAPERS

Sínay L. Leukocita adhéziós molekulák expressziójának vizsgálata perifériás érműtétek során 4. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia Tanulmánykötete 2007. 172.

Sínay L, Kürthy M, Horváth S, Arató E, Shafiei M, Lantos J, Ferencz S, Bátor A, Balatonyi B, Verzár Z, Sütő B, Kollár L, Wéber G, Róth E, Jancsó G. [Ischaemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model.](#) Clin Hemorheol Microcirc. 2008; 40 (2):133-42. **IF: 1,814**

Sínay L. A compartment szindróma klinikai vizsgálata rekesznyomás méréssel és szöveti oxigén szaturáció meghatározással. 5. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia Tanulmánykötete 2008. 245.

[Arató E, Kürthy M, Jancsó G, Sínay L, Kasza G, Verzár Z, Benkő L, Cserepes B, Kollár L, Róth E.](#) Alsóvégtagi revaszkularizációs műtéteket követő oxidatív stressz vizsgálata. Magy Seb. 2006 Feb; 59(1):50-7.

G. Jancso, B. Cserepes, B. Gasz, L. Benko, B. Borsiczky, A. Ferenc, M. Kurthy, B. Racz, J. Lantos, J. Gal, E. Arato, **L. Sínay**, G. Weber, E Roth: Expression and protective role of heme oxygenase-1 in the delayed myocardial preconditioning
Annals of the New York Academie of Sciences 2007 Jan;1095:251-61. **IF.: 1.930**

Gyevnár Zs, Hardi P, **Sínay L**, Arató E Hagyományos stripping és cryostripping összehasonlítása az életminőség tükrében Érbetegségek, 2007; 2: 87-90

M. Kurthy, E. Arato, G. Jancso, **L. Sínay**, Z. Verzar, B. Cserepes, J. Lantos, S. Ferencz, S. Bertok, A. Ferencz, L. Kollar, E. Roth. Duration of hypoxia influences platelet function due to free radical production in revascularization surgery of lower limb. Perfusion 2007; 20 (6) 187-194.

Arató E, Kürthy M, Jancsó G, **Sínay L**, Kasza G, Menyhei G, Shafiei M, Varga Z, Bertalan A , Verzár Zs, Kollár L, Róth E Az alsóvégtagi compartment szindróma kórtana és diagnosztikai lehetőségei Magyar Sebészet, 2007; 6: 301-306

E. Arató, G. Jancsó, **L. Sínay**, M. Kürthy, J. Lantos, S. Ferencz, S. Horváth, M. Shafiei, G. Kasza, Z. Verzár, L. Kollár, E. Róth, G. Wéber, G. Menyhei. Reperfusion injury and inflammatory responses following acute lower limb revascularization surgery.
Clinical Hemorheology and Microcirculation 39 (2008) 79-85. DOI 10.3233/CH-2008-1070. **IF: 1,814**

[Lewis SC, Warlow CP, Bodenham AR, Colam B, Rothwell PM, Torgerson D, Dellagrammaticas D, Horrocks M, Liapis C, Banning AP, Gough M, Gough MJ.....](#)Arató E, Gyevnar Zs, Hardi P, LKasza G, Kollár L, Menyhei G, Pal E, **Sínay L**,General

anaesthesia versus local anaesthesia for carotid surgery (GALA): a multicentre, randomised controlled trial *Lancet*, 2008 Dec 20; 372(9656): 2092-3.

Arató E, Kürthy M, **Sínay L**, Kasza G, Menyhei G, Masoud S, Bertalan A, Verzár Z, Kollár L, Róth E, Jancsó G. [Pathology and diagnostic options of lower limb compartment syndrome](#). *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;41(1):1-8. **IF: 1,814**

Arató E., **Sínay L.**, Kürthy M., Kasza G., Menyhei G., Shafiei M., Kollár L., Róth E., Jancsó G. Az E-vitamin hatása a reperfüziós károsodásokra alsóvégtagi rekonstruktív érműtétek során. *Érbetegségek* 2009/1 11.

Arató E, Kürthy M, **Sínay L**, Kasza G, Menyhei G, Masoud S, Takács I, Hardi P, Bátor A, Lantos J, Kollár L, Róth E, Jancsó G. Effect of vitamin E on reperfusion injuries during reconstructive vascular operations on lower limbs. *Clin Hemorheol Microcirc.* Accepted for publications.

