

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Dr. Andréka György

**MOSONMAGYARÓVÁR
2025**

**SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
ALBERT KÁZMÉR MOSONMAGYARÓVÁRI KAR**

**WITTMANN ANTAL NÖVÉNY-, ÁLLAT- ÉS ÉLELMISZER-
TUDOMÁNYI MULTIDISZCIPLINÁRIS
DOKTORI ISKOLA**

UJHELYI IMRE ÁLLATTUDOMÁNYI DOKTORI PROGRAM

**DOKTORI ISKOLAVEZETŐ:
PROF. DR. VARGA LÁSZLÓ DSC
EGYETEMI TANÁR**

**PROGRAMVEZETŐ:
DR. SZABÓ FERENC, DSC
PROFESSOR EMERITUS**

**TÉMAVEZETŐ:
DR. EGRI BORISZ, DSC, MRANH
PROFESSOR EMERITUS
DR. SZABÓ FERENC, DSC
PROFESSOR EMERITUS**

KARDIOPROTEKCIÓ MODELLEZÉSE SERTÉS MIOKARDIUMBAN

**KÉSZÍTETTE:
DR. ANDRÉKA GYÖRGY**

**MOSONMAGYARÓVÁR
2025**

Kardioprotekció modellezése sertés miokardiumban

**Írta:
Dr. Andréka György**

**Készült a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Kar
Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi Multidiszciplináris
Doktori Iskola
Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Programja keretében**

**Témavezető: Prof. emer. Dr. Szabó Ferenc, DSc
Prof. emer. Egri Borisz, DSc, MRANH**

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori komplex vizsgán megfelelt.

Mosonmagyaróvár,

**.....
a Komplex Vizsga Bizottság elnöke**

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Mosonmagyaróvár,

A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

Az EDT elnöke

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AL1: Amplatz Left1 koszorúér katéter,

AMI: akut miokardiális infarktus,

BMSC: csontvelői őssejt,

CABG: koszorúér-bypass műtét,

CAD: koszorúér betegség,

CD+ speciális fehérje sejtfelszíni marker jelenléte

CX: ramus circumflexus – bal körbe kerülő koszorúér ág,

EPC: endoteliális progenitorsejt,

ESC: embrionális őssejt,

F: French (1 French=0.33 mm),

GBD: Global Burden of Disease,

HSC: vérképző őssejt,

ICD: implantable cardioverter defibrillator – beültethető kardioverter defibrillátor,

ISZB: iszkémiás szívbetegség,

LAD: bal elülső leszálló koszorúér ág,

LE: late enhancement,

LM: left main – bal közös főtrzs,

MI: miokardiális infarktus,

mp: másodperc,

MSC: mesenchymális őssejt,

NSTEMI: ST-elevációval nem járó miokardiális infarktus,

PCI: perkután koronária intervenció,

POBA: plain old balloon angioplasty,

pPCI: primer PCI,

RCA: right coronary artery - jobb koronária ág,

SEM: standard error of the mean – standard hiba

ST-eleváció: az EKG-n az ST szakasz konvex vagy konkáv megemelkedése

STEMI: ST-elevációval járó miokardiális infarktus,

VEGF: vaszkuláris endoteliális növekedési faktor,

VEGFR: vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor,

VF: kamrafibrilláció,

VT: kamrai tahikardia

KIVONAT

Az embert veszélyeztető, nem fertőző betegségek közül az ún. „fejlett világban” a koszorúérbetegség és ennek legsúlyosabb megjelenési formája az szívinfarktus számít vezető haláloknak.

A sertéseket kardiológiai modell-állatként egyre gyakrabban alkalmazzák az intervenciós kutatásokban ereiknek a humán koszorúerek anatómiájához való hasonlóságuk, valamint az előbbiekből adódó katéterezési technikák sertésekben való könnyű használhatósága miatt.

Mivel az iszkémiás prekondicionálás egyértelműen csökkenti a szívben az iszkémia-reperfúziós sérülés mértékét, ennek kedvező hatása megmutatkozik mind a miokardium lokális, mind pedig távoli, akár egy nem vitális szervben keresztüli prekondicionálása esetén. Az iszkémiás posztkondicionálás - rövid iszkémiás epizódokkal végezve - az iszkémiás esemény után azonnal a prekondicionáláshoz hasonló kedvező eredményt mutat.

Munkánk első részében az emberi szívinfarktus perkután behelyezett ballonkatéterrel kialakított, egyszerű sertés-modellje kerül részletes bemutatásra.

Vizsgálataink második részében elemzésre kerül, hogy egy sertés végtagon mesterségesen létrehozott iszkémia kivált-e távoli posztkondicionálást, aminek kövekezményével csökkenthető-e a sertés nagyállat-modellben létrehozott akut szívinfarktus mérete.

Kísérleteink során mindkét nemből huszonnégy yorkshire sertésen a bal elülső leszálló koszorúér ágban (LAD) akut szívizom infarktust indukáltunk. A ballon leengedése után azonnal 12 sertésben távoli

iszkémiás posztkondicionálást végeztünk vérnyomásmérő mandzsetta négy alkalommal, öt percre történő felfújásával az állatok egyik hátsó végtagján. A szívinfarktus kialakulását az EKG segítségével azonosítható ST-szakasz emelkedésével igazoltuk. Annak méretét a 72 órás teljes szérum kreatinin-kináz felszabadulással, gadolinium kontraszt MRI-vel és immunhisztokémiai vizsgálattal értékeltük.

Vizsgálataink eredményei alapján beigazolódott, hogy a sertés modell-állatként praktikus, költséghatékony, és használatával jól reprodukálható méretű szívinfarktus hozható létre, ami nagyon hasonlít az emberi szívinfarktushoz. Az orvos-kollégákkal közösen elvégzett műtéteink eredményei alapján a második diagonális ágától disztálisan kialakított szívinfarktus mortalitása alacsonyabb volt, mint ahogy az az irodalomból ismert.

A vérbiokémiai vizsgálatok eredményei szerint a teljes szérum kreatinin-kináz felszabadulás görbéje alatti terület szignifikánsan kisebb volt a posztkondicionáláson átesett csoportban, mint a kontroll csoportban, ami 26%-kal kisebb infarktus méretet igazolt ($p < 0.05$). Ezt az MRI és az immunhisztokémiai vizsgálat is megerősítette 22%-os ($p < 0.05$) és 47.5%-os ($p < 0.01$) infarktus méret csökkenést kimutatva.

Meggyőződésünk, hogy csak az állatorvosok és a humán kardiológusok együttműködésével lehet a sertés koronária vizsgálatok nehézségeit kiküszöbölni. A távoli iszkémiás posztkondicionálás egy viszonylag egyszerű technika az infarktus méretének csökkentésére, ami kiküszöböli a lokális posztkondicionálás során, a koszorús artériákban elvégzendő többszörös ballonfelfújáshoz köthető

szövdményveszélyt. Ez a fajta iszkémiás kondicionálás jelentős klinikai előnnyel járhat de még további vizsgálatokat igényel.

ABSTRACT

Coronary artery disease and the myocardial infarction as the most serious manifestation of this disease is the leading cause of death for humans among the non infected diseases in the “developed countries”.

Swine, as modell-animal for cardiology studies, are being chosen with increasing frequency as subject for interventional cardiology research, caused by the similarities to humans in their cardiovascular physiology, size and coronary anatomy. Moreover, regular human coronary catheter systems and techniques can be readily used to access their coronary vasculature.

Because the ischemic preconditioning results in a reduction in ischemia-reperfusion injury to the heart, it's beneficial effect is seen both with direct local preconditioning of the myocardium and with remote preconditioning of easily accessible distant non-vital limb tissue. Ischemic postconditioning with a comparable sequence of brief periods of local ischemia, when applied immediately after the ischemic insult, confers benefits similar to preconditioning.

In the first part of our work, a simple swine model of human myocardial infarction is studied in detail using a percutaneously inserted balloon catheter.

In the second part, the hypothesis is tested that limb ischemia induces remote postconditioning and hence reduces myocardial infarct size in our swine model of acute myocardial infarction.

Acute myocardial infarction is induced in 24 yorkshire pigs with 90 min balloon inflation of the left anterior descending coronary artery (LAD). Remote ischemic postconditioning is induced in 12 of the pigs by four 5 min cycles of blood pressure cuff inflation applied to the lower limb immediately after the balloon deflation. Myocardial infarction is confirmed by the detection of ST segment elevation on the surface ECG and the size is assessed by measuring 72h total creatine kinase release, gadolinium enhanced contrast MRI scan and immunohistochemical analysis.

We conclude that if investigators are familiar with both human and animal research, this model is practical, inexpensive and can provide reproducible and consistent infarct sizes that closely mimic the human myocardial infarction. With very careful technique inducing LAD infarction distal to the second diagonal branch and done by trained medical team, our mortality was lower than in the literature.

Area under the curve of creatinine kinase release was significantly reduced in the postconditioning group compared with the control group with a 26% reduction in the infarct size ($p < 0.05$). This was confirmed by MRI scanning and immunohistochemical analysis revealed a 22% ($p < 0.05$) and a 47.52% ($p < 0.01$) relative reduction in the infarct size, respectively.

