

A T 037810 sz. OTKA (Adamicza Ágnes) részletes zárójelentése

Kutatási programunkban a mesenterialis ischemia-reperfúzió (mIR) pulmonális távolhatásában szerepet játszó pathomechanizmusokat tanulmányoztuk 1./ a szakirodalomban ritka, légzésmechanikai metodikával, illetve, 2./ olyan elterjedt biokémiai módszerekkel, melyek eredményei összehasonlíthatóak az irodalmi adatokkal.

A kutatás tematikája, a zárójelentés végén jelzett objektív okok miatt módosult.

Hipotézisek/feladatok a módosult/megvalósult kutatási programunkban:

- mivel a mIR során károsodott bélfal-barrieren keresztül endotoxin (ETX) kerülhet a keringésbe, szubletális dózisu ETX előkezeléssel, mint farmakológiai prekondicionálással, kereszt-tolerancia indukálható a mIR-val szemben, és ez az endogén védelem a mIR tüdőre gyakorolt távolhatását is módosíthatja,
- az ETX komplex hatásának fő támadáspontja a tüdő, így a kialakuló humorális és hemodinamikai változásoknak légzésmechanikai következményei is lehetnek, ezek megoszlása a légút és a tüdőszövet vonatkozásában, eddig, megfelelő módszer hiányában nem tisztázott,
- a mIR-ban kialakuló bronchiális dilatáció és parenchymális konstriktio háttérben ellentétes hatású mediátorok szerepe feltételezhető, így a vazo- és bronchokonstriktor hatású endothelin (ET) jelentős mértékben hozzájárulhat a mIR-indukálta pulmonális károsodásban és a légzési zavarok kialakulásában,
- mIR gyakori szövödménye a tüdőödéma, az endotoxémia mellett egy másik, a klasszikus oleinsav (OL)-indukálta ödémamodellben kívánjuk vizsgálni a légúti és tüdőszöveti változásokat,
- mIR-ban, a pulmonális távolhatásban központi szerepet játszó, a tüdő mikrokeringésében akumulálódó aktivált neutrophilokból proteáz enzimek szabadulnak fel, melyek hozzájárulnak a tüdőkárosodások kialakulásához; tisztázni kívánjuk mIR pulmonális mechanikai hatásait proteázgátló jelenlétében,
- a hemorrhagiás shock pathofiziológiai folyamataiban, hasonlóan a mIR-hoz, központi szerepe van a neutrophil sejtek akumulációjának mind a splanchnikus területen, mind a tüdőben, ahol a gyulladós folyamatok tüdőödéma kialakulásához vezetnek; kevés és ellentmondásos adat áll rendelkezésünkre a hemorrhagiás shock légzésmechanikai hatásairól,
- intesztinális ischemiás prekondicionálás (IP) során tolerancia indukálódik, azaz rövid prekondicionáló ischemia-reperfúziót követően endogén védelem alakul ki a későbbi hosszabb időtartamú és súlyosabb ischemia-reperfúzióval szemben; mivel mIR jelentős pulmonális távolhatással bír mind a légutakban, mind a tüdőszövetben, így módosulhat a mIR távolhatása az IP során.

Módszertani áttekintés

Ismeretes, hogy a mIR-ban a lokális hatások mellett szisztémás gyulladós reakciók indukálódnak, melyek jelentős távoli szervkárosodásokkal járnak. A távolhatás elsősorban a tüdőben jelentkezik, és akut tüdőkárosodáshoz, illetve a nagy mortalitású ARDS kialakulásához is vezethet. A mIR pathomechanizmusát multifaktoriális folyamatnak tartják, melyben mind a helyi, mind a humorális mediátorok által szabályozott neutrophil-endothel interakciónak központi szerepe van. A szakirodalmat áttekintve, a mIR távolhatását többnyire

biokémiai (enzimek, mediátorok mérése), farmakológiai (receptor gátlók, mediátor antagonisták), makro- és mikrohemodinamikai (nyomás, áramlás, rezisztencia) és morfológiai (szóvetten, intravitális mikroszkópia) módszerekkel tanulmányozták. Viszonylag kevés közlemény foglalkozik a mIR tüdőre gyakorolt mechanikai hatásával. Ezekben, azonban, hagyományos légzésmechanikai paramétereket (tüdő compliance, tüdő ellenállás, pulmonális nyomás) vizsgáltak, melyek együttesen tartalmazzák a légúti és szöveti mechanikai változásokat. Ugyanakkor, a viszkoelasztikus tulajdonságú tüdőszövet ellenállása a pulmonális rezisztencia jelentős hányadát képezi a spontán légzési frekvencián. *In vivo és in vitro* kísérletekkel bebizonyították, hogy a tüdőszövet bronchoaktív anyagok hatására aktív válaszreakcióra képes, a struktúrális elemei (kollagén-elasztin-proteoglikán mátrix, surfactant, a kontrakció során érvényesülő kontraktilis elemek) révén jellemző rá a hiszterézis jelensége. A szöveti konstrikciót, melyben az alveolusok geometriájának változásával a surfactant reológiai tulajdonságai is változnak, a parenchyma simaizom elemei és a szöveti mátrix határozzák meg. A pulmonális rezisztencia két komponensből áll: a légúti és szöveti ellenállás. A spontán légzési frekvencián a szöveti komponens, speciéstől függően, a pulmonális rezisztencia jelentős hányadát képezi. Konstrikcióban mindkét komponens jelentős mértékben nő, sőt a szöveti ellenállás emelkedése sok esetben nagyobb mértékű, mint a légútié.