IF: 1,814

∑ IF: 9,186

IDÉZHETŐ ABSZTRAKTOK

ABSTRACTS

Rozsos I., Kasza G., Forgács S., **Sínay L.**, Kollár L. A krónikus sebek kezelése során alkalmazható kombinált módszerek. *Magyar Sebészet* LVII évfolyam 2004. június 177.

Sínay L., Kasza G., Rozsos I., Kollár L., Litter I. Fibrinogén szint változások diabetes láb szindrómás betegeknél. *Érbetegségek* 2005/suppl./2 25.

Rozsos I., **Sínay L.**, Kasza G., Litter I., Kürthy M., Weisdorn R., Róth E., Kollár L. A diabetic foot szindrómás betegek hemorheológiai nyomon követése. *Érbetegségek* 2005/suppl./2 38.

Arató E., Kürthy M., Jancsó G., Kasza G., **Sínay L.**, Rozsos I., Kollár L., Róth E. Az oxidatív stressz szerepe az alsóvégtagi revaszkularizációs szindrómában. *Érbetegségek* 2005/suppl./2 39.

Sínay L., Arató E., Kasza G., Rozsos I., Kollár L., Litter I. Haemorheológiai paraméterek és fibrinogén szint változása diabetes láb szindrómás betegeknél. *Érbetegségek* XIII. évfolyam 3. szám 102.

Arató E, Kürthy M, Jancsó G, Gasz B, **Sínay L**, Kollár L, Róth E Oxidative stress, and leukocyte activation after lower limb revascularization surgery. *European Surgical Research-40th Congress, Konya Turkey European Surgical Research Suppl.*, 2005; 37(S1): 77

IF: 0, 755

Arató E, Kürthy M, Jancsó G, Kasza G, **Sínay L**, Fehér I, Kollár L, Róth E Az antioxidáns-prooxidáns státusz változása akut alsóvégtagi revaszkularizációs műtéteket követően. MST Kísérletes Sebészeti Kongresszus, Hajdúszoboszló Magyar Sebészet Suppl. 2005; 4:279

Weisdorn R., **Sínay L.**, Litter I., Kürthy M., Róth E., Kollár L. Hogyan mutatja az állapotrosszabbodást a diabetes láb szindrómás betegek haemorheológiai paramétereinek romlása? Érbetegségek XIII. évfolyam 3. szám 102-103

Arató E., Kürthy M., Jancsó G., **Sínay L.**, Kasza G., Verzár Zs., Bertalan A., Kollár L., Róth E. A kritikus végtagiszkémia miatt operált betegek oxidatív stressz paramétereinek, illetve a trombocita funkció változásainak vizsgálata. Magyar Sebészet 59./2006 200.

Arató E, Kürthy M, Jancsó G, **Sínay L**, Kasza G, Kollár L, Róth E Monitoring of prooxidant-antioxidant state following limb revascularization surgery. Annual Meeting of the German Society for microcirculation and Vascular Biology Rostock J. Vascular Research 2006; 43:27-60
IF: 2, 505

Sínay L., Arató E., Kasza G., Jancsó G., Bertalan A., Verzár Zs., Kollár L. Az alsóvégtagi revaszkularizációs szindróma kialakulása akut artériás rekonstrukciókat követően. Magyar Sebészet 59./2006 295.

Sínay L., Arató E., Kasza G., Jancsó G., Kürthy M., Bertalan A., Verzár Zs., Kollár L. Mikrocirkuláció megítélése compartment-szindrómában rekesznyomás méréssel és szöveti oxigénszaturáció meghatározásával Érbetegségek 2007/suppl.1. 7.

Dr Jancsó G., Kürthy M., Dr Cserepes B., Dr Lantos J., **Dr Sínay L.**, Dr Arató E., Prof Dr Róth E. Reperfúziós károsodások csökkentése poszt kondicionálással. Cardiologia Hungarica 2007. Május (Suppl.A) A19.

Dr Jancsó G., **Dr Sínay L.**, Kürthy M., Dr Lantos J., Bátor A., Németh G., Balatonyi B., Dr Arató E., Prof Dr Róth E. Iszkémiás poszt kondicionálás hatása hasi aorta okklúzió-reperfúziót követő oxidatív stressz mértékére. Magyar Sebészet Suppl. 2007.