By our confidence, it is clearly visible, that only a close collaboration between veterinary medicine and human cardiology can avoid the difficulties of complex swine coronary experiments and leads to success. Remote ischemic postconditioning is a simple technique to reduce infarct size without hazards and logistics of multiple coronary artery balloon inflations. This type of ischemic conditioning promises clear clinical potential and needs further investigation

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	4
Kivonat	6
Abstract	8
Tartalomjegyzék	11
Ábrajegyzék	14
1. Bevezetés	16
2. Az értekezés célkitűzései	19
3. Szakirodalmi áttekintés	20
3.1. A sertésszív anatómiája, különös tekintettel annak angiológiai sajátosságaira	20
3.2. A kardioprotekció lehetséges formái és gyakorlati jelentőségük	22
3.2.1. A miokardium iszkémiás kondicionálása	22
3.2.1.1. A miokardium lokális iszkémiás kondicionálása	23
3.2.1.2. A miokardium távoli iszkémiás kondicionálása	24
3.2.1.3. A miokardium iszkémiás kondicionálásának eredményessége	26
3.2.2. Össejt beültetés az iszkémiás miokardiumba	27
3.2.2.1. Potenciális donorsejtek a szívizom	29

regenerációjához

3.2.2.1.1. Embrionális őssejtek	29
3.2.2.1.2. Szkeletális mioblasztok	30
3.2.2.1.3. Mesenchymális őssejtek	31
3.2.2.1.4. Vérbővívelő őssejtek és endotél prekursor sejtek	32
3.2.2.2. A sejtek bejuttatása a gazdaszervezet szívizomzatába	33
3.2.2.2.1. Transzvaszkuláris megközelítések	34
3.2.2.2.1.1. Az őssejtek mobilizálása	34
3.2.2.2.1.2. Az őssejtek vénán keresztüli bejuttatása	35
3.2.2.2.1.3. Intrakoronáriás bejuttatás	35
3.2.2.2.1.4. Retrográd koronária perfúzió	36
3.2.2.2.2. Közvetlen intramiokardiális megközelítések	37
3.2.2.2.2.1. Transzsepikardiális injekció	37
3.2.2.2.2.2. Transzendokardiális injekció	37
3.2.2.3. Humán őssejt transzplantációs vizsgálatok	38
3.2.2.4. Az iszkémiás miokardiumba történő őssejt beültetés eredményessége	42
4. Saját vizsgálatok	47
4.1 A vizsgálatok helyszínei	47
4.2. Sertés nagyállat-modell beállítása	47
kardiovaszkuláris kutatásokhoz	
4.3. Anyagok és módszerek	47
4.3.1. Intervenciós beavatkozás	47
4.3.2. Posztkondicionálás	51
4.3.3. Mortalitás	51

4.3.4. Az infarktus méretének enzimatiszus vizsgálata	51
4.3.5. Az infarktus méretének MRI vizsgálata	52
4.3.6. Az infarktus méretének szövettani vizsgálata	53
4.3.7. Az adatfeldolgozás módszerei	56
5. Eredmények és értékelésük	56
6. Következtetések, javaslatok	57
7. Új tudományos eredmények	65
8. Összefoglalás	66
9. Irodalomjegyzék	70
10. Köszönetnyilvánítás	86

Ábrajegyzék

1. ábra Reperfúziós stratégia ST-elevációval járó szívizom infarktusbán (Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ et al. 2023 ESC Guideline fir the management of acute coronary syndromes. Eu Heart J 2023; 44: 3720-3820)

2. ábra Az őssejtek feltételezett szerepe a szívizom regenerációjában akut szívizom-infarktusbán után (P. Andreka, megjelent - Vertesaljai M, Piroth Z, Fontos G, Andreka Gy, Font G, Szantho G, Lueff S, Reti M, Masszi T, Ablonczy L, Juhasz ED, Simor T, Turner MS, Andreka P. Drugs, Gene Transfer, Signaling Factors – A Bench to Bedside Approach to Myocardial Stem Cell Therapy. Heart Fail Rev. 2008; 13: 227-44.)

3. ábra Sertés pozíciója a katéteres asztalon saját fénykép

4. ábra 6Fr sheath az artéria femoralisban saját fénykép

5. ábra Sertés koronarográfia saját fénykép

6. ábra LAD elzárása ballonkatéterrel saját fénykép

7.ábra Összérum kreatinin-kináz kiáramlási görbe (P. Andréka, megjelent - Andreka Gy, Andréka L, Font G, Vértesaljai M, Fontos G, Garamvölgyi R, Hevesi T Á, Petrási Zs, Egri B, Szabó F, Andréka P. Az emberi szívizominfarktus jól reprodukálható sertésmodellje. Magyar Állatorvosok Lapja. 2024. 08: 465-474)

8.ábra Az infarktus méretének enzimatiszus vizsgálata (G. Andréka, megjelent - Andreka Gy, Andréka L, Font G, Vértesaljai M, Fontos G, Garamvölgyi R, Hevesi T Á, Petrási Zs, Egri B, Szabó F, Andréka P. Az emberi szívizominfarktus jól reprodukálható sertésmodellje. Magyar Állatorvosok Lapja. 2024. 08: 465-474)

9.ábra A miokardium nekrozis és a veszélyeztetett szívizomzat területének meghatározása képanalizáló szoftverrel (P. Andréka, megjelent - Andreka Gy, Andréka L, Font G, Vértesaljai M, Fontos G, Garamvölgyi R, Hevesi T Á, Petrási Zs, Egri B, Szabó F, Andréka P. Az emberi szívizominfarktus jól reprodukálható sertésmodellje. Magyar Állatorvosok Lapja. 2024. 08: 465-474)

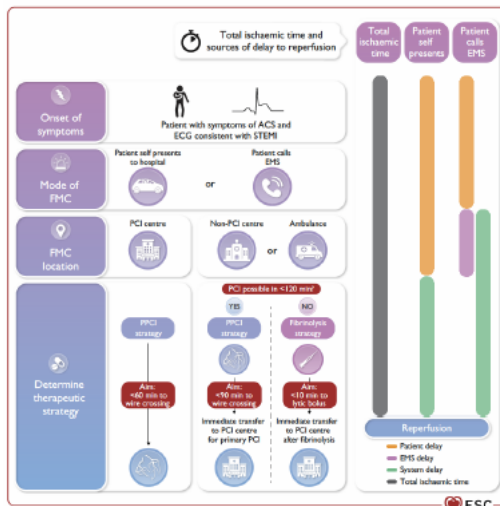
10.ábra Az infarktus területének a veszélyeztetett területhez mért százalékos meghatározása (P. Andréka, megjelent - Andreka Gy, Andréka L, Font G, Vértesaljai M, Fontos G, Garamvölgyi R, Hevesi T Á, Petrási Zs, Egri B, Szabó F, Andréka P. Az emberi szívizominfarktus jól reprodukálható sertésmodellje. Magyar Állatorvosok Lapja. 2024. 08: 465-474)

1. BEVEZETÉS

A kutatási feladat előzményei

A nem fertőző betegségek közül, hazánkban is, a szív- és érrendszeri megbetegedések között az iszkémiás szívbetegség (ISZB) mortalitása áll az első helyen. Az előregedő társadalmak révén egyre nő ezen betegségek incidenciája. E betegségcsoporton belül 2019-ben 182 millióan szenvedtek koszorúér betegségben (CAD) a világon, ami az összes szív-és érrendszeri megbetegedés 34,7%, amíg az összes megbetegedés 2,2%-a volt és 9,14 millió CAD beteg halálozott el. Ez az összes szív- és érrendszeri halálozást 49%-át tette ki. Várhatóan a következő évtizedben a CAD aránya jelentősen növekedni fog, amihez hozzájárul a társadalmak előregedése, az elhízás, a 2-es típusú cukorbetegség és a metabolikus szindróma világméretű elterjedése, valamint ezeknek a szív- és érrendszeri kockázati tényezőknek az előfordulási növekedése a fiatalabb generációk körében is.

Az elzáródott koszorús artéria azonnali megnyitása akut ST elevációval járó miokardiális infarktusban (STEMI) jelentősen csökkentette a betegség korai halálozását és nagymértékben javította a betegek későbbi életkilátásait is. A közelmúltban számos klinikai tanulmány igazolta, hogy a koszorúsérbetegek katéteres PCI kezelése csak akut infarktus (STEMI, NSTEMI) esetében jár lényeges rövid és hosszú távú morbiditási és mortalitási előnnyel. Ezeket az adatokat átfogó közgazdasági tanulmányok eredményeivel kiegészítve sikerült



1. ábra: Reperfúziós stratégia ST-elevációval járó szívinfarktuszban

PCI egyértelmű

költséghatékonyságát. Az akut ST elevációval járó miokardiális infarktus (STEMI) primer PCI kezelése (pPCI) minősített probléma, mert az ezzel együtt járó morbiditási és mortalitási előny teljes bizonyossággal összefügg az idővel, azaz az infarktus során elzáródott ér minél

gyorsabb megnyitásával („time is myocardium – az idő egyenlő a szívizommal”)(1. ábra).

A véráramlás helyreállítása ellenére azonban a posztinfarktusos szívelégtelenség továbbra is komoly klinikai probléma maradt azokban az esetekben, ahol a szívinfarktus fellépte és az érintett koszorúér megnyitása között viszonylag hosszú idő telt el. Az iszkémiás eredetű szívelégtelenségért a kamrai remodelling folyamata a felelős, amit a bal kamra teljes szerkezeti átalakulása, az infarktusos terület expanziója és az üreg dilatációja jellemez. A bal kamrai remodelling visszafordítása a szívizomsejtek regenerációs képességének felgyorsításával és az infarktusos terület neovaskularizációjának elősegítésével lenne megoldható. Néhány szívizomsejt képes ugyan replikációra, de ezek száma elhanyagolható és a folyamat csak az életképes szívizomban mehet végbe, így a heg területét nem érinti (10). Ezért a mai modern kardiológia általánosan

elfogadott álláspontja szerint a felnőtt szívizomsejtek nem képesek a miokardiumot regenerálni, mert számottevő proliferációjuk csupán a születés időpontjáig tart (a szívizom alapvetően terminálisan differenciált szövet). A neuroendokrin rendszer aktivitását csökkentő szerek javítják ugyan a betegek túlélési esélyeit, de nem pótolják az élő, összehúzódásra képes szívizomsejteket. A nem gyógyszeres kezelési eljárások fejlesztése a mechanikus keringéstámogató eszközöktől a teljes mesterséges szívig ígéretesnek mutatkozik, de még nagyon mesze vagyunk a megoldástól (6). A ma ismert egyetlen definitív kezelési eljárás, a szívtranszplantáció, is csak korlátozottan járulhat hozzá a mortalitás csökkenéshez a donorszervek hiánya és az immunszuppresszió szövődményei miatt (11).

Jelen PhD munka teljes egészében a kardioprotekció tárgya köré épül. Az anyag első részében egy irodalmi összefoglalót adok a kardioprotekció jelenleg a legszélesebb körben használatos két formájáról, a miokardium iszkémiás kondicionálásáról és az őssejt transzplantációról. Ezután a kardiovaszkuláris kutatásra jól használható és könnyen reprodukálható eredményeket adó sertés nagyállat-modell létrehozásának állatorvosi részleteit tárgyalom, majd összefoglalom eredményeimet a sertés nagyállat-modellen elvégzett iszkémiás posztkondicionálás terén.