A légúti és szöveti mechanikai tulajdonságok szétválasztásának egyik módszere a tüdő alacsonyfrekvenciás bemenő impedanciájának a mérése, a SZTE Orvosi Informatikai Intézetében működő légzésmechanikai munkacsoport (Dr. Hantos Zoltán egyetemi tanár vezetésével) által kifejlesztett kényszerített oszcilláció módszerével. Az impedanciagörbékre egy, a légút és a tüdőszövet mechanikai tulajdonságait tartalmazó modellt illesztünk, melynek során a légúti és szöveti összetevők a különböző frekvenciatartományban mutatott eltérő viselkedésük alapján elkülöníthetők. A légúti összetevő egy frekvenciafüggetlen rezisztív (légúti ellenállás), és egy, a frekvenciával lineárisan növekvő inertív (légúti inertitás) paramétert tartalmaz. Ez utóbbi főleg a centrális légutakat jellemző, a tüdőben áramló gáz tehetetlenségével arányos faktor. A szöveti komponens két, a frekvenciával megközelítőleg fordított arányban álló paramétert tartalmaz, amelyek a szöveti ellenállás (a konstrikció során a súrlódásból eredő szöveti csillapítás jellemzője), és a szöveti rugalmassági tényező vagy elaszticitás (a szövetekben tárolt energia jellemzője). Ez az érzékeny, korszerű és nagyobb információtartalommal rendelkező módszer alkalmasnak bizonyult mind kontroll állapotban, mind bronchoaktív anyagok-okozta konstrikcióban a légúti és szöveti tulajdonságok jellemzésére.

A légzésmechanikai méréseket biokémiai (tüdőszövet cNOS, iNOS és MPO aktivitása, plazma endothelin –ET– szint mérése) vizsgálatokkal, valamint fehérvérsejtszám (WBC) meghatározással, és az ödéma becslésére alkalmas tüdőszöveti gravimetriás analízissel (WW/DW, nedves/száraz súly) egészítettük ki.

Eredmények

ETX szerepe az mIR pulmonális távolhatására

Irodalmi adatok utalnak arra, hogy mIR során a károsodott bélfal-barrieren keresztül ETX kerül a keringésbe, illetve ETX előkezeléssel tolerancia váltható ki. Kísérleteinkben szubletális dózisu ETX előkezelést, mint farmakológiai prekondicionálást alkalmaztunk, majd 1 és 3 nap múlva mIR-t váltottunk ki, altatott, paralizált, mesterségesen lélegeztetett patkányokon. Vizsgáltuk a mIR pulmonális távolhatását az irodalomban ritka, a légutakra és tüdőszövetre jellemző légzésmechanikai paraméterek és gyulladásos markerek (tüdőszöveti MPO, NOS aktivitások, ödéma) segítségével. Eredményeinkkel először mutattunk rá arra, hogy mIR jelentős mechanikai következményekkel jár nemcsak a légutakban, hanem a

tüdőszövetben is: a reperfúzió kezdetén légúti ellenállás csökkenést tapasztaltunk, míg a szöveti paraméterek konstriktor hatást jeleztek. Ugyanakkor, fokozott NOS és MPO aktivitások, valamint ödéma mutatható ki a tüdőben. A szubletális endotoxin előkezelések megváltoztatják a tüdő mechanikai állapotát, és mérséklék a paraméterek változását, valamint módosítják a szöveti NOS és MPO aktivitásokat mIR-ban. ETX-al történő prekondicionálás módosítja a mIR-ra adott válaszreakciókat, ami az ETX-indukálta sejtes vagy humorális folyamatok jelentőségét bizonyítja mIR pulmonális távolhatásában. [1,2,4]