Dr Jancsó G., **Dr Sínay L.**, Kürthy M., Szabó A., Dr Kovács K., Prof Dr Róth E. Iszkémiás poszt kondicionálás protektív hatásainak vizsgálata hasi aorta műtetet követő reperfúziós károsodásokban.
Cardiologia Hungarica 2008. Május (Suppl.A)

Jancsó G, **L Sínay**, Sz Horváth, E Arató, Gy Wéber, E Róth. Ischaemic postconditioning reduces TNF-alpha expression and leukocyte activation after infrarenal aortic ischaemia-reperfusion in rat model. British Journal of Surgery 2008 [Volume 95, Issue S6](#) p77
IF: 4, 921

M Kürthy, E Arató, G Jancsó, J Lantos, B Cserepes, S Ferencz, **L Sínay**, E Róth. Thrombocyte function in the perioperative phase of acute and elective peripheral revascularisation surgery.
Experimental and Clinical Cardiology Volume 11, number 3, 2006; p256.

Arató E, Kürthy M, Jancsó G, **Sínay L**, Benkő L, Kasza G, Kollár L, Róth E. Az antioxidáns-prooxidáns rendszer és a thrombocytá funkció változásai alsó végtagi revascularisációs műtétek során. *Érbetegségek*, XIII évfolyam 3. szám , 2006/3; p102.

Sínay L, Arató E, Horváth Sz, Kürthy M, Bátor A, Németh G, Balatonyi B, Róth E, Kollár L, Jancsó G. Hasi aorta okklúziót követő korai intermittáló reperfúzió hatása a reperfúziós károsodásra kísérletes és klinikai modellen. *Érbetegségek*, 2007/Suppl 2; 16.

Arató E, **Sínay L**, Kasza G, M Shafiei, Varga Z, Kollár L, Kürthy M, Jancsó G, Róth E. Alsóvégtagi rekonstruktív érműtétek során adott E-vitamin hatása a reperfúziós károsodásokra. *Érbetegségek*, 2007/Suppl 2; 24.

Bátor A, Jancsó G, **Sínay L**, Kürthy M, Lantos J., Németh G, Balatonyi B, Arató E, Róth E. Oxidatív stressz és leukocita aktiváció csökkentése iszkémia-reperfúziót követően poszt kondicionálással. *Folia Hepatologica*, 2007 október vol 11, suppl 3; 10.

Kürthy M., Arató E., Jancsó G., Lantos J., **Sínay L.**, Ferencz S., Horváth Sz., Ferencz A., Cserepes B., Wéber Gy., Róth E. A trombocytá funkció és az antioxidáns-prooxidáns státusz vizsgálata 1-es és 2-es típusú diabéteszes érbetegek vérében, valamint az inzulin invitro hatásának vizsgálata a fenti paraméterekre *Folia Hepatologica*, 2007 október vol 11, suppl 3; 26.

Arató E., **Sínay L.**, Kürthy M., Shafiei M., Ferencz S., Bátor A., Verzár Zs., Bertalan A., Menyhei G., Kasza G., Kollár L., Wéber Gy., Róth E., Jancsó G. Aorto-bifemorális rekonstrukciót követő leukocita aktiváció és redox változások vizsgálata. *Magyar Sebészet* 61.évfolyam 3. 2008. 146.

Menyhei G., Arató E., Füzi Á., Kasza G., **Sínay L.**, Kollár L. Felmérés az endovaszkuláris sebészet hazai helyzetéről. *Magyar Sebészet* 61.évfolyam 3. 2008. 176.

Sínay L., Arató E., Shafiei M., Horváth Sz., Kürthy M., Bátor A., Németh G., Balatonyi B., Wéber Gy., Róth E., Kollár L., Jancsó G. Poszt kondicionálás hatása a hasi aorta okklúziót követő oxidatív stresszre és leukocita aktivációra kísérletes állatmodellen. *Magyar Sebészet* 61.évfolyam 3. 2008. 188.

L Sínay, E Arató, M. Shafiei., L Kollár, E Róth, G Jancsó. The effect of ischaemic postconditioning on the reperfusion injury in aorto-bifemoral bypass surgery. *British Journal of Surgery* 2008 [Volume 95, Issue S6](#) p46. **IF: 4, 921**

E. Arató, **L. Sínay**, M. Kürthy, G. Kasza, G. Weber, L. Kollár, E. Roth , G. Jancsó Leukocyte activation and redox changes after aorto-bifemoral bypass surgery The 57th International Congress of the European Society for Cardiovascular Surgery. Barcelona, Spain *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery Journal*. 2008; 7:133

Kürthy M, Arató E, Jancsó G, Lantos J, Ferencz S, Bojtó E, **Sínay L**, Kollár L, Róth E, Oxidative stress markers and thrombocyte function in type -1 and type-2 diabetic patients; and in vitro effects of insulin *Journal of Vascular Research* 45 S2 85.8. **IF: 2, 463**

E Róth, **L Sínay**, S Horváth, M Kürthy, A Szabó, K Kovács, E Arató, **G Jancsó**. Effect of postconditioning on the reperfusion injury and on the activation of intracellular adaptation signals after aortic occlusion. *Experimental Clinical Cardiology* 2008.13/3. p150.