2. AZ ÉRTEKEZÉS CÉLKITŰZÉSEI

Munkánk célja egy olyan sertésmodell kidolgozása volt, amely alacsony mortalitás mellett költséghatékonyan alkalmas az emberi koszorúsér-intervenciók vizsgálatára, a sertés általunk kiváltott miokardiális infarktuszának vizsgálatán és az infarktos területek nagyságát befolyásoló módszereken keresztül.

Az értekezés az kívánja bizonyítani, hogy sertésekben létrehozott szívizom-infarktuszban a koronária megnyitása után közvetlenül elvégzett távoli posztkondicionálás a nem létfontosságú hátsó végtagon létrehozott reverzibilis iszkémia-reperfúziós ciklusokkal biztonságosan elvégezhető és szignifikáns mértékben csökkenti a miokardiális infarktus kiterjedését. Előbbiekkel összefüggésben

- kidolgozásra kerül egy könnyen és elfogadható költséggel, standardizált módon használható, jól reprodukálható sertésmodell a célzott kardiovaszkuláris kutatásaink elvégzésére,
- kidolgozásra kerül a távoli posztkondicionálás módszere, és annak vizsgálhatósága az infarktos területet csökkentésére
 - kialakításra kerül az intrakoronáriás autológ őssejt transzplantáció technikai háttere a kidolgozott sertés modellen.

3. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A sertésszív anatómiája, különös tekintettel annak angiológiai (és ezen belül coronaria-) sajátosságaira

A sertés szívének és koszorúereinek anatómiájáról

A sertés szívomorfológiai és -élettani szempontból, immunrendszerei azonosságok és a szívnek a terheléshez való alkalmazkodóképessége tekintetében a legközelebb áll az ember szívéhez. E tényeket a szívritmus-szabályozók kifejlesztéséhez és teszteléséhez végzett elektrofiziológiai kísérletek is bizonyították. A szívizomzat vérellátását és az azt biztosító koszorúereket tekintve ugyancsak nagy a hasonlóság. Előbbiek miatt vált a sertés az elmúlt három évtizedben a humán szívsebészet modellállatává (87, 88, 89).

A sertés szíve a 3-6. borda között a szívüregekben helyeződik. Tengelye caudoventralis, a vízszinteshez esik közelebb. Alapja craniodorsalisan a mellüreg középtájékán helyezkedik el. A pericardium csúcsát a rekeszhez a lig. phrenicopericardiacum rögzíti. A szív 3/5 része a középsíktól balra, 2/5 része attól jobbra esik. A jobb kamra fala a sternumhoz fekszik, míg a bal kamra a 6. borda síkjában baloldalt található. A bal elülső végtag mögött helyeződik, ezért csak a végtag előre húzását követően vizsgálható (90).

A jobb pitvarba az üres vénák mellett a vena azygos sinistra, a bal pitvarba öt tüdővéna szájadzik. A sertés szíve jobb dominanciájú,

amennyiben a r. interventricularis subsinosis az a. coronaria dexterből ered. A bal és jobb kamrában található papilláris izmok igen jól fejlettek, hosszúak, valamint több kisebb papillából álló un. komplexumok találhatók mindkét üregben. A bal kamrai fal vastagsága jelentős, a harántizmok nagyok, számuk kevesebb a jobb kamrában. A két- és háromhegyű billentyűnek egy-két járulékos vitorlája is van, a tricuspidalis 4-5 csúcsot is képezhet. A szív hátulsó felületén alig előtűnő érbarázdát, a sulcus interventricularis accessoriust találjuk. Az aortát gyűrűszerűen övező rostos kötőszövetben porc található, illetve a jobb koszorús artéria egy további ágát, a r. interventricularis subsinosust bocsát ki (90).

A kifejlett (100 kg-nál nagyobb testtömegű) sertések testfelszínre számított szív mérete kisebb, mint bármelyik más háziállatnak. A laboratóriumban általánosan használt kisebb méretű (15-30 kg) sertések esetében ez az arány megfelel az emberi méreteknél.

A sertés koszorúér anatómiája hasonló az emberéhez, de szinte teljesen hiányoznak a kollaterális csatornák és anasztomózisok [7].

Az általában rövid bal közös főtrzs (LM) elágazik a bal elülső leszálló (LAD) és a bal körbefutó (CX) koszorúér ágra. Az erek átmérője hasonló az emberéhez (2,0-4,0 mm). A humán anatómiához hasonlóan a LAD általában a szívcsúcsig fut, időnként azon át is hajlik és az oldalfalat 2-3 diagonális ággal, a szeptumot pedig 4-6 szeptális ággal látja el. A CX általában 1-3 marginális ágat ad az oldalfal ellátására. A jobb koszorúér (RCA) ritkábban domináns (a szív hátsó felszínét ellátó), mint az emberben. A sertésszíven végzett post mortem vizsgálatok kimutatták a hasonlóságot az ember és a sertés szív között az intramurális elágazási mintázat, a papilláris izmok ellátása és az ingerületvezetési rendszer tekintetében is.

A sertés jobb pitvarára morfológiailag jellemző volt, hogy a szívnyúlványa cső alakú (az emberi szívben a bal oldalon

megfigyelhető). A sertés felső és alsó cavalis vénák egymásra merőlegesen nyíltak a pitvarba, míg az embernél a nyílások közvetlenül egy vonalban voltak. A sertésszív bal oldalán egy kiemelkedő bal azygosus véna (amely az embernél sokkal kisebb bal felső cavalis vénához vagy ferde vénához hasonlítható) lépett be, és a koszorúér-szinuszon keresztül ürült ki. A sertés bal pitvarba csak 2 tüdővéna jutott, míg az embernél általában 4 nyílás volt megfigyelhető. A sertés jobb kamra beömlő és kivezető részei között a sertés jobb kamrája kevésbé volt markáns, mint az emberben, és egy markáns izmos moderátorszalag az emberhez képest sokkal

magasabb helyen helyezkedett el a sertés jobb kamrájában (87). A faji sajátosságok ellenére, sertés szíve áll a legközelebb az ember szívéhez, aminek eredményeképpen vált a sertés a humán sebészet modellértékű állatává az elmúlt három évtizedben.

3.2. A humán kardioprotekció lehetséges formái és gyakorlati jelentőségük

3.2.1. A miokardium iszkémiás kondicionálása

STEMI-ben az infarktusos szívizom terület csökkentése vezető terápiás cél a klinikai kimenetel javítására. A leghatékonyabb terápiás erőfeszítés ennek elérésére jelenleg a lehető leggyorsabban elvégzett pPCI, a szívinfarktusért felelős koszorúér lehető leggyorsabb megnyitása érdekében. Azonban a véráramlás visszaállítása önmagában is szívizom sérüléssel és szívizomsejt pusztulással jár. Ez a folyamat a miokardium – először Jennings által leírt - iszkémia-reperfúziós sérülése, ami az ismételt oxigenizáció során a közben anaerob metabolizmusra áttért sejtek reperfúzió okozta paradox további károsodásainak összefoglaló megnevezése. (12, 13, 14). Leírása óta a háttérben álló mechanizmusokat több munkacsoport is megpróbálta leírni, többek között felmerült az oxidatív stressz, a megemelkedett intracelluláris kalcium koncentráció, a komplement aktiválódás és a nyitott mitokondrium csatornák szerepe a szívizomsejtekben és más sejtekben (leukociták, vérlemezkék,

fibroblasztok, simaizomsejtek), de a pontos mechanizmus a mai napig nem tisztázott (15, 16, 17, 18).

3.2.1.1. A miokardium lokális iszkémiás kondicionálása

A miokardium lokális iszkémiás kondicionálása során a szív felkészítése történik tolerálhatóan rövid iszkémiás és reperfúziós ciklusokkal az iszkémiás inzultus előtt vagy után, ami a különböző állatmodelleken akár 40-90%-ban is képes volt csökkenteni az infarktus méretét (19).

Ilyen prekondicionálást Murry és munkatársai végeztek először 1986-ban (20). Azt sikerült kimutatniuk, hogy a koszorúérben négy alkalommal elvégzett öt perc hosszúságú iszkémia, amit 5 perc hosszúságú reperfúzió követett a koszorúér végleges elzárása előtt jelentősen képes csökkenteni az infarktusos terület nagyságát. Ezeket az eredményeket néhány évvel később Liu és munkatársai is megerősítették (21).

A posztkondicionálást altatott kutyákon alkalmazták először (22, 23). A koszorúérben három alkalommal létrehozott 30 másodperc hosszúságú iszkémia, amit 30 mp hosszúságú reperfúzió követett a koszorúér végleges elzárása előtt 44%-kal volt képes csökkenteni az infarktusos terület nagyságát, amit később számos más állatmodellben is igazoltak.

3.2.1.2. A miokardium távoli iszkémiás kondicionálása

A távoli iszkémiás kondicionálás távolról elvégezve fejt ki a kardioprotektív hatását az iszkémiás inzultus előtt, vagy után (24, 25). A mögöttes folyamatok itt még kevésbé ismertek, de szerepet kapnak a perifériás idegek, valamint a neuronális és humorális faktorok, amik elviszik a kardioprotektív jeleket a távoli szervektől a szívizomig (27, 28, 29).

A távoli iszkémiás kondicionálás elvégzésére két lehetőség van. Az egyik a szíven belül, a kulprit, azaz az infarktusos léziótól távolabb történik, ahogy Przyklenek és munkatársainak jelentős infarktusos terület csökkenést sikerült kimutatniuk (28.29.). A másik lehetőség a tényleges távoli poszt kondicionálás, ami távoli, nem életfontosságú szerveken alkalmazva a rövid iszkémiás és reperfüziós ciklusokat az iszkémiás inzultus előtt vagy után fejt ki kardioprotektív hatását (30, 31). A vizsgálatokban a távoli szerv vagy az iszkémiát jól tűrő egyik szerv vagy valamelyik végtag volt. Függetlenül attól, hogy távoli pre- vagy poszt kondicionálást alkalmaztak, különböző állatmodellekben is sikerült igazolni az infarktusos területet csökkentő hatást. Kharbanda és munkatársai alkalmazták először a koncepciót humán körülmények között, amikor a felső végtag távoli iszkémiás kondicionálásával sikerült csökkenteni az iszkémia-reperfüzió okozta endotél diszfunkciót (32).