ETX légzésmechanikai hatásai

Mind a klinikumban, mind kísérleti körülmények között endotoxémia gyakran kialakulhat a bél mucosát ért hypoxiás károsodás következtében. Az ETX hatására végbemenő humorális és hemodinamikai változások következtében a tüdő funkcionális és strukturális szempontból is károsodik, és az ARDS-hez hasonló akut légzési elégtelenség tünetei (endothel/epithel sejt-károsodás, endothel/neutrophil interakció, hypoxémia, pulmonális hipertenzió, permeabilitás növekedés, intersticiális/alveoláris ödéma, surfactant inaktiváció) jelentkeznek. Megváltoznak a tüdő mechanikai tulajdonságai is, így csökken a compliance és az FRC (funkcionális reziduális kapacitás), nő a légúti rezisztencia. Egyesek szerint, a légzésmechanikai változásokat többnyire a légúti simaizmok kontrakciója okozza, míg mások az intersticiális/alveoláris ödéma, és az endogén felszabaduló mediátorok okozta légúti konstriktó jelentőségét hangsúlyozzák. Mások szerint a tüdő mechanikai tulajdonságainak változása nem az ödémával magyarázható, hiszen még annak kialakulása előtt lejátszódnak, hanem feltehetően a bronchokonstriktor prosztaglandin, a TxA_2 hatásával, mivel cyclooxygenáz gátlókkal a változások kivédhetők, illetve csökkenthetők. A légúti ellenállás fokozódásában és a compliance csökkenésében a leukotriének vagy az ödéma miatt bekövetkező surfactant inaktiváció is részt vesznek. A compliance csökkenés még az alveoláris-kapilláris membrán permeabilitás növekedése előtt bekövetkezik, és korrelációban van a fehérvérsejtszám csökkenésével, valamint a pulmonális nyomás emelkedésével. Ebben a korai folyamatban a tüdő mikrokeringésében szekvesztrálódott neutrofil sejteknek és a felszabaduló mediátoroknak (hisztamin, prosztaglandinok, szerotonin) lehet szerepük, míg a későbbiekben, az előzőek mellett, a megváltozott pulmonális hemodinamikai viszonyok következtében kialakuló intersticiális/alveoláris ödéma is hozzájárulhat a légzésmechanikai változásokhoz.

Kísérleteink célja az volt, hogy szubletális dózisú ETX (10 mg/kg iv. bolus, infúzió) által kiváltott endotoxémiában vizsgáljuk 1./ a tüdő (légutak és parenchyma) mechanikai állapotának alakulását, 2./ a tüdőszövet NOS (cNOS, iNOS) és MPO aktivitását, 3./ a tüdőödéma mértékét. Légzésmechanika: bolusban beadott ETX hatására lassú (30-60 perc) légúti ellenállás csökkenést tapasztaltunk, majd fokozatos visszatérést. A szöveti ellenállás emelkedett, majd csökkent, de a kísérlet végén (5. óra) is szignifikánsan magasabb maradt. Az elaszticitás nem változott. WBC: átmeneti, szignifikáns csökkenés után a WBC szám visszatért a kontroll szintre. Gravimetria: a WW/DW szignifikánsan magasabb ($5,46 \pm 0,06$), mint a kontroll csoporté ($4,88 \pm 0,08$). A keringő WBC szám korrelál a WW/DW-el ($r=0,463$, $P<0,05$). NOS: mind a cNOS, mind az iNOS aktivitás emelkedett. MPO: szignifikánsan nagyobb.

Mesterséges lélegeztetés során gyakran atelektázia alakul ki, ezért a légzésmechanikai mérésekben nagy jelentősége van a rendszeresen alkalmazott hiperinflációnak (a respirátor kilégző szárának 1-2 ciklusra történő elzárása). Adott időpontban két légzésmechanikai mérés történt: hiperinfláció előtt és után. Kontroll állapotban a hiperinfláció szignifikánsan csökkentette a szöveti paramétereket. Endotoxémiában a szöveti ellenállás hiperinfláció előtt szignifikánsan nagyobb, mint hiperinfláció után, és a különbség fokozatosan nő a kísérlet végéig.

A továbbiakban 10 mg/kg ETX 30 perces iv. infúziójának a hatását vizsgáltuk. Infúzió hatására mindkét szöveti paraméter nőtt, a légúti ellenállás a kísérletek egy részében emelkedett, illetve kis mértékben csökkent. A WBC szám szignifikánsan csökkent a kísérlet végéig.

Az eredmények azt jelzik, hogy endotoxémiában a gyulladáshoz vezető folyamatok hatása elsősorban a tüdőszöveti mechanika változásában nyilvánul meg.

