Iszkémia tolerancia vizsgálata akut alsó végtagi verőér-elzáródások kapcsán

Doktori tézisek

dr. Turóczi Zsolt

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. med. habil. Szijártó Attila, Ph.D., egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók: Dr. Kékesi Violetta, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Dzsinich Csaba, Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Entz László, Ph.D, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Jermendy György, az MTA doktora, címzetes egyetemi tanár
Dr. med. habil. Ferencz Andrea Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2015

1. BEVEZETÉS

Az alsó végtagi akut artériás okklúzív betegségek nagy klinikai jelentőséggel bírnak gyakoriságuk és magas mortalitásuk okán. Az elzáródott artéria által ellátott szövetek iszkémiás károsodást szenvednek, a keringés beindítása azonban paradox módon további, reperfúziós károsodásokat okoz. Az okklúzió-revaszkularizáció során kialakuló sérülést így összefoglaló néven iszkémiás-reperfúziós (IR) károsodásnak nevezzük.

Hosszú idejű vértelenséget követő revaszkularizáció során az iszkémiás-reperfúziós károsodás súlyos szövődményekkel járhat, lokálisan a végtagi vázizomzat rhabdomyolysisével, nekrózisával, illetve a mikrovaszkulatúra károsodásával. Ezen felül a sérült izomtömegből lokálisan felszabaduló toxikus anyagcseretermékek és gyulladásos mediátorok által indukáltan egy szisztémás generalizált gyulladásos válaszreakció veheti kezdetét, mely akár többszervi elégtelenségig is progrediálhat.

A kialakuló lokális és szisztémás válaszreakciók mértéke, illetve a többszervi elégtelenség létrejötte főként az iszkémiás-reperfúziós károsodás mértékének függvényei. Ennek okán a végtagi iszkémiás-reperfúziós károsodás súlyosságának objektív felmérése kiemelt fontosságú a megfelelő terápia megválasztása, így a kialakuló szövődmények minimalizálása céljából. Jelenleg azonban nem áll rendelkezésre módszer a károsodás mértékének megállapítására, klinikai körülmények között csupán a károsodás mértékének megbecslése lehetséges, mely azonban kis hatásfokú.

A súlyos szövődmények kialakulásának megelőzésére egy másik lehetőség az iszkémiás-reperfúziós károsodás mérséklése. A posztkondícionálás egy sebésztechnikai eljárás, mely képes lehet ezen cél elérésére, így a hosszú idejű végtagi artériás elzáródások szövődményeinek csökkentésére, mely javíthatja a mortalitást és a betegek életminőségét.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Ezen kísérlet sorozat célja a bevezetésben ismertetettek tekintetében, egy olyan általunk kifejlesztett új eljárás vizsgálata volt rágcsáló modellen, valamint klinikai körülmények között is, mely képes lehet az iszkémiás károsodás mértékének terápiás időablakon belüli meghatározására, így a megfelelő terápiás eljárás megválasztásában fontos eszközként szerepelhet a jövőben. További cél a kialakult károsodás mértékének csökkentésére alkalmas eljárás, a posztkondícionálás vizsgálata akut végtagi verőér-kirekesztés kisállat modelljén, a súlyos károsodások szövődményeinek mérséklése okán. A megfelelő rágcsáló modell megválasztásához előkísérletet végeztünk.

Vizsgálataink során az alábbi kérdésekre kerestük a választ:

1. Milyen mértékű károsodást képes létrehozni az aortakirekesztés egy komplett iszkémiás modellhez képest?
2. Milyen kollaterális érhálózatok azonosíthatók a reziduális perfúzió hátterében?
3. A létrehozott iszkémiás időtartamok milyen fény- és elektron mikroszkópos változásokat okoznak az izomszövetben?
4. Hogyan reagálnak a különböző típusú izomrostok az iszkémiára?
5. Az általunk alkalmazott új módszer alkalmas-e a kialakult károsodást megfelelő érzékenységgel detektálni?
6. A vértelenséget követő rövid reperfúzió befolyásolja-e az általunk kifejlesztett új módszer hatékonyságát?
7. Képes-e az eljárás az izomrost típusok közötti különbségek felismerésére?
8. Klinikai körülmények között alkalmazható-e az általunk alkalmazott új eljárás a szövettani károsodás jelzésére?
9. Alkalmas-e az eljárás a betegség kimenetelének előrejelzésére klinikai körülmények között?
10. Alkalmas-e a posztkondícionálás hosszú idejű iszkémiát követően a szövettani károsodás mértékének csökkentésére?
11. Képes-e ezen sebésztechnikai eljárás az izmok életképességének javítására?
12. Hogyan befolyásolja a posztkondícionálás a gyulladást jellemző paramétereket?
13. Képes-e a módszer a sérülés kialakulásának dinamikáját megváltoztatni?

3. MÓDSZEREK

3.1. Állatkísérletes vizsgálatok

Mindegyik kísérletünk során 200-250g súlyú, hím Wistar patkányokat használtunk. Az állatok az operációt megelőzően száraz tápot és vizet kaptak ad libitum. Tartásuk a napszaki változásokat követő mesterséges világítás mellett, 22-24°C-os hőmérsékleten történt.

3.1.1. Csoportbeosztás

3.1.1.1. A reziduális perfúzió jelentőségének vizsgálata

	3 órás iszkémia	4 órás reperfúzió	n
Aorta okklúzió	+	+	10
Tourniquet kirekesztés	+	+	10
Korróziós öntvények	-	-	10

3.1.1.2. Az izomrost életképesség meghatározás vizsgálata

	Csoport	Iszkémiás periódus (ó)				Reperfúzió (2ó)	n
		4	6	8	9		
Kezeletlen	Kontroll	-	-	-	-	-	6
Iszkémiás	4I	+				-	6
	6I		+			-	6
	8I			+		-	6
	9I				+	-	6
Reperfúziós	8IR			+		+	6
	9IR				+	+	6

I: iszkémia, IR: iszkémia-reperfúzió

3.1.1.3. A posztkondícionálás vizsgálata

Csoport	Operáció típusa	Posztkondícionálás	Reperfúzió hossza (ó)				n
			2	6	12	24	
Álop$_{2ó}$	Áloperáció	-	+				6
2IR	8 órás iszkémia	-	+				6
2PC	8 órás iszkémia	+	+				6
Álop$_{6ó}$	Áloperáció	-		+			6
6IR	8 órás iszkémia	-		+			6
6PC	8 órás iszkémia	+		+			6
Álop$_{12ó}$	Áloperáció	-			+		6
12IR	8 órás iszkémia	-			+		6
12PC	8 órás iszkémia	+			+		6
Álop$_{24ó}$	Áloperáció	-				+	6
24IR	8 órás iszkémia	-				+	6
24PC	8 órás iszkémia	+				+	6