Eddig azonban a pozitív állatkísérletes eredményeket nem teljes mértékben igazolták a humán vizsgálatok. Azonban az infarktusos terület csökkenését számos humán vizsgálatnak sikerült igazolnia távoli iszkémiás poszt kondicionálás után, az enzimkiáramlás csökkenésével. A CONDI-1 vizsgálatban a SPECT (33), a LIPSIA

CONDITIONING vizsgálatban pedig a szívMR is igazolta az infarktusos terület csökkenését távoli posztkondicionálás után (34).

A LIPSIA CONDITIONING vizsgálat nem igazolta a távoli posztkondicionált csoportban a kombinált végpont (halál, reinfarktus és új szívelégtelenség) kialakulásának csökkenését a 6. hónapnál (34). A CONDI-2/ERIC-PPCI volt eddig messze a legnagyobb randomizált klinikai vizsgálat a bevont 5.401 beteggel, ahol a távoli iszkémiás posztkondicionálás eredményességét vizsgálták pPCI után (35). A primer végpont egy évnél a halál, a hospitalizáció és az új szívelégtelenség volt, de a vizsgálat nem igazolt szignifikáns különbséget a távoli posztkondicionált és a kontroll csoport között.

Egyértelműen csak az nyert igazolást, hogy ST-elevációval járó akut miokardiális infarktusban (STEMI) az elzárt ér megnyitása után elvégzett távoli iszkémiás posztkondicionálás kivitelezhető és biztonságos, komplikációkat nem igazoltak és a betegek jól tolerálták, de eddig nem sikerült kimutatni javulást a klinikai kimenetelben távoli iszkémiás posztkondicionálás után.

3.2.1.3. A miokardium iszkémiás kondicionálásának eredményessége

Az utóbbi évtizedekben számos vizsgálat történt a STEMI utáni infarktusos terület csökkentésére a miokardium iszkémiás kondicionálásán túl is. Ilyen volt számos gyógyszer, az összejt-beültetés, az intraaortikus ballonpumpa, a mikroaxiális pompa és számos más beavatkozás eredményességének vizsgálata. Ígéretes

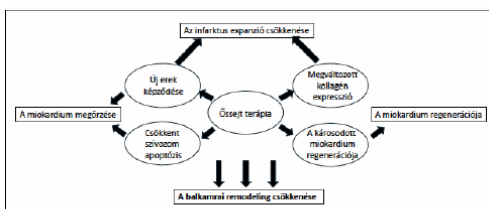
kezdeti eredmények ellenére azonban ezek a vizsgálatok nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket (36).

Az infarktusz terület csökkentését célzó vizsgálatok közül talán a legígéretesebb a miokardium iszkémiás kondicionálása, azon belül is az iszkémiás inzultus után, az elzárt artéria megnyitását követően elvégzett poszt-kondicionálásban van a legtöbb lehetőség, ami egy távoli végtagon történik rövid iszkémia-reperfúziós ciklusokat ismételve. Az eddigi vizsgálatok közül ez a beavatkozás biztonsággal elvégezhető, de eredményességének értékelése még további vizsgálatokat igényel. Ilyenkor a legcélszerűbb visszamenni az alapokhoz, és egy olyan nagyállat-modellt kidolgozni, ahol standardizált módon lehet elvégezni a vizsgálatokat azokkal az eszközökkel, amiket rutinszerűen alkalmazunk humán körülmények között.

Ezért jelen munkánk célja az volt, hogy vizsgáljuk, vajon a sertés nagyállat-modellen létrehozott STEMI mérete csökkenthető-e távoli iszkémiás poszt-kondicionálással, azaz a reperfúzió után közvetlenül egy távoli, nem életfontosságú szöveten biztonságosan elindított iszkémiás ciklusokkal.

3.2.2. Össejt-beültetés az iszkémiás miokardiumba

A különböző szerzők, a szívinfarktust követően a betegek vérében a keringő progenitor sejtek és jelátviteli faktorok számának növekedéséről számoltak be (37), ami arra utalt, hogy az érett kardiomiociták újra beléphetnek a sejtciklusba, és jelentős szerepet vállalhatnak az infarktuson átesett miokardium önmegújítási



2. ábra: Az őssejtek feltételezett szerepe a szívizom regenerációjában akut szívizom infarktus után.

Több különböző mechanizmus is szerepet játszhat az őssejtek jótékony hatásában a szívizomban történő beültetésük után. Az angiogenezis, a natív szívizomsejtek apoptózisának csökkenése és a megváltozott kollagén formáció gátolhatja az infarktusos terület expanszióját a miokardium megőrzésével és a hegyszövet megerősítésével. Az új szívizomsejtek képződése a miokardium regenerációjához vezethet. Ezek a folyamatok csökkenthetik vagy vissza is fordíthatják a bal kamrai remodelinget, stabilizálva a bal kamrai dimenziókat és a szisztolés funkciót, javíthatva ezzel a betegek tüneteit és életkilátásait.

folyamatában (38). Az újonnan képződő szívizomzat fiziológiásan lezajló regenerációs folyamatából eredő mennyisége és kapacitása azonban nem elegendő ahhoz, hogy ellensúlyozza a kamrai remodeling káros hatását akut miokardiális iszkémiát követően. Az őssejtek

képességét arra, hogy jól differenciálódott, szervezett szöveteket alkosson (a beépülés helyétől, de nem a származástól függően) állatmodellben is kimutatták: a májszövetből izolált és májba visszaoltott felnőtt őssejtek hepatocitákká, míg ugyanezek a szívizomzatba injektált sejtek miocitákká alakulnak (39). A "de novo" szívizom szövet létrehozásának gondolata számos kutatót inspirált arra, hogy a kardiomiogenezist szívizom őssejt transzplantációval próbálják fokozni. Miután bebizonyosodott, hogy csontvelői őssejtek képesek szívizomsejtekké differenciálódni, a szívizom regenerációját széles körben kezdték vizsgálni, és rengeteg ellentmondásos bizonyíték jelent meg. Orlic és munkatársai 2001-ben elsőként

számoltak be arról, hogy szívizomsejtek újonnan képződtek (40), miután egerek szívizom infarktuszának következtében kialakult hegyszövet széli részébe csontvelői őssejteket injektáltak (41). Bár ezeket az adatokat többször komolyan megkérdőjelezték, valószínűleg az újonnan képződött őssejtek jelenlétének és mennyiségének értékelésére használt különböző módszerek miatt, az őssejtekből származó kardiomiociták létezésének fontosságát nehéz kétségbe vonni, hiszen forradalmian új terápiás eszközt kínál az ISZB (42, 43). Az állatkísérletek korai, gyakran ellentmondásos eredményeit gyorsan követte számos I. és II. fázisú emberi őssejt-transzplantációs vizsgálat. **(2. ábra).**

3.2.2.1. Potenciális donorsejtek a szívizom regenerációjához

Eddig számos őssejt és progenitorsejt populációt használtak a szívizom funkciójának helyreállítására (44). Minden egyes sejttypusnak megvannak a maga előnyei, korlátai és a konkrét klinikai környezetben való alkalmazhatósági problémái. Az őssejtek szívbe juttatásának jótékony hatásait eddig is vizsgálták: valószínű, hogy több mechanizmus felelős a sejterápiát követő fokozott szívfunkcióért. Az angiogenezis, a natív szívizomsejtek apoptózisának csökkenése és a fokozott kollagénképződés korlátozhatja az infarktus kiterjedését, erősítheti a heges szövetet és megőrizheti a szívizomzatot. Az új kardiomiociták proliferációja a szívizom regenerációjához vezethet. Ezek az elemek együttesen csökkenthetik vagy visszafordíthatják a szívinfarktus után megfigyelt bal kamrai remodelinget, ami a kamra méretének csökkenéséhez és a szisztolés funkció rendeződéséhez vezethet, ami a betegek tüneteinek és kimenetelének javulását eredményezheti. Ritka a különböző sejtpopulációk regenerációs képességét összehasonlító tanulmány. Az ideális donorsejt mindaddig intenzív tudományos, etikai és politikai vita tárgyát képezi.

3.2.2.1.1. Embrionális őssejtek

Az embrionális őssejtek (ESC) totipotens őssejtek, amelyek a blasztociszták belső sejtötegéből származnak. Az ESC sejtek a megtermékenyítés után néhány nappal széles differenciálódási

potenciállal rendelkeznek: ezekből a sejtekből alakul ki mindhárom embrionális csíralemez. Ha izolálják és megfelelő táptalajba helyezik őket, mind az egér, mind a humán ESC-k meghatározhatatlan számú sejtosztódáson mehetnek keresztül, miközben megőrzik a képességüket, hogy specifikus sejtípusokká, többek között kardiomiocitákká differenciálódhassanak. A humán ESC-kból származó szívizomsejtek a korai stádiumban lévő kardiomiociták szerkezeti és funkcionális tulajdonságait mutatják, amelyek a normál szívizomzatba transzplantálva elektromosan kapcsolódnak a gazdaszervezet kardiomiocitáihoz (45, 46). Jogi, etikai és vallási kérdések azonban jelenleg gátolják e sejtek klinikai vizsgálati környezetben történő alkalmazását. Ezenkívül a tumorképződéssel kapcsolatos aggályok és az allogén sejtek felhasználásának szükségessége a transzplantációhoz az ESC-k használatának további gyakorlati korrlátai.

3.2.2.1.2. Szkeletális mioblasztok

Szívizom infarktus után a károsodott szisztolés és diasztolés funkció helyreállítására vázizomzat mioblasztok felhasználásával is tettek kísérleteket, amelyek olyan progenitor sejtek, melyek normális esetben nyugalmi állapotban vannak az érett vázizomrostok bazális membránja alatt. A szkeletális mioblasztok potenciális előnyei a szívinfarktus kezelésében még mindig alapos vizsgálat alatt állnak ezen sejtípus ellentmondásos tulajdonságai miatt. A vázizomzatban található mioblasztok jelentős tartalékkal rendelkeznek: a mioblasztok vázizombiopsziákból izolálhatók és in vitro szaporíthatók. További

előnyös tulajdonságuk, hogy erősen ellenállnak az iszkémiának, ami jobb túlélést tesz lehetővé átültetés után a rossz vérrellátással bíró területeken. Az infarktus hegébe transzplantálva a mioblasztok izomrostokká differenciálódnak és megőrzik a vázizom tulajdonságait: a mioblasztok transzplantációja a szívinfarktus állatmodelljeiben bizonyítottan fokozza a szisztolés és diasztolés funkciót és a klinikai tünetek javulását eredményezi (47). Nagy hátránya, hogy ezek az izomrostok elektromechanikusan nem kapcsolódnak a környező szívizomsejtekhez, így a szívben aritmia szubsztrátumot alkotva állandóan életveszélyes aritmiák kialakulásának lehetőségét teremtik meg. Ez utóbbi esetet figyelték meg egy humán klinikai vizsgálatban is, ahol 10 betegből négyénél alakult ki tartós kamrai tahikardia a vázizom mioblaszt transzplantációja után (48).