Plazma ET mérése mIR-ban

A mi mIR modellünkben, a reperfüzió elején jelentkező légúti dilatáció és tüdőszöveti konstriktó háttérben ellenkező hatású mediátorok szerepét feltételezzük. Mind az ET (bronchokonstriktor), mind az NO (bronchodilatátor) részt vesz a tüdő pathofiziológiai folyamataiban. Bizonyos kórképekben (szepszis, ARDS) nő a szintézisük, és a pulmonális változásokat e két mediátor közti egyensúly eltolódása határozza meg. A viszonylag kevés irodalmi adat azt jelzi, hogy mIR-ban nő az ET szintézis, különösen a splanchnikus területen, és ETX felerősíti ezt a folyamatot. A vér ET szintje már az ischemia alatt megemelkedik, és maximális értékét a reperfüzióban éri el. Egyik korábbi közleményünkben (Adamicza és mtsai., Endothelin-1-induced lung mechanical responses in guinea pigs: The roles of ETA and ETB receptors, Eur. Respir. J. 17: 975-981, 2001.) a kényszerített oszcilláció módszerével kimutattuk, hogy 1./ az ET dózisfüggő módon, mind a légutakban, mind a parenchymában konstriktóit idéz elő, 2./ ETA és ETB receptor antagonistákkal történő előkezelést követően szignifikánsan csökken a konstriktor hatás tengerimalac tüdőben. Egy másik közleményünk (Adamicza és mtsai., Remote effects of mesenteric ischaemia-reperfusion in rats: Role of nitric oxide in lung mechanics, J. Physiol. 526 (Suppl. S): 140P, 2000.) szerint ecNOS gátló (NNA) jelenlétében mIR-ban a mechanikai változások, együtt a szöveti MPO aktivitással és ödémával, súlyosbodtak patkány tüdőben. Ezek az eredmények alátámasztják azokat az irodalmi adatokat, melyek szerint mIR korai szakaszában az ecNOS-eredetű NO leukocita-endothelium interakció és epithel permeabilitás gátló hatása hasznos a gyulladáshoz vezető folyamatok szempontjából. Ugyanakkor, az ET ezen folyamatok súlyosbodásáért felelős. Mindezen előzmények alapján kívántuk tisztázni az ET szerepét a mi mIR modellünkben (1 órás ischemia, 4 órás reperfüzió) patkányban. A tervezett program, a zárójelentés végén taglalt problémák miatt, kizárólag a plazma ET szintek mérésére korlátozódott. Kísérleteinkben a plazma ET szint már az ischemia végén (nem szignifikánsan) magasabb volt a kontrollnál, majd a reperfüzió 60. percében érte el maximális értékét (1,6x). A reperfüzió végére kis mértékben csökkent (1,3x), de a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb maradt. Ebben az időszakban, a mIR modell túlélése, szemben a korábbi 100%-al, 31%-os volt. A túlélő és nem-túlélő állatok között az ET szintben nem volt különbség.

Oleinsav okozta tüdőödéma légzésmechanikai vizsgálata

A mIR szövődésének a multifaktoriális okok, köztük pulmonális vazokonstriktó és mikrovaszkuláris permeabilitás fokozódás, következtében kialakuló tüdőödéma. A folyamat kialakulásáért a reperfüzió ideje alatt felszabaduló gyulladáshoz vezető mediátorok - TNF- α , ET, interleukin-1, eikozanoidok, leukotrién-B₄, trombocita aktiváló faktor, TxA₂ stb.- felelősek, melyek kemoattraktív és kemoaktivátor hatással vannak a neutrophil sejtekre. mIR-ban a bél mucosa károsodása következtében endotoxémia alakulhat ki mind a klinikumban, mind kísérletes körülmények között. Az ETX-nak a szepszishez társuló ARDS-ben is nagy jelentősége van a légzési zavarok kialakulásában. Az ARDS pulmonális folyamatainak vizsgálatára és a háttérmechanizmusok tisztázására kiválóan alkalmas, az ETX mellett, az OL által kiváltott nagy permeabilitású ödéma modell tanulmányozása állatkísérletekben. ARDS-ben a különböző betegségek fő pulmonális tünete az, endotheliális és alveoláris epithel károsodás következtében kialakuló fehérjében gazdag, intersticiális/alveoláris ödéma. Az OL közvetlen endothel/epithel károsító hatása miatt plazma és fehérjekiáramlás történik az

alveoláris térbe, ami surfactant inaktiválódáshoz, az alveoláris struktúra változásához és a légcserében résztvevő tüdőrészek csökkenéséhez vezet. Csökken az FRC és a teljes tüdőkapacitás. Mindezen folyamatok légzésmechanikai vonatkozásai: tüdő ellenállás növekedés, és compliance csökkenés. Kísérleteinkben az OL négy dózisa (0.025, 0.5, 0.1, 0.3 ml/kg) által kiváltott légúti és szöveti mechanikai tulajdonságokat vizsgáltuk a kényszerített oszcilláció módszerével, mértük az ödémát gravimetriás analízissel, valamint megvizsgáltuk a mechanikai paraméterek és az ödéma mértéke közti összefüggést. Eredményeink: az OL dóziszfüggő módon növelte a légúti és szöveti ellenállást és a szöveti elaszticitást, a nem-túlélő állatokban szignifikánsan nagyobb értékeket kaptunk, mint a túlélőkben; OL dóziszfüggő módon növelte a tüdőszövet nedves (WW) és száraz súlyát (DW), valamint a WW/DW-t; pozitív korrelációt kaptunk az ödéma mértéke és a szöveti paraméterek között. Eredményeinkből arra következtetünk, hogy az OL-okozta pulmonális folyamatokban nemcsak a légutak, hanem a tüdőszövet is részt vesz. Sőt, az ödéma kialakulását, illetve mértékét elsősorban a parenchyma mechanikai tulajdonságai jelzik. Az OL által okozott megnövekedett permeabilitás következtében nemcsak a WW, hanem a DW is emelkedett, melynek egyik oka lehet az ödémafolyadék magas fehérjetartalma, illetve sejtes alkotóelemek megjelenése [3].