IR: iszkémia-reperfúzió, PC: posztkondícionálás

3.1.2. A műtét menete

3.1.2.1. A reziduális perfúzió jelentőségének vizsgálata

Intraperitoneális anesztézia-indukciót (ketamin+xylasin) követően a jobb v. jugularis interna kipreparálása után polietilén kanül került bevezetésre, melyen keresztül a műtét időtartama alatt az általános anesztézia fenntartása és a parenterális folyadékpótlás biztosítása történt meg. Ezt az állatok egyik csoportjában a hasi aorta kipreparálása történt meg az infrarenális szakaszon, ezt követően ebben a csoportban az aortára, közvetlenül a bifurkáció felett atraumatikus mikroklipp került felhelyezésre (aorta okklúziós csoport). Az állatok másik csoportjában laparotomiára nem került sor, az iszkémia létrehozását mindkét végtag köré szorosan tekert gumiszalaggal értük el (tourniquet csoport). 3 órás hosszúságú iszkémiát követően minkét csoportban az okklúziót eltávolítottuk, melyet 4 órás hosszúságú reperfúziós periódus követett. Vér (jobb kamra punkción keresztül) és izom (m. tibialis anterior) mintavételre a reperfúzió végén került sor.

3.1.2.2. I. Az izomrost életképesség meghatározás vizsgálata

Az állatok előkészítése megegyezett az előző kísérletben leírtakkal. A hasi aorta került infrarenális szakaszának kipreparálását köveően 2 cm hosszú bőrmetszést ejtettünk az állatok bal lábszárának külső oldalán, majd a m. biceps femorison a fascián ejtett hasonló metszéssel az izom laterális felszíne feltárásra került. A metszésen keresztül mikrocirkulációs áramlásmérő került rögzítésre minden állatban. Ezt követően az aortára, közvetlenül a bifurkáció felett atraumatikus mikroklipp került felhelyezésre. A kísérlet első részében négy, 6, 8 és 9 órás iszkémiát hoztunk létre mindkét alsó végtagban a mikroklipp felhelyezésével. Mintavételre az iszkémiás idők (4, 6, 8, illetve 9 óra) végén került sor, ezen kísérleti rész során az iszkémiát reperfúzió nem követte. A kísérlet második részében 8 és 9 órás hosszúságú iszkémiás időtartamokat 2 óra reperfúzió követte. A műtétek végeztével szövettani mintavételre került sor (m. tibialis anterior). Az egészséges izomszövet vizsgálatához kezeletlen kontroll állatokat vontunk be a vizsgálatba, mely rágcsálókon semmilyen manipulációt nem hajtottunk végre. Az állatokat a fent résztelezett anesztézia indukciót követően halálos dózisú anesztetikummal túlaltattuk, majd mintát vettünk a fent leírtak szerint.

3.1.2.3. A posztkondícionálás vizsgálata

Az operáció menete az iszkémia indukcióig teljesen megegyezik az előző kísérletekben leírtakkal. Az aortára közvetlenül a bifurkáció felett atraumatikus mikroklippet helyeztünk fel, melynek segítségével 8 órás kirekesztést hoztunk létre mindkét alsó végtagban. Az iszkémia végeztével a mikroklipp eltávolításra került, majd kettő, 6, 12 és 24 órás reperfúzió következett. Mindegyik reperfúziós időpontban az állatok egy csoportjában a mikroklipp ismételt kinyitásával és bezárásával posztkondícionálást végeztünk 2 percen keresztül 6 ciklusban. Vér (jobb kamra punkción keresztül) és izom (m. tibialis anterior) mintavételre a reperfúzió végén került sor. Az áloperált csoportban nem került felhelyezésre mikroklipp, minden más tekintetben, az időbeli viszonyokat is figyelembe véve pontosan úgy jártunk el, mint a többi csoportban.

3.1.3. Korróziós preparátumok

A korróziós preparátumok készítéséhez 10 állatot anesztézia indukciót követően halálos dózisú anesztetikummal túlaltattuk. Az állatokon *post mortem* lekötöttük eredésüknél az a. mesenterica superiort és inferiort, valamint az aortát az infrarenális szakaszon 2 ligatúra között átvágtuk. Kipreparáltuk és lekötöttük továbbá az aorta thoracalis szupravalvuláris szakaszát, az arcus aortae disztális részét, valamint a jobb a. carotis communist. Mindezt követően a bal oldali a. carotis communisba, valamint a jobb oldali a. femoralisba polietilén kanülöket helyeztünk, melyeken keresztül szimultán eltérő színű gyantakeveréket injektáltunk, az artériás érrendszer ábrázolása céljából. A gyantakeverék megszilárdulását követően a preparátumokat tömény kálium-hidroxid oldatba helyeztük a lágyrészek teljes feloldása céljából. A kész korróziós öntvényeket sztereomikroszkóppal analizáltuk. Kollaterálisnak tekintettük azokat az érképleteket, melyek az alsó és a felső testfél között látható kapcsolat képeztek.

3.1.3. Mikrocirkuláció vizsgálata

A bal végtagon a reziduális perfúzió mértéke laser Doppler flowmeterrel került regisztrálásra az iszkémia alatt. A laser Doppler flowmeter az iszkémia ideje alatt folyamatosan követte a mikrocirkulációs áramlást. A műszer által szolgáltatott áramlási adatok arbitrális skálán szerepelnek. Mivel az egyedek alap áramlásértékei eltérőek, az

áramlási adatok, görbék összehasonlíthatósága érdekében az áramlási értékhez viszonyítva adtuk meg százalékban.

3.1.4. Fény mikroszkópos vizsgálatok

Minden állatból, kísérlettől és csoportbeosztástól függetlenül a bal oldali musculus tibialis anterior azonos anatómiai lokalizációjából történt szövettani mintavétel. Az izomminták egyik része -80°C-on fagyasztva került tárolásra, enzimhisztokémiai vizsgálatok céljából, másik része 4 %-os formalinban való 24 órás fixálást követően beágyazásra került paraffinba. A rutin szövettani vizsgálatok elemzése konvencionális fénymikroszkóppal történt, hematoxillin-eosin festést követően. Az izomkárosodás szemikvantitatív kiértékelése során a sérült és nem sérült izomrostok arányát vizsgáltuk egy metszeten. Sérültnek tekintettünk egy rostot, ha korvonala egyenetlen volt, vagy megszakadt; szerkezete, vagy színe inkonzisztens volt; intracellulárisan vakuólák voltak jelen; és/vagy a magok elkülönültek a rosttól.