3.2.2.1.3. Mesenchymális őssejtek

A mesenchymális őssejtek (MSC) a csontvelőből nyerhetőek. Ezen sejtek fenotípusa a mai napig nem tisztázott. Mindeddig az MSC-k nagy affinitása a sejttenyésztő lemezekhez való tapadásra az egyetlen lehetséges módszer arra, hogy ezeket a sejteket elkülönítsük a többi csontvelő eredetű sejtektől. Az MSC-k pluripotens sejtek, amelyek képesek speciális szövetekké, például simaizom-, zsír-, porc-, csont-, endotelsejtekké, sőt szívizomsejtekké is differenciálódni (49, 50, 51). Akut szívizominfarktus után tenyésztett autológ vagy allogén sertés MSC-k szívizomba történő transzplantációja után a sejtek kardiomiocitákká differenciálódtak, csökkentették a balkamrai remodelinget és javították a balkamra funkciót (52). Az MSC-k in

vitro több új fenotípussá, köztük kardiomiocitákká történő differenciálódása indukálásának egyik lehetősége a DNS-demetiláló 5- azacitidin. Az MSC transzplantáció legfőbb előnye, hogy még allogén őssejtek alkalmazása esetén is csökkenti az immunszuppresszió szükségességét, mivel az MSC-k elkerülik a gazdaszervezet immunrendszerének felismerését (53). Az alacsony (vagy semmilyen) immunogenitás és az in vitro tenyésztés lehetősége miatt az MSC transzplantáció a jövőben allogén környezetben, akár humán vizsgálatokban is alkalmazható lehet, mivel a szívinfarktus után azonnal infúzióra készen kitermelhető és kriokonzerválható. Lehetséges azonban, hogy az in vitro expansziós eljárás során ezek a sejtek elveszítik a szívizomsejtekévé való differenciálódási képességüket, illetve a velük való elektromechanikus kapcsolódás lehetőségét. További alapkutatásokra és humán klinikai vizsgálatokra van szükség az MSC-k regeneratív sejt-kardiológiában betöltött szerepének értékeléséhez.

3.2.2.1.4. Vérbővívő őssejtek és endotél prekursor sejtek

A vérbővívő őssejtek (HSC-k) ritkák; csontvelő sejtek közötti gyakoriságuk 1:10.000, azonban 20-100 is elegendő a teljes nyirok- és vérbővívőrendszer rekonstrukciójához egy mieloablált kis-állat modellben. A HSC-k a CD34 sejt-felületi marker pozitívitásáról ismertek. Az endoteliális progenitorsejteket (EPC-k), amelyek szintén a csontvelőben találhatóak, eredetileg a CD133 és CD34 vérbővívőszervi markerfehérjék és a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor receptor-2 (VEGFR-2) endoteliális marker sejt-felületi expressziója, valamint az a képességük határozta meg,

hogy beépülnek a neovaszkularizációs helyekre és in situ endotélisejteké differenciálódnak. Tudva, hogy az újonnan képződött kardiomiociták túlélése szempontjából a neovaszkularizáció kiemelkedően fontos, és mind a HSC-k, mind az EPC-k képesek neovaszkularizációt létrehozni akut miokardiális infarktus (AMI) után, nem csoda, hogy ezeket a sejttípusokat használják leggyakrabban állatkísérletekben, sőt humán klinikai vizsgálatokban is. Az ex vivo expandált EPC-k intravénás beadása fokozta a neovaszkularizációt, csökkentette a balkamra dilatációját és javította a szisztolés balkamra funkciót egy patkány AMI modellben (54). A HSC- ket vagy EPC- ket alkalmazó állatkísérletek adatai összhangban vannak azzal, hogy a neovaszkularizáció fokozódik, a hipertrófiás kardiomiociták apoptózisa és a balkamrai remodeling mérséklődik, és végül a fentiek eredményeként a szisztolés balkamra funkció is javul a HSC/EPC transzplantációt követően. Sőt, EPC-eredetű, újonnan képződött kardiomiocitákról is beszámoltak (55). Mindezeket együttevén a HSC/EPC transzplantáció kiemelkedő jelentőségű az őssejtkutatásban és terápiában.

3.2.2.2. A sejtek bejuttatása a gazdaszervezet szívizomzatába

Jelenlegi tudásunk szerint a szívizom őssejt transzplantáció elvégzése után a sejtek nagy része elpusztul a beültetést követő első néhány napon belül. Ez rávilágít annak fontosságára, hogy különös figyelmet fordítsunk az őssejtek bejuttatásának optimális módszerére. Bár a sejtek célhelyre juttatására számos hatékony módszer létezik, néhány közülük nem alkalmazható minden sejttípusra, vagy nem

biztonságos minden körülmények között, esetleg humán kísérleti környezetben hatástalannak bizonyul. A sejtátültetésnek két fő megközelítése létezik: a transzvaszkuláris megközelítés és a kamrafalba történő közvetlen injekció alkalmazása.

3.2.2.2.1. Transzvaszkuláris megközelítések

Ezek a módszerek alkalmasak az AMI kezelésére, mivel a kemoattraktánsok megemelkedett szintje, a szignáltranszdukciós faktorok és a sejtadhéziós molekulák kifejezetten expresszálódnak ebben az esetben (56, 57). A fent említett faktorok emelkedett szintje a homing-nak nevezett mechanizmus révén az őssejteket az iszkémiás sérülés helyére irányítja; így a túlélő őssejtek jótékony hatásukat az infarktusos szívizom szövetben tudják kifejteni, ahol a legnagyobb szükség van rájuk.

3.2.2.2.1.1. Az őssejtek mobilizálása

Számos bizonyíték támasztja alá, hogy a csontvelő, a perifériás keringés és az infarktuson átesett szívizom közötti jelátvitel szabályozása fontos az őssejtek mobilizációjának, homing-jának (a sérült területet megtaláló képességének), túlélésének és differenciálódásának folyamatában. Számos jelátviteli faktor, köztük citokinek, kemokinek és növekedési faktorok vesznek részt az őssejtek által vezérelt javítási folyamat irányításában. Állatkísérletekben igazolták a citokinek adagolásának hatását szívinfarktusból az őssejt mobilizációra és az infarktusos

szívizomszövet összejt mediálta javítási folyamatára: csökkent mortalitást, infarktusméretet és a hemodinamikai paraméterek javulását figyelték meg (58). A citokinek alkalmazását emellett AMI-ben szenvedő embereken is tesztelték, de a vizsgálati eredmények ellentmondásosak voltak; a hemodinamikai paraméterek jelentős javulása mellett komplikációk jelentkeztek (korai inszistent resztenózis) (59, 60, 61). A szekretált faktorok terápia alkalmazása a szívinfarktus utáni szöveti gyógyulás modulálásra újabb terápia lehetőséget bocsáthat a kardiológusok rendelkezésére szívinfarktusban és krónikus koszorúér betegségben, azonban a jelátviteli faktorok kombinációjának, optimális lokalizációjának és időzítésének meghatározása az összejtek stimulálására a jövőben még komoly vizsgálatok tárgyát fogja képezni.

3.2.2.2.1.2. Az összejtek vénán keresztüli bejuttatása

Az intravénás beadási mód a legegyszerűbb és legkönnyebb. Kísérleti modellekben kimutatták, hogy az EPC-k vagy MSC-k intravénás bejuttatása javítja a szisztolés balkamra funkciót AMI után (54, 62, 63). A fő hátrány, hogy a normál perctérfogatnak csak kb. 3%-a áramlik át a bal kamra falán, és az összejtek jótékony hatására a transzpulmonális áthaladás okozta firstpass effektus is csillapító hatással van. Ebből adódóan számos keringési ciklusra szükség van ahhoz, hogy az infundált sejtek kapcsolatba kerülhessenek az infarktusos területhez vezető artériával. Ez idő alatt az infundált sejtek más szervekbe történő homing-jának lehetősége van arra, hogy csökkentse az infarktusos területet benépesítő sejtek számát, amit emberben is kimutattak. AMI-s betegeknél az infarktusos

miokardiumban csak a radioaktívan jelölt autológ csontvelő őssejtek háttéraktivitását sikerült kimutatni (64).

3.2.2.2.1.3. Intrakoronáriás bejuttatás

Nem szelektált csontvelői őssejteket (BMSC)-ket, EPC-eket és HSC-eket intrakoronáriás úton, egy ballonkatéter centrális lumenén keresztül juttattak be AMI-s betegek infarktushoz vezető koronáriáiba, amit közben a ballonkatéter felfújásával elzártak, hogy maximalizálják a sejtek érintkezési idejét (65, 66) . Az infarktushoz kapcsolódó artériába történő intrakoronáriás beadás lehetővé teszi, hogy az őssejtek homogén módon bejussanak és beépüljenek az infarktus zónáját határoló területekre, ezáltal minimalizálva a ritmuszavarok szubsztrátjaként működő őssejt-"szigetek" által létrehozott rosszindulatú ritmuszavarok megjelenését. Intrakoronáriás bejuttatás esetén a firstpass effektus során minden sejtnak át kell haladnia az infarktusos, valamint az infarktus körüli területeken. Ennek megfelelően az intrakoronáriás eljárással az infarktuszövet mindenkor a maximálisan elérhető számú sejtrel találkozik, melyek az infarktusos miokardium határzónájába kerülnek (54). A sejtek mennyiségét és az infúzió idejét gondosan meg kell fontolni a koszorúér áramlás károsodásának és a szívmuscle sejtek nekrozisának elkerülése érdekében (67).