Elasztásgátlás (Eglin C) légzésmechanikai hatása

A mIR pulmonális távolhatásában központi szerepet játszó, a tüdő mikrokeringésében akkumulálódó aktivált neutrophil sejtekből proteáz enzimek szabadulnak fel, melyek a tüdő matrix proteoglycan strukturájának, és az endothelium bazális membránjának a lebontásáért felelősek. Ezen enzimek egyik típusa az elasztáz, mely sejtes és matrix fehérjék, főleg a tüdőszövetben fontos szerepet játszó elasztin lebontásában vesz részt. Ezenkívül, az epithel sejteken keresztül fokozza az IL-8 termelődését, mely kemoattraktív hatásánál fogva elősegíti további neutrophil sejtek szekvesztrációját, valamint epithel károsító hatásánál fogva csökkenti a csillók hatékonyságát és a phagocytá clearancet. Fokozza az oxigén metabolitok (szuperoxid anion, hidrogén peroxid) termelődését a makrofágokban. Kimutatták, hogy mIR-ban a BAL elasztáz tartalma nő, mely proteázgátlóval kivédhető. Kísérleteinkben tisztázni kívántuk mIR pulmonális mechanikai hatásait proteázgátló (Eglin C) jelenlétében, különös tekintettel arra, hogy az irodalomban ilyen jellegű vizsgálatok még nem történtek. Eglin C egy, 70 aminosavból álló polipeptid (Ms. 8100), mely gátolja a neutrophil-eredetű elasztáz és cathepsin G enzimek aktivitását. Eglin C a kontroll állatokban a tüdő mechanikai tulajdonságait nem befolyásolta. Ischemia előtti Eglin C bolus (2 mg/kg iv.), majd az ezt követő folyamatos, a kísérlet végéig tartó infúzió (2 mg/kg iv.) különösen az elaszticitás növekedést mérsékelte reperfúzióban. A keringő WBC szám nem csökkent olyan mértékben, mint a kezeletlen mIR-ban. Feltételezésünk szerint, Eglin C csökkentette a gyulladós folyamatokat is, mivel kivédte a mIR-okozta tüdőödémát (WW/DW: mIR+Eglin C=4,81±0,03 vs mIR=5,1±0,03 P<0,001). Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy, mivel proteázgátló módosítja a mIR tüdöre, különösen a szövetre gyakorolt mechanikai hatásokat, és csökkenti a gyulladós folyamatokat, így a mIR pulmonális távolhatásában a proteáz enzimek mediálta folyamatok is részt vesznek.

Hemorrhagiás shock légzésmechanikai hatásai

Hemorrhagiás shock az egész testre kiterjedő, generalizált ischémiának tekinthető, melyben a véráramlás redisztribúciója, a splanchnikus területen bekövetkező kompenzációs vasokonstriktió, és a csökkent arteria mesenterica superior véráramlás miatt az ischémiás folyamat sokkal kifejezettebb a bélben, mint más szervekben. Így véreztetés során, a mIR-hoz hasonlóan, a bél barrier funkciója csökken, és a fokozott bakteriális transzlokáció következtében toxinok kerülhetnek a bél lumenéből a keringésbe. A hemorrhagiás shock