3.1.5. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Elektronmikroszkópos vizsgálatokat az első kísérlet során, valamint a második kísérletben 2 óra reperfúziót követően végeztünk. A jobb oldali végtagokat intraarteriális katéteren keresztül először meleg 4%-os paraformaldehid oldattal töltöttük fel, majd ezt hideg 2%-os glutár-aldehid oldat infúziója követte összesen 30 percen keresztül. Az izmokat glutár-aldehid oldatban további 1 órán keresztül posztfixáltuk, amit 1 %-os ozmium-tetroxid oldatban történő további fixálás követett 1 órán keresztül, majd a mintákat aralditba ágyaztuk. Ultramikrotóm segítségével ultravékony szeletek készültek, melyeket uranil-acetáttal és vezércitráttal kontrasztoztuk, majd transzmissziós elektron mikroszkóp segítségével vizsgáltuk.

3.1.6. Izomrost életképesség vizsgálata

Az bal oldali m. tibialis anteriorból vett izommintákból 3 μm vastag fagyasztott metszetek készültek, melyeken NADH-tetrazolium reduktáz (NADH-TR) enzimhisztokémiai reakciót alkalmaztunk. Az életképesség kvantitatív meghatározása morfometriás szoftverrel történt (Leica QWin Pro) fénymikorszkóppal készült fényképeken. A képeken meghatározott beállítások mellett a szofter által

meghatározására került a keletkezett festődés kiterjedése, valamint az izomrostok összterülete, majd a kettőt egymáshoz arányítottuk. Az első kísérlet során az összes rost életképességének (össz-életképesség) meghatározásán kívül elvégeztük az I-es (lassabb összehúzódásra képes, oxidatív) és a IIb (gyorsan összehúzódó, glikolítikus) típusú izom rostok életképességének szelektív meghatározását is. A rostokat a NADH-TR reakción alapuló festődési karakterisztikájuk alapján különítettük el: a halványan festődő rostokat a IIb, az erősen festődő rostokat I es típusba soroltuk, a korábban leírtaknak megfelelően. Az egyes egyedekhez tartozó eredmények átlagolásra kerültek. A végső eredményt kezeletlen kontroll állatok értékeihez viszonyítva adtuk meg százalékban.

3.1.7. Laboratóriumi vizsgálatok

A jobb kamrai punkcióból nyert vért centrifugálást követően klinikai kémiai laboratóriumi automatán, rutin tesztek felhasználásával vizsgáltuk. A szérum kreatin-kináz (posztkondícionálás vizsgálata kapcsán), illetve laktát-dehidrogenáz, kálium és TNF-α szintjei (különböző kirekesztések összehasonlítása kapcsán) kerültek meghatározásra a különböző időpontokban.

3.1.8. Nedvességtartalom meghatározás

Az izomszövet nedvességtartalma a jobb oldali alsó végtag megmaradt izomtömegéből került meghatározásra. Az izmok tömegét a kivételt követően azonnal meghatároztuk (nedves tömeg), majd az izmokat +80 °C-os környezetbe helyeztük száradni, amíg egy állandó súlyt el nem értek (száraz tömeg). Ezt követően az kiszáradt izmok tömege újra meghatározásra került. A következő képlet segítségével a mért tömegekből az izom nedvességtartalma meghatározható, melyet százalékban adunk meg: (nedves tömeg – száraz tömeg) / nedves tömeg * 100

3.1.9. Statisztikai feldolgozás

A statisztikai vizsgálatokat IBM SPSS Statistics 20.0 szoftver (IBM Corporation, Armonk, NY, Amerikai Egyesült Államok) segítségével végeztük. A táblázatban a mérések eredményét a mért értékek átlagával és a standard deviáció (±SD) megadásával fejeztük ki. A statisztikai elemzések során Sapiro-Wilk teszt segítségével vizsgáltuk a

minták normál eloszlását. Ennek megfelelően az elemzés során egy-, illetve kétutas ANOVA-t alkalmaztunk a csoportok közötti, illetve csoportokon belüli különbségek kimutatására, Bonferroni poszt hoc analízissel. Az átlagértékek közötti különbségeket $p<0,05$ konfidencia intervallum esetén értékeltük szignifikáns különbségként.

3.2. Humán vizsgálatok

3.2.1. Etikai háttér

Vizsgálataink során a Helsinki Deklaráció szerint elvárt követelményeknek megfelelően jártunk el. Munkánkat a 91/2011 számú Semmelweis Egyetem Regionális, Intézményi Tudományos és Kutatásetikai által kiadott engedély alapján végeztük, mely az Egyészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottság pozitív állásfoglalását erősíti meg.

3.2.2. Beválasztási kritériumok

A vizsgálatba a 2011. június 1-je és 2012. június 1-je közötti időszakban az a Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti Klinikára beutalt, akut arteria femoralis superficialis elzáródással jelentkező betegeket választottuk be. Az ettől proximális és/vagy disztális okklúzióval rendelkező betegek, valamint a bilaterális elzáródásos esetek kizárásra kerültek. További kizárási kritérium volt a műtét során észlelet nem kielégítő disztális érstátusz.

3.2.3. Betegpopuláció és csoportbeosztás

A vizsgálati időszak alatt a Klinikán 147 beteg került felvételre akut végtagi iszkémia iránydiagnózissal, melyek közül 38 beteg felelt meg a beválasztási kritériumoknak. Ezen 38 beteget három főcsoprtra osztottuk. Az „A” csoportba kerültek besorolásra azon betegek (15 beteg, 39,5%), kiknek anamnézisében megelőző érbetegség nem szerepelt, valamint az iszkémiás károsodás fizikális jelei alapján a primer revaszkularizáció megkísérelhető volt. A „B” csoportban (18 beteg, 47,4%) lévő betegek anamnézisében ismert perifériás érbetegség szerepelt, valamint az iszkémiás károsodás jellege lehetővé tette a primer revaszkularizációt. A „C” csoportba azon betegek kerültek, kiknél a revaszkularizáció a fizikális jelek alapján nem volt kivihető (5 beteg, 13,1%), ezen betegek primeren amputációra szorultak. Az A és B csoportokat

a betegség sebészeti megoldásának rövidtávú kimenetele szerint további alcsoportokra osztottuk. Az 1. alcsoportokba azon betegek kerültek, kiknél a revaszkularizáció sikeres volt, a végtag keringése helyreállt (A1: 11 beteg, 28,9%; B1: 13 beteg, 34,2%), míg a 2. alcsoportokba azon betegek kerültek, kiknél a sebészeti revaszkularizáció sikertelen volt, ezen esetekben szekunder módon amputáció vált szükségessé (A2: 4 beteg, 10,6%; B2: 5 beteg, 13,2%).