3.2.2.2.1.4. Retrográd koronária perfúzió

Az intrakoronáriás katéteres bejuttatás alternatívájaként az őssejtek a bal koszorús öblön keresztül is bejuttathatók. Az elzáródott koszorúérben uralkodó alacsonyabb nyomás funkcionális

szelektivitást eredményez. Ez a megközelítés már emberekben is bizonyította hatékonyságát (68).

3.2.2.2.2. Közvetlen intramiokardiális megközelítések

3.2.2.2.2.1. Transzsepikardiális injekció

Bár ezt tekintik a leginvazívabb megközelítésnek, ez a módszer olyan betegek számára alkalmas, akiknél már tervezik a műtéti beavatkozást: a transzsepikardiális sejtinjekciót a koszorúér-bypass műtét (CABG) kiegészítéseként végezték el. A közvetlen sebészeti injekció az őssejtek bejuttatásának előnyben részesített módja a betegség krónikus fázisában jelentkező betegeknél, amikor a transzvaszkuláris sejtbejuttatás szinte kivitelezhetetlen, az erek átjárhatóságának hiánya miatt. A közvetlen injekciós technikák lehetnek a legjobb megoldások, ha nagyméretű sejteket használnak. Az I. fázisú humán vizsgálatok már befejeződtek, a vázizomzat mioblasztok intramiokardiális bejuttatásának figyelemre méltó eredményével, bár a szimultán elvégzett CABG és az őssejtek által elért funkcionális vagy hemodinamika javulásának köszönhető funkció-javulás megkülönböztetése nehéz, vagy akár lehetetlen (69).

3.2.2.2.2.2. Transzendokardiális injekció

Egy másik megközelítés az őssejtek beültetése elektromechanikus térképezéssel irányított, perkután katéteres szívizom-injekciókkal. E módszer segítségével könnyen azonosítható a heges és az életképes szívizom. Emellett az infarktus transzmurális kiterjedése is felmérhető, és ez a módszer segít abban is, hogy az egyes injekciókat pontosan a szívizom életképes területeire irányítják, növelve az őssejt-beültetés sikerét azáltal, hogy a hibernált szívizomban megnöveljük a túlélő sejtek számát (69).

Újabban megpróbálkoztak az őssejtek elektromechanikus térképezés nélküli bejuttatásával is a CHART vizsgálatban, azonban e vizsgálat neutrális eredménnyel zárult (70).

3.2.2.3. Humán őssejt transzplantációs vizsgálatok

A legjobban vizsgált őssejt-mediálta kezelési mód szívinfarktus után az őssejtek transzplantációja az infarktos szívizom területekbe, melynek lényege, hogy a csontvelőből vagy a perifériás vérből őssejteket nyernek az infarktust elszenvedett betegtől és azokat különböző módszerekkel bejuttatják az infarktos terület széli részeibe. Az őssejtek úttörő alkalmazása a kardiológiában humán klinikai környezetben először a „konvencionális kezelésre már nem alkalmas” betegek körében történt. Nem sokkal ezután az őssejt terápia egyre nagyobb figyelmet kapott, és I-II. fázisú klinikai vizsgálatokat is végeztek figyelemre méltó eredményekkel. Bizonyítékok láttak napvilágot arra vonatkozóan, hogy AMI, iszkémiás kardiomiopátia és mechanikus revaszkularizációs lehetőség nélküli CAD esetén az őssejtek terápiás ágensként való alkalmazása kiemelkedő klinikai előnyökkel jár (71, 72, 73, 74, 75).

A humán őssejtek kardiológiában való alkalmazásának kezdeti lépései során nem szelektált mononukleáris csontvelő őssejteket használtak. Az első humán vizsgálatokat, már visszafordíthatatlan stádiumban lévő, CAD-ban szenvedő betegeken végezték kis elemszámmal és nem randomizáltan (76, 77, 78). A legtöbb esetben az eredmények csak tendenciaszerűen mutatták az őssejt transzplantáció kedvező hatását. Mindazonáltal ezek a vizsgálatok

felvázolták az őssejt transzplantáció biztonságosságát és megvalósíthatóságát kardiológiai klinikai vizsgálati környezetben.

Az előrehaladott koszorúérbetegségben szenvedő betegek körében végzett őssejtvizsgálatok kezdeti sikere után a figyelem egy másik betegségcsoport, az akut miokardiális infarktus (AMI) felé fordult. Az egyik első vizsgálat, amely kimutatta az őssejtek alkalmazhatóságát AMI-ban, intrakoronárisan bejuttatott BMSC-eket használt a szívizom regenerációjának javítására. Ebben a vizsgálatban valóban az infarktus méretének jelentős csökkenését figyelték meg a kezelt csoportban a kontrollcsoporttal szemben, bár az ejekciós frakció (a szív bal kamrai hatékonyságának mérésére szolgáló érték, ami százalékos formában határozza meg, hogy a bal kamrában lévő vérmennyiség hány százalékát képes a szív kipumpálni) 6 hónap után már nem különbözött jelentősen (79). Mindazonáltal ez a vizsgálat mérsékelt, de megkérdőjelezhetetlen eredményei új korszakot nyitottak a humán őssejtkutatásban.

A TOPCARE-AMI (Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarct, Progenitor sejtek transzplantációja és a regeneráció fokozása akut miokardiális infarktusban) vizsgálatba 20 olyan AMI-s beteget vontak be, akik elsődleges PCI-n estek át, és intrakoronáriás infúzióban autológ szelektált CD34+ BMSC-eket vagy keringő progenitor sejteket kaptak. A nem randomizált vizsgálat során volt kontrollcsoport is volt. Mindkét alkalmazott sejtípus figyelemre méltó hatással volt az infarktus utáni bal kamrai remodeling folyamatára a kontrollcsoporthoz képest: szignifikáns növekedés volt megfigyelhető a bal kamrai ejekciós

frakcióban (2,5% vs. 8,5%), az infarktus zóna regionális kontraktilis funkciójában és az infarktusért felelős koszorúér véráramlási tartalékában (79).

Az első randomizált, kontrollált vizsgálat AMI-s betegek körében a BOOST-vizsgálat (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration csontvelő-átültetés az ST elevációval járó infarktus regenerációjának fokozására) volt (66, 80). Mintegy 30 beteget kezeltek autológ csontvelői őssejtek intrakoronáriás beültetésével az infarktusos területhez vezető artéria sikeres sztentelését követően AMI-ben, párhuzamosan a kontrollcsoport 30 betegével. A bal kamrai funkció 6 hónap múlva jelentős javulást mutatott szív MRI-vel értékelve. A korábbi nem randomizált vizsgálatokkal ellentétben a BOOST vizsgálatban nem figyelték meg az infarktus méretének jelentős csökkenését. Az ebben a vizsgálatban használt őssejtek csontvelőből származó nem szelektált mononukleáris sejtek voltak, azaz nem volt szükség az őssejtek jelölésére, ami a fő különbség a fent említett TOPCARE-vizsgálathoz képest.

Bár ezek az adatok igen meggyőzőek, a BOOST vizsgálat hosszabb távú nyomon követési eredményei nem mutattak szignifikáns javulást a szisztolés funkcióban az őssejtekkel kezelt csoportokban, így a szívizom őssejt terápia hosszú távú hatékonysága megkérdőjelezhető (81). Az Európai Kardiológus Társaság konszenzusjelentése szerint a kardiovaszkuláris őssejtterápia mindezidáig "csak" klinikai vizsgálati lehetőség az iszkémiás szívelégtelenség kezelésében, és a biztonságot mindig a

legfontosabbnak kell tekinteni (71, 81). Jelenleg számos randomizált vizsgálat van folyamatban a miokardialis őssejt terápia mellett vagy ellen szóló erős evidenciák bizonyítására.

Bár a BMSC-k ígéretes eszköznek bizonyulnak a szívizom iszkémiájának kezelésében, az autológ vázizom mioblasztok alkalmazása további előnyökkel járhat a betegség krónikus fázisában. A csontvelőből származó sejtek regenerációs potenciálja várhatóan a krónikus iszkémiás szívbetegségben is fennáll. Ez a feltevés arra készítette a kutatókat, hogy további vizsgálatokat végezzenek az őssejtterápia előnyeinek értékelésére (82, 83, 84). Az IACT (intracoronary autologous bone marrow cell transplantation) vizsgálat bizonyította az intrakoronáriás autológ csontvelői őssejt transzplantáció hatékonyságát és biztonságosságát krónikus szívinfarktusból, korábban transzmurális miokardiális infarktust elszenvedett és nyitott infarktushoz vezető artériával rendelkező beteg alkalmasnak bizonyult az intrakoronáriás csontvelősejt-terápia hatékonyságának és biztonságosságának vizsgálatára krónikus miokardiális iszkémiában. Három hónappal az intrakoronáriás őssejtterápia után az infarktus mérete 30%-kal csökkent, míg a globális bal kamrai ejekciós frakció 15%-kal, a regionális infarktus falmozgási sebessége pedig 57%-kal nőtt a kontrollcsoportéhoz képest. Az őssejtterápia sikere krónikus iszkémiás szívbetegség esetén további előnyökkel járhat olyan betegek esetében, akik nem alkalmasak sebészi vagy intervenciós revaszkularizációra.

Bár az elmúlt években számos más tanulmányt is publikáltak a csontvelői őssejtek és a vázizom mioblasztok infarktusból származó emberi szívizomzatba történő transzplantációjáról, a kutatók között még

mindig nincs konszenzus a szívizomzat regenerációját legjobban elősegíteni képes őssejt típust és az optimális beviteli módot illetően. A legmegfelelőbb őssejt alpopuláció megfelelő mennyiségben történő megtalálása és a legjobb beviteli útvonal mellett a kutatóknak az őssejtek megfelelő beépülésének és differenciálódásának optimális időzítésére is összpontosítaniuk kellett. Ahhoz, hogy az őssejtek számára ideális környezetet tudjunk teremteni fontos a mobilizáció, a homing, a beépülés, a túlélés, a differenciálódás és a proliferáció jelátvitelében szerepet játszó tényezők ismerete.