pathofiziológiai folyamataiban, hasonlóan a mIR-hoz, központi szerepe van a neutrophil sejtek akkumulációjának mind a splanchnikus területen, mind a tüdőben, ez utóbbi esetben a gyulladással járó folyamatok tüdő ödéma kialakulásához vezetnek. Kevés és ellentmondásos adat áll rendelkezésünkre az irodalomban a hemorrhagiás shock légzésmechanikai hatásairól; főleg a teljes légzőrendszer ellenállását (nő, vagy nem változik), a tüdő compliance-t (csökken), és az FRC-t (nő) vizsgálták. Ezek a paraméterek nem jelzik a parenchymában bekövetkező változásokat. Ezért altatott, paralizált, mesterségesen lélegeztetett patkányok hemorrhagiás shock modelljében (hipotenziós szakasz 1 óra=véreztetés 40 Hgmm-es vérnyomásra; reinfúzió után 2 óra) szeparáltan vizsgáltuk a légúti és szöveti mechanikai tulajdonságokat. Véreztetést követően, a hipotenziós szakaszban (40 Hgmm, átlagos vérzési térfogat 38,1 ml/kg) szignifikáns légúti ellenállás csökkenést és szöveti ellenállás növekedést tapasztaltunk. Ugyanakkor, az elaszticitás a kezdeti, szignifikáns csökkenés után fokozatosan emelkedett a hipotenzió végére. Reinfúzió után a légúti ellenállás visszatért a kontroll szintre. A szöveti ellenállás először lecsökkent a kontroll szintre, majd fokozatosan ismét emelkedett, míg az elaszticitás szignifikánsan magas értéken stabilizálódott. A szövet gravimetriás analízise mérsékelt ödémát mutatott. Hemorrhagiás shock hipotenziós szakaszában mind a légutak, mind a tüdőszövet mechanikai tulajdonságai megváltoznak. Reszuszcitációt követően a tüdőszövet mechanikájában, ellentétben a légutakkal, maradandó változások következnek be. A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy ismételt (3x), rövid idejű (5 perc), szubletális (becsült vértérfogat 15%-a) véreztetések, mint az ischemiás prekondicionálás egy speciális formája, hatására hogyan változnak az egy óra múlva kiváltott mIR tüdőre gyakorolt válaszreakciói. A kondicionálás után a légúti ellenállás nem változott, a szöveti paraméterek szignifikánsan emelkedtek. Az ezt követő mIR-ban megváltozott a tüdő mechanikai válaszreakciója, kisebb mértékű a légúti ellenállás csökkenés a reperfüzió elején, és nem következett be további szöveti ellenállás növekedés. Ischemiában az elaszticitás fokozatosan csökkent, majd reperfüzióban ismét emelkedett. Véreztetések növelték a keringő WBC-t, mely mIR-ban fokozatosan csökkent. Eredményeink azt mutatják, hogy hemorrhagiás shockban a légutak és különösen a tüdőszövet mechanikai tulajdonságai megváltoznak, és a változás mértéke a parenchymában sokkal nagyobb.

Intesztinális ischemiás prekondicionálás légzésmechanikai hatása

Az ischemiás prekondicionálás (IP) az a folyamat, melynek során egy vagy ismételt, szubletális, rövid idejű IR toleranciát indukál, mely véd a későbbi, hosszabb időtartamú IR-val szemben. A folyamat átmeneti és két fázisból áll: az IP korai fázisának időtartama 2-3 óra, a késői fázis, mely fehérjeszintézis-függő folyamat, 12-24 óra múlva alakul ki. Az IP jelenségét először kutya szívizomban mutatták ki, de más szervekben (vese, agy, máj, bél) is kiváltható, egyrészt mechanikai úton (pl. ischemiával), másrészt farmakológiai prekondicionálással (ETX, citokinek, adenzin, NO donorok). Az IP hatékonyságát befolyásolja a rövid, prekondicionáló stimulusok időtartama és az időzítésük. A szakirodalom alapján, intesztinális IP során a prekondicionáló IR időtartama, patkányokban, általában 3-10/5-10 perc, és a legtöbb esetben egyetlen, illetve néhány esetben 2-3 rövid IR-t alkalmaznak. A bélben termelődő NO, melynek a szintje IP-ben nő, az egyik fontos mediátor. Kimutatták, hogy IP-ben csökken a bél MPO szintje, így csökken a lokális szöveti károsodás mértéke, az oxidatív stressz, és gátolt a leukocita aktiváció. A bél IP során a kisebb mértékű szöveti nekrozis a bakteriális transzlokáció csökkenéséhez vezet. Emellett, a keringő leukociták száma, és reaktív oxigén gyöktermelő képességük, valamint a kitapadási hajlamuk nagymértékben meghatározza a mIR és az IP távolhatását. Irodalmi adatok igazolják, hogy ismételt mIR-k potenciálják a gyulladással járó válaszreakciókat és fokozzák a leukociták szisztémás aktivációját, mely együtt jár a fokozott pulmonális kapilláris permeabilitással, az akut tüdőkárosodás egy korai tünetével.

Hipotézisünk szerint, a prekondicionálás során tolerancia indukálódik, vagyis endogén védelem alakul ki a későbbi ischemia/reperfúziós stresszel szemben, így módosulhat a mIR pulmonális távolhatása is. Kísérleteinkben az IP tüdőre gyakorolt távolhatását vizsgáltuk altatott, paralizált, mesterségesen lélegeztetett patkányokban. Vizsgáltuk az IP légzésmechanikai hatásait (szeparáltan a légúti és tüdőszöveti tulajdonságokat: légúti ellenállás, szöveti ellenállás, szöveti elaszticitás), a bél (ileum) és tüdőszövet MPO (a neutrophil sejtek kitapadásának mértékét jelzi) és NOS (cNOS, iNOS) aktivitását, a WBC számot, valamint a tüdőszövet gravimetriás analízisét (WW/DW). Két prekondicionálási modellt alkalmaztunk: 1. IP5/30 csoportban 5 perces ischemia/30 perces reperfúzió után következett az IR (a. mesenterica superior 60 perces leszorítása és 180 perces reperfúzió), 2. IP3x2/5/30 csoportban 3x2 perces ischemia/5 perces reperfúziók után 30 perccel IR modell. A negyedik csoportban (IR) csak mIR-t alkalmaztunk. A korábbi kísérletsorozatokban ezt az IR modellt a Wistar patkányok 100%-a túlélte, a jelenlegi kísérletekben csak 36%-os volt a túlélés.