3.2.4. Beavatkozások

A betegek az akut artériás elzáródás fizikális diagnózisát követően protokoll szerint 5000 NE Na-heparint kaptak bólusban. Ezt követően a műtéti megoldás kezdetéig minden beteg 1000 ml Salsol, 200 mg pentoxifillin és 80 mg papaverin kezelést kapott intravénásan, 1000 NE/óra Na-heparin intravénás adagolása mellett. A revaszkularizációt műtétileg, Fogarty szerint végeztük az A csoportban, míg a B csoportban thrombendarteriectomiát végeztünk. Az okklúzió pontos magassága és a disztális kiáramlás épsége intraoperatívan került meghatározásra. Mintavételre a m. tibialis anteriorból (iszkémiás minta), illetve a m. pectineusból (kontroll minta) került sor (lásd alább) a revaszkularizációt, illetve az amputációt megelőzően. A mintavétel során az izmok középső részéből 2x1 cm-es szövetdarabot távolítottunk el. Azon betegeknél, kiknél a revaszkularizációs eljárás sikertelen volt újabb mintát vettünk az amputált végtagból is. A végtagokat minden esetben femorális szinten amputáltuk.

3.2.5. Adatgyűjtés

A kísérleti protokoll szerint felvételkor regisztráltuk a betegek demográciai adatait (nem, kor), anamnézisét, különös tekintette az összefüggő komorbiditásokra (pitvarfibrilláció, trombózis, perifériás érbetegség, szívbetegség, carotis rendszeri és/vagy cerebrovaszkuláris betegség), valamint operáció alatt gyűjtött izomminták fény és izomrost össz-életképesség vizsgálatát végeztük el.

3.2.6. Vizsgálatok

3.2.6.1. Fénymikroszkópia

A revaszkularizációt (az A1, B1, illetve A2, B2 csoportokban), illetve az amputációt (az A2, B2, illetve C csoportokban) megelőzően gyűjtött m. pectineus és m. tibialis anterior

mintákat 4%-os formalin oldatban 1 napon keresztül fixáltuk, majd paraffinba ágyaztuk, majd hematoxillin-eozinnal festettünk meg.

3.2.6.2. Életképesség

Az életképesség vizsgálatok előkészítésénél minden tekintetben a 3.1.6. fejezetben részletezetteknek megfelelően jártuk el. A kiértékelés során az egyes betegek iszkémiás m. tibialis anterior izmok életképesség értékeit a kontroll m. pectineus izom értékeihez képest adtuk meg százalékban.

3.2.7. Utánkövetés

A műtétet követően a betegek 10 napig testtömeg kilogrammnak megfelelő dózisú alacsony molekulasúlyú heparin terápiában részesültek, melyet 100 mg Aspirin/nap terápia követett fél éven keresztül. Jelen vizsgálatban 30 napos utánkövetést vizsgálatunk, hosszú távú követés nem szerepelt a céljaink között. A posztoperatív 30. napon megtörtént a végtagok állapotának értékelése.

3.2.8. Vizsgálati végpont

A vizsgálat elsődleges végpontjai a végtag károsodás mértékének értékelése jelentette, mind hisztológiailag, mind életképesség vizsgálatok alapján. A vizsgálat fő célja volt a két említett eljárás által nyújtott eredmények összevetése, az izomrost életképesség hatékonyságának megállapítása céljából.

3.2.9. Statisztikai feldolgozás

A statisztikai elemzéshez használt módzsereket megegyeznek az állatkísérletes vizsgálatok során leírtakkal. Az humán vizsgálatok adatainak elemzése során egyutas ANOVA-t alkalmaztunk a csoportok közötti különbségek kimutatására, Bonferroni poszt hoc analízissel. Az eloszlásvizsgálathoz Fisher-féle exakt próbát alkalmaztunk. Az átlagértékek közötti különbségeket $p<0,05$ konfidencia intervallum esetén értékeltük szignifikáns különbségként.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A reziduális perfúzió jelentőségének vizsgálata

4.1.1. A tourniquet és az aorta okklúzió összehasonlítása

4.1.1.1. Szövettani vizsgálatok

Az aorta okklúziós csoportban a 3 órás iszkémiát követő 4 órás reperfúzió közepes mértékű változásokat okozott az izomszövetben. A metszeteken néhol rhabdomyolytitukus rostok detektálhatók. A tourniquet csoportban ezzel szemben ugyanezen időtartamok alkalmazása mellett jelentős mértékű nekrózis volt megfigyelhető az szövettani metszeteken. A nem nekrotikus izomrostokban is a súlyos károsodás jelei figyelhetőek meg.

4.1.1.2. Laboratóriumi vizsgálatok

A szérum nekroenzim vizsgálatok során mind a szérum kreatin-kináz, mind laktát-dehidrogenáz enzimszintjei tekintetében a tourniquet csoportban szignifikánsan magasabb ($p<0,05$) értékeket kaptunk, mint az aorta okklúziós csoportban. A szérum kálium szintjeiben hasonló tendenciát figyelhettünk meg ($p<0,05$). A szérum TNF-α szintek az előbbi paraméterekhez hasonlóan változtak ($p<0.001$).

4.1.1.4. Izomrost életképesség vizsgálat

Az aorta okklúzió az izomrostok össz-életképességének nagyfokú csökkenését idézte elő. A tourniquet kirekesztés azonos iszkémiás-reperfúziós idők alkalmazása mellett szignifikánsan ($p<0,001$) nagyobb mértékű károsodást okozott az aorta kirekesztéshez képest.