3.2.2.4. Az iszkémiás miokardiumba történő őssejt beültetés eredményessége

Preklinikai vizsgálatok alapján igazolódott, hogy vannak olyan sejtek, akár magában a szívben is, amelyek a születés után is megtartották az osztódóképességüket, és amelyek képesek lehetnek a szívizom szöveti károsodását követően a károsodott szív működés helyreállítására. Nem sokkal e felfedezés után az őssejtterápiáról bizonyítást nyert, hogy fiziológiás körülmények között is előforduló regenerációs mechanizmus normális körülmények között nem képes ellensúlyozni az AMI okozta károsodásokat. Kezdetben az a lehetőség került a figyelem középpontjába, hogy az élettani körülmények között hatástalan folyamatot fokozzák, hogy ezáltal mérséklődjön vagy akár csökkenjen a szívinfarktus utáni progresszív balkamrai remodeling.

Az állatkísérletekben elért kezdeti sikerek arra ösztönözték a kardiológusokat, hogy egy lépést tegyenek előre: számos humán vizsgálatot végeztek az őssejt-terápia megvalósíthatóságának és biztonságosságának értékelésére. Kielégítő biztonságosság mellett az

őssejt terápia a kísérletek során bebizonyította, hogy jelentős előnyökkel jár az AMI és más, progresszív sejtvesztéssel járó szívbetegségek kezelésében. Sőt, az őssejteknek az infarktus utáni remodelingre gyakorolt jótékony hatása még tovább fokozható olyan új módszerek alkalmazásával, amelyek az őssejtek terápia jótékony hatásait fokozni képesek, hogy egészségesebb miokardiális szövet alakuljon ki. A bevált gyógyszeres és reperfüziós terápia kombinálása az őssejt terápia alternatív megközelítéseivel a szívinfarktus utáni balkamra funkció nagyobb mértékű javulását eredményezheti, ahogy azt számos preklinikai és klinikai vizsgálatban igazolták. A csontvelői progenitorsejtek gyógyszeres kezeléssel történő fokozott mobilizálását, az iszkémiával szemben ellenálló őssejtek génátvitellel történő létrehozását, az őssejtek jelátviteli faktorokkal történő transzfektálásával történő neoangiogenesis indukálására tett kísérleteket, vagy akár a szívinfarktus utáni gyógyulási folyamat fokozását különböző serkentő faktorok alkalmazásával vizsgálták a közelmúlt alapkutatásaiban, vagy klinikai vizsgálataiban. Bár a fent részletezett megközelítések közül sok még messze van a klinikai gyakorlattól, néhány azonban egyre közelebb kerülhet ahhoz, hogy a klinikai kezelés részévé váljon.

Az ígéretes kezdeti eredmények ellenére kétségtelen, hogy ez az új megközelítés csak kiegészítő terápiának tekinthető. Az AMI kezelésének legfontosabb eleme az infarktusos területhez vezető elzárt koszorúér átjárhatóságának gyors helyreállítása pPCI-vel, vagy trombolízissel és a megfelelő gyógyszeres kezelés (aszpirin, másik támadásponton ható trombocita aggregáció gátlók, sztatinok, béta-

blokkolók és ACE- gátlók) alkalmazásával. Ismert, hogy nem minden AMI-s beteg alkalmas az őssejt-terápiára. Korai revaszkularizációs beavatkozás után csak kis számú szívizomsejtet pusztít el az iszkémia, így további jelentős javulás nem várható az őssejtterápiától. Ahhoz, hogy az őssejt transzplantációt a lehető legnagyobb haszonnal végezhessük el, a betegeket gondosan kell kiválasztani.

Rendkívül fontos lenne a transzplantált őssejtek hosszú távú sorsának a recipiens szövetben való alakulását befolyásoló mechanizmusokra vonatkozó alapkutatási adatok ellenőrzése a humán klinikai vizsgálatokban. Az őssejt transzplantáció után bekövetkező patofiziológiai események megértésének döntő lépése a sejtek vizualizálása a gazdaszervezet szívizomzatában. Ez állatmodellekben lehetséges, jelölt őssejtek felhasználásával. Állatkísérletekben a jelölésre retrovírusos transzdukciót alkalmaztak markergénnel (zöld fluoreszcens fehérje, b-galaktozidáz gén), timidinnel, bromodeoxiuridinnal vagy szuperparamágneses vas-oxid nanorészecskékkel (85). Alternatív megoldásként a nemhez nem illeszkedő őssejtek transzplantációja további előnyökkel járhat. Mindezen módszerek fő hátránya, hogy az őssejtek további sorsának értékeléséhez szövettani minta szükséges. Humán vizsgálati környezetben az őssejtek genetikai módosítása a vizualizáció érdekében nem kivitelezhető, és a többszörös szívizombiopsziák elvégzése kivihetetlen. Egyelőre nem létezik optimális módszer a transzplantált őssejtek követésére humán vizsgálatokban.

Egy másik nagyon fontos kérdés a felhasznált őssejtek optimális típusa és a legjobb beviteli útvonal meghatározása. Az ideális őssejttípusról szóló tudományos vita még mindig tart. Ami

egyértelmű, hogy a legtöbb humán klinikai vizsgálatban BMSC-t használnak az AMI kezelésére. Ez a sejttípus ideálisnak tűnik akut és szubakut miokardiális infarktus (MI) után intrakoronáriásan bejuttatva a károsodott szívizomzat regenerálására. A másik gyakran használt sejttípus a vázizom-eredetű mioblaszt. Ezek a sejtek hatékonyabbak, ha közvetlenül intramiokardiális injekcióval juttatják be őket a sérült miokardiumba. Mellékhatásokról ritkán számolnak be, bár vannak közlemények, amik vázizom mioblasztok beültetése után ritmuszavarokat, illetve csontvelői őssejt-transzplantáció után a szívizomzat súlyos meszesedését írták le (86). Azonban a legtöbb nemkívánatos hatást állatkísérletekben figyelték meg. A koszorúér-sztentelés (meggyengült érfalat kitámasztó érháló beültetése) után ugyanannak a betegnek párhuzamosan, egyidőben adott szignáltranszdukciós (jelátviteli) faktorok és őssejtek esetében még fontosabb a részletes információ az őssejtek által mediált folyamatokról: a szívizomfunkció javulása ellenére insztent rezstenózis léphet fel, ami helytelen időzítés esetén akár a további alkalmazást is korlátozhatja. A káros hatások elkerülése és az őssejtterápiából származó előnyök optimalizálása érdekében a legjobb sejttípust, az optimális beviteli módot, a helyes időzítést és az alapbetegséget a gyakorló kardiológusnak össze kell hangolnia. Az elmúlt évtizedekben az AMI halálozása hirtelen csökkent, köszönhetően az új kezelési módoknak: a koronária őrzők megjelenésének, valamint a korai reperfüzió (nyitott artéria elmélet) és a modern gyógyszeres terápia széles körű alkalmazásának. Az őssejtek felhasználása az elhalt vagy haldokló szívizom regenerálására új forradalmat hozhat a szívizomsejtek elvesztésével járó betegségek

kezelésében. A farmakológiai, sebészeti és intervenciós kezelések összejt terápiával való kombinálása további előnyökkel járhat. Most, hogy az alapkutatás terén elegendő bizonyíték gyűlt össze ahhoz, hogy a szívizom összejtterápia az ISZB (különösen az AMI) kezelésére kiterjedt klinikai kutatások tárgyává váljon, az összejtek által közvetített folyamatok optimalizálása lehet a következő lépés, amelyet a regeneratív kardiológia területén dolgozó kutatóknak mérlegelniük kell.

Ilyenkor a legcélszerűbb visszamenni az alapokhoz, és egy olyan nagyállat-modellt kidolgozni, ahol standardizált módon lehet elvégezni a vizsgálatokat azokkal az eszközökkel, amiket rutinszerűen alkalmazunk humán körülmények között.

4. SAJÁT VIZSGÁLATOK

4.1. A vizsgálatok helyszínei

A vizsgálatok helyszínei a Gottsegen György Országos Kardiovaszkuláris Intézet (Budapest), a győri Xantus János Állatkert, valamint a Kaposvári Egyetem Egészségtudományi Kar Diagnosztikai Intézete voltak.

4.2. Sertés nagyállat-modell beállítása kardiovaszkuláris kutatásokhoz

A különböző perkután koszorúér-beavatkozási technikák részleteinek vizsgálatához humán szívinfarktusban a szívinfarktus egyszerű és jól reprodukálható nagy-állatmodelljére van szükség. A sertések az intervenciós kardiológiában leggyakrabban használt nagytestű állatok közé tartoznak. Használatuk gazdaságos, és a magas színvonalú tenyésztési programok létrehozása minimálisra csökkentette az interkurrens betegségek előfordulását.

4.3. Anyagok és módszerek

4.3.1. Intervenciós kardiológiai eljárás

Vizsgálataink során mindkét nemből (12-12) huszonnégy, 18 és 22 kg közötti súlyú, klinikailag ellenőrzött és fertőző betegségektől

mentes yorkshire sertést használtunk. Valamennyi, a vizsgálat során elvégzett állatkísérletünk megfelelt a National Institute of Health publikált, a laboratóriumi állatokon végzett kísérletekre vonatkozó irányelveinek (NIH Publication No 85-23, revised in 1996). A kísérleteket úgy terveztük meg, hogy az állatok ne legyenek kitéve szükségtelen fájdalomnak és stressznek.

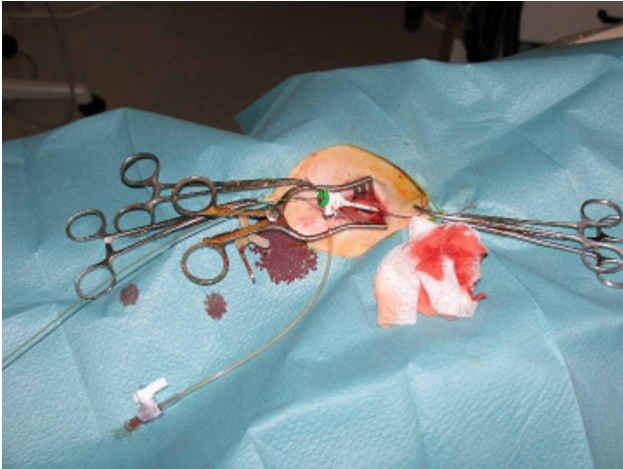
A szívkatéterezést és az intervenciót a sertésnél sok tekintetben hasonlóan végeztük el, mint az embernél és a használt eszközök is



3. ábra Sertés pozíciója a katéteres asztalon
Saját kép

gyakorlatilag ugyanazok voltak. A beavatkozások mindig általános

érzéstelenítésben történtek. Egy teljes éjszakai éhezés után a sertéseket hanyatt fekvő testhelyzetben, intramuszkuláris ketamin (12 mg/kg), xilazin (1 mg/kg) és atropin (0.04 mg/kg) kombinációjával altattuk el folyamatos EKG monitorozás mellett. **(3. ábra)** Az állatokat orotracheálisan Macintosh laringoszkóp segítségével (3-4-es méretű lapoc), az embereknél is rutinszerűen használt endotrachealis tubusokkal (ID 6,0-6,5) intubáltuk, majd O₂ (3 L/min) és izoflurán (2-2,5 vol%) keverékével mechanikusan lélegeztettük. Stabil fülvéna biztosítása után Na-Heparint (300 NE/kg) adtunk intravénásan bolusban, amivel az aktivált alvadási időt (ACT) >300 sec-re állítottuk be és a sertéseket fiziológiás sóoldattal infundáltuk. Az állatok testhőmérsékletét rektális hőmérővel mérve, szabályozható hőmérsékletű takaró használatával minimum 37 °C-on tartottuk.