IP légzésmechanikai hatásai. Mindkét IP csoportban az intesztinális prekondicionálásnak szignifikáns pulmonális mechanikai következményei vannak.

Légzésmechanikai változások ischemiában. IR: változatlan légúti ellenállás mellett szignifikáns szöveti ellenállás és elaszticitás emelkedés mérhető az ischemia végére. IP5/30: a reperfúzió elején jelentős légúti ellenállás csökkenés, szignifikánsan nagyobb szöveti ellenállás növekedés, mint IR-ben, és hasonló elaszticitás növekedés. IP3x2/5/30: előzőhöz hasonló légúti ellenállás csökkenés és szöveti ellenállás emelkedés, és átmeneti, kis mértékű elaszticitás növekedés.

Légzésmechanikai változások reperfúzióban. Reperfúzió elején mindkét IP csoportban hasonló légúti ellenállás csökkenés van, mint IR-ben, mely a kísérlet végéig tovább csökken. IP5/30-ban a szöveti ellenállás emelkedés kisebb, mint IR-ben. 3x2/5/30: nincs szöveti ellenállás változás. IP5/30: a reperfúzió elején az elaszticitás hasonlóan emelkedik mindkét IP-s csoportban, mint IR-ben, majd a reperfúzió későbbi szakaszában a görbe ellaposodik, az emelkedés mértéke kisebb, mint IR-ben.

Vérnyomás. Ischemiában a vérnyomás emelkedés az IP3x2/5/30 csoportban elmaradt.

WW/DW: Az IP3x2/5/30 csoportban szignifikánsan kisebb, mint az IR-ben.

Mivel az mIR modell túlélése alacsony volt, ezért a továbbiakban az előzőnél gyengébb IR modellt (30 perces ischemia, 180 perces reperfúzió) alkalmaztunk.

Kísérleti modellek: 1. IP5/5 csoport: 5 perces ischemia/5 perces reperfúzió után következett a mIR modell (a. mesenterica superior 30 perces leszorítása és 180 perces reperfúzió), 2. IP5/30 csoport: 5 perces ischemia/30 perces reperfúzió után mIR modell, 3. IP3x2/5/30 csoport: 3x2 perces ischemia/5 perces reperfúziók után 30 perccel mIR modell. A negyedik csoportban (IR) csak mIR-t alkalmaztunk.

IP légzésmechanikai hatásai. Mindhárom IP csoportban az intesztinális prekondicionálásnak szignifikáns pulmonális mechanikai következményei vannak.

Légzésmechanikai változások. IR: a légúti ellenállás az ischemia alatt nem változik, és ellentétben az előző mIR modellel, a reperfúzióban sem csökken. A szöveti ellenállás reperfúzióban nő, és a késői szakaszban csökken, de végig szignifikánsan nagyobb, mint a kontroll érték. Az elaszticitás ischemiában nő, majd tovább emelkedik a reperfúzió végéig. IP5/30: a légúti ellenállás ischemiában nő, majd a reperfúzió elejétől fokozatosan csökken a kontroll szintre. A szöveti ellenállás nem változik. Az elaszticitás az ischemia elejétől fokozatosan nő, majd a reperfúzióban szignifikánsan nagyobb értéket ér el, és végig ezen a szinten marad. A reperfúzió elején elmarad a szokásos ugrásszerű emelkedés. IP3x2/5/30: a légúti ellenállás a reperfúzió elején nagyobb mértékben csökken, mint az IR-ben, majd a kontroll szintre nő. A szöveti ellenállás az IR-hez hasonló mértékben emelkedik a reperfúzió

elején, majd a végén a kontroll szintre csökken. Az elaszticitás ischemiában szignifikánsan emelkedik, majd tovább nő a reperfúzióban, de a változás kisebb, mint az IR-ban.

Vérnyomás. Az ischemia alatt a vérnyomás emelkedik az IR csoportban. Ez az emelkedés az IP3x2/5/30 és IP5/5 csoportokban hasonló mértékű, de az IP5/30 csoportban elmaradt. Reperfúzióban a négy csoport vérnyomásválaszaiban nem volt jelentős különbség.