4.1.2. Korróziós öntvények

A korróziós preparátumokon az alsó és felső testfél között a következő artériás kapcsolatok vizsgálata során sikerült azonosítanunk egy mediális és egy laterális kollaterális rendszer, mely az elülső hasfal artériáiból áll össze. Elemzésünk szerint további kollaterális rendszert képeznek a dorzális szegmentális artériák. Jelentős további reziduális perfúzió biztosíthat továbbá az epigasztrikus artériás hálózat. Megfigyeltünk

továbbá egy érdekes kollaterális rendszert, mely a durális és a sakrális érhálózatok kapcsolatára hívja fel a figyelmet, mint további lehetséges reziduális perfúzió forrás.

4.2. Az izomrost életképesség meghatározás vizsgálata

4.2.1. Mikrocirkuláció vizsgálata

A mikrocirkulációs áramlás az iszkémia teljes ideje alatt regisztrációra került mindegyik állatban, annak eldöntésére, hogy a kísérleti modell képes-e megfelelően alacsony, stabil, konstans áramlást létrehozni. Az okklúzió felhelyezése után az áramlás az alapérték 17,3 ± 7,3%-ára esett vissza. Az áramlás a kísérlet során szignifikáns variációt nem mutatott az iszkémia alatt. A 9. óra iszkémia végén mért érékek (16.5 ± 9.2%) sem tértek el szignifikánsan az iszkémia kezdetén mértektől ($p>0,05$). A csoportok között az iszkémia alatti áramlás tekintetében szignifikáns variáció nem volt kimutatható, az áramlás minden állatban 30% alatt maradt, mely arra utal, hogy az infrarenális aortakirekesztés képes jelentős iszkémia létrehozására.

4.2.2. Iszkémiás károsodás vizsgálata

4.2.2.1. Izomrost életképesség vizsgálata

Az izomrostok össz-életképessége, valamint az egyes rostok szelektív életképessége az iszkémia hosszával lineárisan csökkent. Az I-es típusú rostok nagyobb károsodást szenvedtek a meghatározott életképesség értékek alapján, mint a IIb típusúak, mely különbség 6 óra iszkémia elteltével vált szignifikánssá ($p_{6ó}<0,05$; $p_{8ó}<0,01$; $p_{9ó}<0,05$). Az adatok feldolgozása során erős, szignifikáns korreláció igazolódott az iszkémia hossza, valamint a kapott életképesség értékek között mindhárom vizsgált életképesség esetén ($r>-0,98$; $r^2>0,97$; $p<0,001$).

4.2.2.2. Fény mikroszkópos vizsgálatok félvékony metszeteken

Annak érdekében, hogy megállapítsuk az izomrost életképesség által mutatott értékek megfelelnek-e a valódi károsodásnak toluidin kék festett félvékony metszeteken vizsgálatuk a szövettani károsodást. A kezeletlen állatok metszetein izomkárosodás jelei nem voltak megfigyelhetők. 4 és 6 órás iszkémia a félvékony metszeteken patológiás elváltozást nem okozott. 8 óra hosszúságú iszkémia a rostok közepes mértékű károsodásával járt, mely főként a mitokondriumban gazdag rostokban jelentkezett. 9

órás iszkémiát követően a károsodás az előző iszkémiás időponthoz képest jelentősen fokozódott, a mitokondriumban gazdag rostok ezen időpontban is nagyobb károsodást mutattak.

4.2.2.3. Elektron mikroszkópia

Annak érdekében, hogy a károsodás morfológiai jegyeit részleteibe menően is tanulmányozhatssuk, az izomrostok ultrastruktúráját is megvizsgáltuk. A kezeletlen állatok elektron mikroszkópos képe nem mutatott károsodást. A 8 órás hosszúságú iszkémia a mitokondriumokban közepes mértékű duzzadást okozott. 9 órás iszkémia a mitokondriumok alakjának deformitását idézte elő, néhol a mátrixban flokkulens denzitások voltak megfigyelhetőek. A mitochondriumok nagyobb része a diszrupció jeleit mutatta. 9 órás iszkémiát követően a károsodott mitokondriumok száma jelentősen fokozódott, valamint megfigyelhető volt még a szarkoplazmatikus retikulum közepes fokú duzzanata, néhol dezorganizációja. A leírt változások már nemcsak a mitokondriumban gazdag, hanem a mitokondrium-szegény rostokban is láthatóvá váltak, ugyan kisebb mértékben.

4.2.3. Az iszkémiás-reperfúziós károsodás vizsgálata

4.2.3.1. Izomrost életképesség

Az izomrost életképesség szignifikánsan lecsökkent a 8IR csoportban a reperfúzió nélküli (8I) csoporthoz képest ($p<0,001$) mindegyik vizsgált paraméter tekintetében. 9 órás iszkémia esetében hasonló változások voltak megfigyelhetők. ($p<0,001$; 9I vs. 9IR). A 8IR és a 9I csoportok között azonban szignifikáns különbség nem volt kimutatható ($p>0,05$) egy rosttípus esetében, valamint az össz-életképesség tekintetében sem. Az I-es típusú rostok 8 órás iszkémiát követő 2 órás reperfúzió hatására szignifikánsan nagyobb ($p<0,05$) életképesség-csökkenést mutattak, a IIb típusú rostokhoz képest.

4.2.3.2. Félvékony metszetek fénymikroszkópos vizsgálata

A 8 óra iszkémiát követő 2 óra reperfúzió jelentős morfológiai változásokat okozott az izmokban, az izomrostok szerkezete kissé fellazult. 9 órás iszkémiát követő reperfúzió jelentős mértékű nekrózist okozott az izomszövetben. A rostok több mint a fele elhalt. A

nem nekrotikus rostok is súlyos károsodást jeleznek, ami hasonló a 8IR csoportban tapasztaltakkal.

4.2.3.3. Elektron mikroszkópia

8 órás iszkémia és 2 órás reperfúziót követően a mielin figurák előfordulása is gyakori volt, a mitokondriumok dezintegrációja mellett. A szarkoplazmatikus retikulum súlyos tágulatot mutatott. Az elváltozások a mitokondrium gazdag rostokban nagyobb mértékűek voltak. A 9 órás kirekesztést követő reperfúzió a rostok többségében nekrotikus elváltozásokat idézett elő. A nem nekrotikus rostokban a károsodás jelentősebb volt még a 8IR csoportban a mitokondriumban gazdag rostokban tapasztaltaknál is.