Sínay L., Kürthy M., Arató E., Bátor A., Miklós Zs., Szabó A., Kovács K., Kollár L., Róth E., Jancsó G. Iszkémiás posztkondicionálás protektív hatásainak vizsgálata hasi aorta műtétet követő reperfúziós károsodásokban. *Érbetegségek* 2009/2 62.

Σ **IF: 15,565**

KUMULATÍV IMPAKT FAKTOR: 9,186+15,565 = 24,751

ELŐADÁSOK PRESENTATION

Sínay L., Virág S., Benkő K.J. Acut hasi katasztrófa anticoaguláns kezelés szövödményeként. Magyar Sebész Társaság Dél-Dunántúli Szekciójának Konferenciája Dombóvár 1996. szept. 21.

Sínay L. A Lisfranc-izület ficama. III. Dél-Dunántúli Traumatológus Konferencia Pécs 1996. dec.14.

Sínay L., Neupor Cs., Benkő K.J. Osztályunk rectum tumoros betegeiről. Fial Sebészek Fóruma Miskolc 1997 .április 18.

Sínay L., Arató E., Benkő K.J. Diabetes angiopathias beteganyagunk kezelési elvei, taktikája osztályunkon. Fial Sebészek Fóruma Szombathely 1998. április 24.

Sínay L., Kasza G., Rozsos I., Kollár L., Litter I. Fibrinogén szint változások diabetes láb syndromás betegeknél. Pécsi Angiológiai Napok 2005. október 12-14

Sínay L., Arató E., Kasza G., Rozsos I., Kollár L., Litter I. Haemorheologiai paraméterek és fibrinogén szint változása diabétesz láb szindrómás betegeknél. Magyar Haemorheologiai Társaság XVI. Kongresszusa, Balatonkenese 2006. március 17-18.

Sínay L., Arató E., Kasza G., Jancsó G., Bertalan A., Verzár Zs., Kollár L. Az alsóvégtagi revaszkularizációs szindróma kialakulása akut artériás rekonstrukciókat követően. Magyar Sebész Társaság 58. Kongresszusa Budapest 2006. szeptember 6-9.

Sínay L., Hegedűs G. Infrarenális abdominális aorta aneurizma és mellékletként talált, poszt mortem igazolódott Osler-kór együttes előfordulása egy konkrét eset kapcsán PTE Orvostudományi és Egészségtudományi Szakosztályának Tudományos Ülése 2006.október 9.

Sínay L., Arató E., Kasza G., Jancsó G., Kürthy M., Bertalan A., Verzár Zs., Kollár L. Mikrocirkuláció megítélése compartment-szindrómában rekesznyomás mérésével és szöveti

oxigénszaturáció meghatározásával 5. Magyar Mikrokeringés Kongresszus Balatonkenese 2007. április 20-21.

Sínay L., Arató E., Horváth Sz., Kürthy M., Bátor A., Németh G., Balatonyi B., Róth E., Kollár L., Jancsó G. Hasi aorta okklúziót követő korai, intermittáló reperfúzió hatása a reperfúziós károsodásra kísérletes és klinikai modellen. Nyíregyházi Angiológiai Napok 2007. október 10-12.

L Sínay, E Arató, M. Shafiei., L Kollár, E Róth, **G Jancsó**. The effect of ischaemic postconditioning on the reperfusion injury in aorto-bifemoral bypass surgery. 43rd Congress of the European Society for Surgical Research 21-24 May, 2008. Warsaw, Poland

Sínay L., Arató E., Shafiei M., Horváth Sz., Kürthy M., Bátor A., Németh G., Balatonyi B., Wéber Gy., Róth E., Kollár L., Jancsó G. Posztkondicionálás hatása a hasi aorta okklúziót követő oxidatív stresszre és leukocita aktivációra kísérletes állatmodellen. Magyar Sebész Társaság 59. Kongresszusa Debrecen 2008. június 18-20.

Sínay L., Kürthy M., Arató E., Bátor A., Miklós Zs., Szabó A., Kovács K., Kollár L., Róth E., Jancsó G. Iszkémiás posztkondicionálás protektív hatásainak vizsgálata hasi aorta műtétet követő reperfúziós károsodásokban. 6. Magyar Mikrokeringés Kongresszus Balatonkenese 2009. május 22-23.