Összehasonlítva a két mIR modellt, a légúti ellenállás és a szöveti elaszticitás változása a reperfúzió elején függ az ischemia időtartamától, míg a szöveti ellenállás független attól. A reperfúzió késői szakaszában mindhárom mechanikai paraméter az ischemia időtartamától függően változik. IP-nek jelentős légzésmechanikai hatása van: 5 perces ischemia tartósan emeli a légúti ellenállást és a szöveti elaszticitást, 3x2 perces ischemiákat követően mindhárom mechanikai paraméter szignifikánsan emelkedik. IP módosítja a légzésmechanikai paraméterek alakulását a mIR-ban is, részben kivédi/csökkenti a mechanikai változásokat, részben megváltoztatja a változások irányát (átmeneti légúti ellenállás emelkedés, ami feltételezhetően bronchokonstriktiót jelent). A mechanikai paraméterek a reperfúzió végére az IP5/30 csoportban változtak a legkisebb mértékben.

MPO. A bélben szignifikánsan alacsonyabb az IP5/30 és IP3x2/5/30 csoportban. A tüdőben nincs különbség a négy csoport között.

NOS. A bél cNOS aktivitása az IP5/30 és IP5/5 csoportban szignifikánsan kisebb, az iNOS aktivitás az IP3x2/5/30 csoportban szignifikánsan kisebb, mint az IR-ben. A tüdő NOS aktivitások nem különböznek szignifikánsan (IP5/30-ban a cNOS nagyobb, IP3x2/5/30-ban az iNOS kisebb, mint az IR-ben).

WW/DW. IP nem befolyásolja a WW/DW értékek alakulását.

A lokális (intesztinális) gyulladáshoz vezető folyamatok szempontjából az IP5/30 és IP3x2/5/30 modell a legelőnyösebb (alacsony MPO és iNOS aktivitások). A távolhatás (pulmonális folyamatok) tekintetében, a három IP modell között nincs különbség, ezt jelzi a légzésmechanikai paraméterek, az MPO és NOS eredmények, valamint az ödéma mértéke is. Tehát, azok az előnyös hatások, melyek IP során lokálisan, a bélben érvényesülnek, a pulmonális folyamatokban nem érzékelik a hatásukat.

További eredményeink – laparotomia/hasi seb zárása/hasi folyadék légzésmechanikai hatása

Tisztázni kívántuk, hogy mIR-ban a hasban, illetve a belekben felgyülemlett folyadék befolyásolja-e és milyen mértékben a mechanikai paraméterek változását. A has nyitása/zárása nem befolyásolta a légzésmechanikai paramétereket. A has térfogat növekedése/csökkenése emelte/csökkentette a légúti ellenállást és szöveti elaszticitást.

Problémák, melyek a kutatási programunk tervezett menetét alapvetően befolyásolták

A kutatási periódus első évének (2002) a második felétől a tervezett kísérleteinknek csak egy részét tudtuk elvégezni a patkány populációban tapasztalt mycoplasmosis és Corona vírusfertőzés miatt. A fertőzések egyik fő tünete a fokozott trachea váladékképződés, mely több esetben befolyásolta (a kontroll légúti ellenállás és szöveti elaszticitás értékek szignifikánsan magasabbak voltak az átlagnál), illetve megakadályozta a kísérletek elvégzését (a váladék meggátolta a mérőjel tüdőbe történő bejutását). A teljes populáció felszámolása után új tenyészállományt vásároltunk, azonban az új állományban a vastagbelet érintő *Syphacia* fertőzést mutattak, melynek fő következménye a patkányok tolerancia csökkenése a korábbi mIR modellel szemben. Mindezek a problémák befolyásolták, hátráltatták a tervezett kutatási program elvégzését, illetve az elvégzett kísérletek eredményét bizonytalanná és kérdésessé tették. A felsorolt okok következtében a tervezett kutatási programunk tematikája módosult, pl. nem kockáztattunk a költséges ET receptor antagonisták beszerzésével, így a program ezen része nem valósulhatott meg. Ugyanakkor, ezek helyett olyan

kísérletsorozatokat iktattunk be, melyek a tervezett programban nem szerepelnek, de ahhoz szervesen kapcsolódnak (pl. az oleinsav ödémamodell, hemorrhagiás shock).

Tudományos közlemények

1. Adamicza Á., Kaszaki J., Boros M., Hantos Z.: Effects of pharmacological preconditioning on the remote effects of intestinal ischemia-reperfusion in rats. *Shock* 18, (Suppl.): 1, 2002.
2. Adamicza Á., Kaszaki J., Peták F., Asztalos T., Boros M., Hantos Z.: Endotoxin pretreatment modifies pulmonary responses to intestinal ischaemia-reperfusion in rats. *Acta Physiologica Hungarica* 89: 120, 2002.
3. Adamicza Á., B. Tóth L., Hantos Z., Boros M.: Effect of pulmonary edema on changes in lung mechanics in rats. *Acta Physiologica Hungarica* 91: 269, 2004.
4. Adamicza Á., Kaszaki J., Boros M., Hantos Z.: Mechanisms of pulmonary responses to intestinal ischemia-reperfusion: The role of endotoxin. (beküldés alatt, *Eur. Surg. Res.*) (kézirat mellékelve)