4.3. A posztkondícionálás vizsgálata

4.3.1. Fény mikroszkópos vizsgálat

A két óra hosszúságú reperfúzió a sérült izomrostok számának szignifikáns mértékű megemelkedésével járt mind a 2IR, mind a 2PC csoportokban az áloperált állatokhoz képest ($p<0,05$). 6 óra elteltével a károsodott izomrostok mennyisége tovább nőtt mindkét iszkémia-reperfúziót elszenvedett csoportban ($p<0,001$). 12 óra elteltével a károsodás tovább növekedett ($p<0,05$), ezen felül a metszeteken megjelentek az extracelluláris ödéma morfológiai jelei is, továbbá gyulladásos sejtes beszűrődés volt látható. 24 óra elteltével a károsodott izomrostok száma az előző időpillanathoz viszonyítva szignifikáns mértékben nem, valamint az ödéma és a gyulladás mértéke sem mutatot eltérést a korábbiakhoz képest. A posztkondícionálás 6 órás reperfúziót követően minden időpontban képes volt a károsodás mértékének mérséklésére, mind az izomrostok számának ($p<0.05$), mind az ödéma mértékének tekintetében. A posztkondícionált metszeteken gyulladás nem volt látható.

4.3.2. Izomrost életképesség

A 8 órás iszkémiát követő 2 óra reperfúzió az izomrostok életképességének jelentős csökkenéséhez vezetett mindkét iszkémia-reperfúziót elszenvedett csoportban ($p<0,001$) az áloperált csoporthoz képest. Az életképesség ezt követően szignifikáns változást nem mutatott a kísérlet alatt egyik csoportban sem. Posztkondícionálás hatására azonban az

izomrostok életképessége szignifikánsan magasabb értéken stabilizálódott mindegyik vizsgált időpontban a megfelelő IR csoporthoz képest ($p<0.001$).

4.3.3. Elektron mikroszkópia

2 óra reperfúziót követően a mitokondriumok jelentős mértékű duzzadása volt megfigyelhető. Az esetek egy részében szétesett mitokondriumok voltak láthatóak. A magok fokozott széli heterokromatinizációt mutattak. A posztkondícionálás a mitokondriumok kisebb mértékű károsodását idézte elő (enyhe fokú duzzadás, szétesett mitokondriumok nem voltak láthatóak) a 2IR csoporthoz képest.

4.3.4. Laboratóriumi vizsgálatok

2 óra reperfúziót követően a szérum CK szintek szignifikánsan megemelkedtek mindkét csoportban az áloperált csoporthoz képest ($p<0,001$). A CK koncentráció 6 óránál csúcsot ért el, majd fokozatosan visszacsökkent az áloperált szintjére a posztoperatív 24 óra végére. A posztkondícionálás képes volt a szérum CK szintjeinek szignifikáns mértékű csökkentésére 2, 6 és 12 óra reperfúzió követően a megfelelő IR csoporthoz képest ($p<0,05$). A 24. posztoperatív órában a CK szintek szignifikánsan nem különböztek egymástól egyik csoportban sem ($p>0,05$).

4.3.5. Az izomszövet nedvességtartalma

A 8 órás iszkémiát követő reperfúzió a végtagi ödéma mértékének szignifikáns emelkedéséhez vezetett mind a 2IR mind a 2PC csoportokban ($p<0,001$), az áloperálthoz képest. 6 órás reperfúzió a nedvességtartalom további emelkedéséhez vezetett a 6IR csoportban ($p=0,01$), ezt követően az ödéma mértéke nem változott az idő előrehaladtával. A posztkondícionálás a posztoperatív 2. órában nem volt képes az ödéma mértékének csökkentésére ($p>0,05$), azonban 6 óra elteltével minden mért időpontban szignifikánsan mérsékelte az izom nedvességtartalmát ($p<0,001$) a megfelelő IR csoporthoz képest. A posztkondícionált csoportban az ödéma mértéke nem változott a kísérlet teljes ideje alatt.

4.4. Humán vizsgálatok

4.4.1. Betegpopuláció

A betegek átlagéletkora 60,8±9,5 év volt, jelentős részük férfi (68,4%). A csoportok között a nemek eloszlása nem különbözött szignifikánsan. Az A csoportban a betegek szignifikáns mértékben fiatalabbak voltak a B csoporthoz képest ($p<0,001$). A vizsgálatba bevont betegek mindegyike dohányzott. A betegek fele rendelkezett magasvérnyomás betegséggel (19 beteg). 26,3%-uknál fordult elő cukorbetegség (II-es típusú diabetes mellitus minden esetben), az A csoportban azonban cukorbetegség nem fordult elő. Korábbi pitvarfibrilláció 4 beteg esetében (10.5%) volt ismert, kik az A és C csoportokból kerültek ki. A betegek 10,5% rendelkezett valamilyenfajta cerebrovaszkuláris megbetegedéssel, míg 15,8%-uknál fordult elő trombózis. Ezen utóbbi két betegség a csoportok között eloszlási különbséget nem mutatott.

4.4.2. Fénymikroszkópia

Az A1 csoport intraoperatív iszkémiás metszetein kis mértékű vakuolizáció és enyhe intracelluláris ödéma volt megfigyelhető, mely kis mértékű izomkárosodásra utal. Az A2 csoport iszkémiás, revaszkularizációt megelőzően gyűjtött metszeteken közepes mértékű izomkárosodás jelei látszódtak, nekrózis nem ábrázolódott. Az amputációt követően azonban már jelentős mértékű nekrózis volt megfigyelhető ebben a csoportban. A B1 csoport iszkémiás mintáin a kontroll csoportokban megfigyelhető atrófiás változásokon felül csak enyhe mértékű károsodás volt tapasztalható, mely összevethető mértékű az A1 csoportnál tapasztaltakkal. A B2 csoport revaszkularizációt megelőző tibialis anterior izom metszetei közepes mértékű károsodást mutattak, míg az amputált végtagokban jelentős mértékű nekrózis volt látható, mely nagyon hasonló volt az A2 csoportban látottakhoz. A C csoportban a szövettani károsodás az A2 és B2 csoportok amputáció előtti metszetein tapasztaltakkal összevethető mértékű volt.

4.4.3. Életképesség vizsgálatok

Az A1 és B1 csoportokban, melyekben a revaszkularizáció sikeresnek bizonyult magas életképesség értékeket regisztráltunk. A két csoport között szignifikáns különbség nem volt tapasztalható ($p>0,05$). Az A2 és B2 csoport revaszkularizációt megelőzően gyűjtött mintáin az életképesség jelentős, szignifikáns mértékű csökkenését figyelhettük

meg ($p<0,05$). Ezen csoportok amputáció közbeni mintáiban az életképesség tovább csökkent mind az A1 és B1 csoportokhoz képest ($p<0,01$), mind a A2 és B2 csoport revaszkularizációt megelőző mintáihoz képest ($p<0,05$). A C csoportban az életképesség az A2 és B2 csoport amputált végtagjaiban tapasztalt károsodással azonos mértékűnek mutatkozott, az értékek nem tértek el szignifikánsan a 3 csoportban ($p>0,05$).

4.4.4. Utánkövetés

A betegek össz-mortalitása 21,1% volt, a mortalitási adatok a csoportok között nem különböztek szignifikánsan. Az összegzett végtagvesztés jelen vizsgálatunk során 36,8%-nak adódott, az A csoportban 26,7%, míg B csoportban 27,8%-os volt az amputáció előfordulási gyakorisága. A két csoport között szignifikáns különbség nem volt tapasztalható. A C csoportban mindegyik betegnél amputációra kényszerültünk. Az átlagos kórházban töltött napok száma vizsgálatunkban 11,3±4,8 nap volt. A csoportok között a kórházban töltött napok száma nem különbözött szignifikánsan ($p>0.05$).

5. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az aorta infrarenális szakaszának kirekesztése ugyan egy komplett iszkémiás modellhez (pl. külső leszorítás, tourniquet alkalmazása) képest ugyan szignifikánsan kisebb mértékű károsodást hoz létre, azonban rövid iszkémiás időtartamok alkalmazása esetén is jelentős károsodás detektálható az aortakirekesztés következtében.
2. Az aorta kirekesztés következtében a végtagok áramlása jelentősen lecsökken, körülbelül az alapáramlás 20%-ára, mely irodalmi adatok szerint elegendő egy megfelelő mértékű károsodás létrehozásához. Ezt a saját eredményeink is megerősítik. A reziduális áramlás hátterében elülső hasfali (epigasztrikus, mediális és laterális valamint dorzális kollaterális rendszerek tarhatók fel, valamint az eddig ismeretlen gerincvelői anasztomózisok is nagy jelentőséggel bírhatnak.
3. Az iszkémiás időtartam növekedésével az elektronmikroszkópiával megfigyelhető ultrastrukturális változások egyre súlyosabb iszkémiás károsodást jeleznek. 9 órás iszkémiát követően már nemcsak a mitokondriumokban, hanem egyéb szubcelluláris struktúrákban is megfigyelhető a károsodás. Fénymikroszkópiával ezzel szemben a károsodás egyértelmű jelei csak 9 órás iszkémiát követően válnak láthatóvá.
4. Az irodalmi adatokkal ellentétben a mi modellünkben az I-es típusú (lassú összehúzódásra képes, oxidatív) rostok fokozottabb érzékenységét találtuk, melyre az alkalmazott kísérleti modellek közötti eltérés adhat magyarázatot.
5. Az általunk kifejlesztett új eljárás eredményeink szerint magas érzékenységgel képes a kialakult iszkémiás károsodás mértékét meghatározni, hiszen a módszer által biztosított értékek jól korrelálnak mind az iszkémia hosszával, mind az elektron mikroszkópos vizsgálatok során látott változásokkal.
6. A rövid reperfúzió vizsgálata során kapott eredmények tovább erősítik az általunk alkalmazott eljárás hatékonyságát. Módszerünk nemcsak a reperfúzió során kialakuló károsodás növekedését volt képes megfelelően jelezni, hanem hasonló mértékű ultrastrukturális károsodások esetén hasonló érékeket volt képes biztosítani.
7. Az általunk alkalmazott módszer az elektronmikroszkópos felvételeken látottaknak megfelelően volt képes jelezni az izomrost típusok között fennálló különbségeket. Az I-es típusú rostok az eljárás szerint szignifikánsan nagyobb mértékű károsodást szenvedtek.

8. Klinikai vizsgálataink során az izomrost életképességet vizsgáló eljárás eredményeink szerint megfelelően képes jelezni a szövettani károsodás mértékét, hiszen enyhe károsodás esetén alacsony, közepes károsodás esetén közepes, míg súlyos károsodás esetén kifejezett életképesség csökkenés volt tapasztalható.

9. Ezen eljárás a vizsgálati eredmények szerint képes megfelelően megbecsülni az akut végtagi iszkémia klinikai kimenetelét, hiszen a magas életképesség értékek pozitív klinikai kimenetellel voltak összekapcsolhatók, míg a csökkent életképesség értékek esetén a végtagok megtarthatósága hosszú távon nem vált lehetségessé.

10. A posztkondícionálás 8 órás iszkémiás időtartamot követően is képes volt a fénymikroszkóposan detektálható szövettani károsodás mérséklésére a posztoperatív hatodik órát követően.

11. Az általunk alkalmazott sebésztechnikai eljárás az izomrostok életképességének tekintetében is kedvező hatásokkal rendelkezik az alkalmazott hosszú iszkémiás időtartamot követően.

12. A posztkondícionálás jelen kísérleti elrendezésben képes volt mind a lokális gyulladás, mind az ennek következtében fellépő szöveti ödéma kialakulásának mérséklésére.

13. A posztkondícionálás a szövettanilag sérültnek mutatkozó izomrostok aránya, az izomrostok életképessége, valamint a szérum kreatinin koncentrációk tekintetében, képes volt ugyan szignifikánsan csökkenteni ezen paramétereket, az időbeli dinamikájukat azonban nem befolyásolta az iszkémiás-reperfúziós csoporthoz képest. Azonban a szöveti nedvességtartalom tekintetében az eljárás feltehetően az időbeli dinamika megváltoztatásán keresztül volt képes az ödéma mértékének mérséklésére.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények:

Szijarto A, Turoczi Z, Aranyi P, Garbaisz D, Varga M, Stangl R, Lotz G, Kupcsulik P. (2010) Hosszú idejű végtagi verőér-elzáródás és izomszövet-életképesség vizsgálata kísérletes állatmodellben. [Long ischemic period of the lower limb--study of skeletal muscle viability in experimental animal models]. Magy Seb, 63 (6): 374-379.

Szijarto A, Turoczi Z, Aranyi P, Nagy Z, Gyurkovics E. (2010) Akut kritikus ischaemia az alsó végtagon. [Acute and critical ischemia of the lower limb]. Orv Hetil, 151 (50): 2057-2066.

Szijarto A*, Turoczi Z*, Szabo J, Kaliszky P, Gyurkovics E, Aranyi P, Regali L, Harsanyi L, Lotz G. (2013) Rapidly progressing fatal reperfusion syndrome caused by acute critical ischemia of the lower limb. Cardiovasc Path, 22 (6): 493-500.
IF: 2.336 * megosztott elsőszerzős közlemény

Turóczi Zs, Arányi P, Lukáts Á, Garbaisz D, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A. (2014) Muscle Fiber Viability, a Novel Method for the Fast Detection of Ischemic Muscle Injury in Rats. PLoS ONE, 9 (1): e84783. IF: 3,534

Turoczi Z, Fulop A, Lukats A, Garbaisz D, Lotz G, Harsanyi L, Szijarto A. (2014) Postconditioning protects skeletal muscle against a long-lasting vascular occlusion. J Invest Surg, 27 (5): 282-290. IF: 1,191

Rosero O, Nemeth K, Turoczi Z, Fulop A, Garbaisz D, Gyorffy A, Szuak A, Dorogi B, Kiss M, Nemeskeri A, Harsanyi L, Szijarto A. (2013) Collateral circulation of the rat lower limb and its significance in ischemia-reperfusion studies. Surg Today, 44 (12): 2345-2353. IF: 1,208

Az értekezés témájában megjelent közlemények összesített impakt faktora: 8.269

Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények:

Gyurkovics E, Arányi P, Turóczi Zs, Garbaisz D, Varga M, Hegedüs V, Lotz G, Kupcsulik P, Szijártó A. (2010) Postconditioning attenuates remote organ injury after lower limb arterial occlusion. Int Med Appl Sci, 2 (4): 169-177.

Arányi P, Turóczi Zs, Garbaisz D, Varga M, Lotz G, Kupcsulik P, Szijártó A. (2011) Posztkondicionálás: érsebészeti technika posztoperatív veseelégtelenség megelőzésére. Állatkísérletes eredmények. Hypertonia és Nephrologia, 15 (3): 117-124.

Szijártó A, Fülöp A, Turóczi Zs, Garbaisz D, Dudás E, Szabó J, Nánási R, Kupcsulik P. (2011) Rupturált hasi aorta aneurysma kisérletes modellje. A folyadék reszuszcitáció technikai megfontolásai. Aneszteziológia és Intenzív Terápia, 41 (2): 61-70.

Czigány Z, Turóczi Zs, Bulhardt O, Hegedűs V, Lotz G, Rakonczay Z, Balla Zs, Harsányi L, Szijártó A. (2012) Távoli szervi kondicionálás: rövid távú hepatoprotectiv hatások patkánymodellben. [Remote ischemic conditioning: short-term effects on rat liver ischemic-reperfusion injury]. Orv Hetil, 153 (40): 1579-1587.

Czigany Z, Turoczi Z, Onody P, Harsanyi L, Lotz G, Hegedus V, Szijarto A. (2013) Remote ischemic perconditioning protects the liver from ischemia-reperfusion injury. J Surg Res, 185 (2): 605-613. IF: 2,121

Garbaisz D, Turoczi Z, Fulop A, Rosero O, Aranyi P, Onody P, Lotz G, Rakonczay Z, Balla Z, Harsanyi L, Szijarto A. (2013) Therapeutic option for managing lung injury induced by infrarenal aortic cross-clamping. J Surg Res, 185 (1): 469-476. IF: 2,121

Garbaisz D, Turoczi Z, Fulop A, Rosero O, Aranyi P, Onody P, Lotz G, Rakonczay Z, Balla Z, Harsanyi L, Szijarto A. (2013) Alsó végtagi ischaemiás-reperfusiós károsodás hosszú távú tüdőszövődményeinek megelőzése posztkondicionálással. [Postconditioning can reduce long-term lung injury after lower limb ischemia-reperfusion]. Magy Seb, 66 (3): 146-154.

Onody P, Stangl R, Fulop A, Rosero O, Garbaisz D, Turoczi Z, Lotz G, Rakonczay Z Jr, Balla Z, Hegedus V, Harsanyi L, Szijarto A. (2013) Levosimendan: a cardiovascular drug to prevent liver ischemia-reperfusion injury? PLoS ONE, 8 (9): e73758. IF: 3,534

Garbaisz D, Turoczi Z, Aranyi P, Fulop A, Rosero O, Hermesz E, Ferencz A, Lotz G, Harsanyi L, Szijarto A. (2014) Attenuation of skeletal muscle and renal injury to the lower limb following ischemia-reperfusion using mPTP inhibitor NIM-811. PLoS ONE, 9 (6): e101067. IF: 3,534

Rosero O, Ónody P, Kovács T, Molnár D, Lotz G, Tóth Sz, Turóczi Zs, Fülöp A, Garbaisz D, Harsányi L, Szijártó A. (2014) Impaired intestinal mucosal barrier upon ischemia-reperfusion: "patching holes in the shield with a simple surgical method". Biomed Research Int, 2014: 210901. IF: 2,706

Rosero O, Onody P, Stangl R, Turoczi Z, Fulop A, Garbaisz D, Lotz G, Harsanyi L, Szijarto A. (2014) Postconditioning of the small intestine: which is the most effective algorithm in a rat model? J Surg Res, 2014; 187 (2): 427-437. IF: 2.121

Aranyi P, Turoczi Zs, Garbaisz D, Lotz G, Geleji J, Hegedus V, Rakonczay Z, Balla Zs, Harsanyi L, Szijarto A. (2015) Postconditioning in major vascular surgery: prevention of renal failure. BMC J Transl Med, 13 (1): 21. IF: 3.99

Czigany Z, Turoczi Z, Kleiner D, Lotz G, Homeyer A, Harsanyi L, Szijarto A. (2015) Neural elements behind the hepatoprotection of remote perconditioning. J Surg Res, 193 (2): 642-651. IF: 2.121

Turóczi Zs, Fülöp A, Czigány Z, Varga G, Rosero O, Tökés T, Kaszaki J, Lotz G, Harsányi L, Szijártó A. (2015) Improvement of small intestinal microcirculation by postconditioning after lower limb ischemia. Microvasc Res, 98: 119-125. IF: 2.432

Megjelent in extenso közlemények összesített impakt faktora: 32,949.