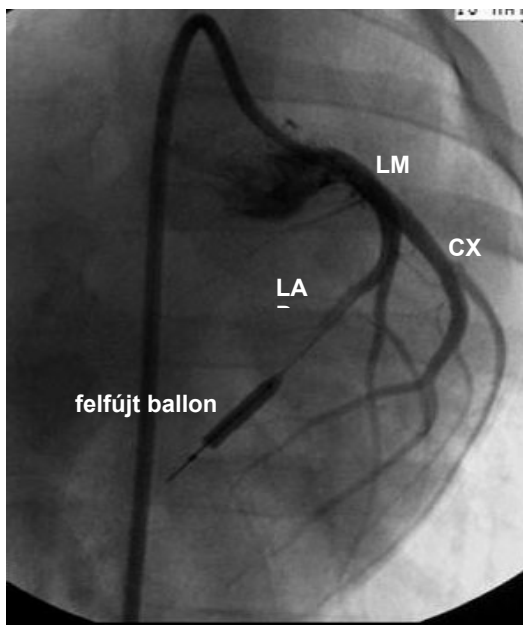
A sebészi feltárást követően egy hemostasis szeleppel ellátott 6 F bevezető sheath-et (B.Braun, Berlin GE) helyeztünk be a jobb oldali arteria femoralisba

(4.ábra). Hagyományos humán intervenciós kardiológiai berendezéseket használva (Siemens Axiom, Siemens Ag, Erlangen, Germany) az LM-et standard technikával, 6F Judkins Right 4 guiding katéterrel (Medtronic Inc, Minneapolis, MN, USA) kanuláltuk, vagy ennek sikertelensége esetén 6F Amplatz Left 1 guiding katétert (Medtronic Inc, Minneapolis, MN, USA) használtunk **(5. ábra)**. A



LAD disztális részébe egy standard 0.014 hüvelykes BMW koszorúér vezetődrótot (Abbott Vascular, Santa Clara, CA, USA) vittünk be. Az akut szívinfarktust egy 3,0-3,5X10 mm méretű Maverick ballonkatéter (Boston Scientific, Natick, MA, USA) 6 atm-ra történő, 90 perces felfújásával idéztük elő a LAD-ban a második

diagonális ág leadásától disztálisan. A LAD teljes elzáródását kontrasztanyag beadásával igazoltuk (6. ábra).



Antitrombotikus terápiaként a beavatkozást megelőző napon 300 mg enteroszolvens aspirint adtunk, amit folytattunk az állat eutanáziájáig napi 100 mg-os dózissal. Az irodalmi adatoknak megfelelően a malignus kamrai ritmuszavarok megelőzésére 1 mg/kg intravénás lidokaint alkalmaztunk.

Ha kamrafibrilláció (VF) vagy kamrai tachycardia (VT) lépett fel, azonnal defibrillációt végeztünk 360 J energiájú nem szinkronizált DC shock-kal. Antibiotikum profilaxist nem adtunk az állatoknak. A beavatkozás végén a bevezető sheath-et eltávolítottuk, az arteria femoralist lekötöttük, az állatot felébresztettük, leválasztottuk a lélegeztetőgépről, és az őrzőegységbe szállítottuk.

A szívinfarktus kialakulását az EKG-n újkeletű ST-szakasz elevációval, összszérum-kreatin-kináz felszabadulással, gadolinium kontrasztos szív MRI-vizsgálattal és szövettannal igazoltuk.

4.3.2. Posztkondicionálás

A PTCA ballon leengedése után azonnal reverzibilis alsó végtag iszkémiát hoztunk létre a vérnyomásmérő mandzsetta 5 perces felfújásával, amit leengedve 5 perces reperfúzió követett. Az iszkémia-reperfúziót négy körben ismételt meg.

4.3.3. Mortalitás

Vizsgálatunkban az összmortalitás volt, 3 állatot (12,5%) vesztítettünk el az eljárás során végzetes VF miatt. A 24 állatból 7-ben (29%) a ballon felfújását követő első 20 percen belül, illetve a reperfúziót követő 10 percen belül VF lépett fel, amit DC shock-kal sikeresen megszüntettünk.

4.3.4. Az infarktus méretének enzimatisz vizsgálata

Az első napon a narkózis bevezetése előtt, majd a ballon leengedését követően négy óránként, valamint a második és harmadik napon hat óránként vettünk vért elemzésre. Az állatokat a felesleges és káros stresszhatás elkerülése érdekében folyamatosan midazolam szedációban tartottuk.

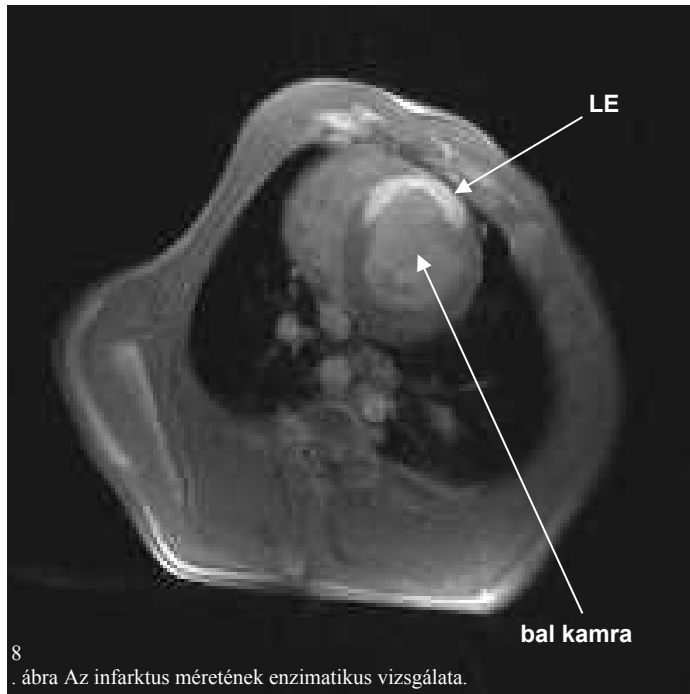
Az összszérum kreatin-kináz kiáramlási görbe alatti területet minden állatnál kiszámoltuk (Beckman Coulter, Fullerton, California, USA), és az infarktus enzimatis úton megállapított méretének markereként ezeket az értéket használtuk (**7. ábra**). Az össz szérum kreatin-kináz felszabadulás átlagos csúcserkéke 3599 (± 99) IU/L volt.

7. ábra Az infarktus méretének enzimatis vizsgálata.
P. Andréka Az emberi szívinfarktus jól reprodukálható
sertésmodellje MÁL 2024. 08. 465-474

4.3.5. Az infarktus méretének MRI vizsgálata

Az első 72 óra letelte után standard humán protokollt alkalmazva EKG kapuzott (EKG görbével vezérelten felvételezett) szív MRI-vizsgálatot végeztünk (1,5 T Siemens Magnetom Vision Plus, Siemens Ag, Erlangen, Németország), a 4.3.1. fejezetben már részletezett általános anesztézia protokoll szerint. Minden kép elkészítéséhez a lélegeztetést átmenetileg felfüggesztettük. Gadolinium kontrasztanyag (Magnevist, Berlex Laboratories, 0,2 mmol/kg bolus) intravénás beadását követően „late enhancement” (LE) képkötés történt 15 perces késleltetési idővel. A LE-t mutató régiók térfogatát a ARGUS 4.0 szoftver segítségével számoltuk ki

(Siemens Medical, Erlangen, Germany), ami az infarktus méretét jelezte és 38 (± 11) ml-nek adódott (**8. ábra**).



4.3.6. Infarktus méretének szövettani vizsgálata

A reperfüziót követő 72 óra után az állatokat nátrium-pentobarbitallal (160 mg/kg i.v.) eutanizáltuk, és a szíveket eltávolítottuk. A LAD-ba, a CX-be és az RCA-ba katétert vezetünk. A LAD-ot reverzibilisen ismét elzártuk a felfújott ballon korábbi pozíciójában, a második diagonális ág leadásától disztálisan. Mindhárom érbe Evans-kék festéket (0,4%) fecskendeztünk a katéteren keresztül, hogy kékre fessük a nem iszkémiás miokardium területet, és így kirajzolódjon a veszélyeztetett terület (nem kék). Az

elzárt LAD-ot ismét megnyitottuk, a katétert előbbre toltuk a második diagonális ágától disztális pozícióba, és a katéter hegye körül a LAD-ot egy lekötéssel ismét elzártuk. A LAD elzáródástól disztális részébe a katéteren keresztül 37 °C-os 2,3,5-trifeniltetrazolium-kloridot (0,1%) (TTC) fecskendeztünk, amely pirosra festette az életképes, de iszkémiás szívizomzatot, így meghatározhattuk az infarktus okozta nekrosis kiterjedését (fehér). A pitvarokat és a jobb kamrát eltávolítottuk, a bal kamra súlyát megmértük, majd 24 órára 10%-os formaldehid oldatba helyeztük. Ezután a bal kamra izomzatát 6 db, körülbelül 10 mm vastag szeletre vágtuk. Minden szelet súlyát megmértük és digitálisan színes fényképeket készítettünk. Egy képanalizáló szoftverrel (Adobe Photoshop 7.0) minden szeleten meghatároztuk a miokardium nekrosis és a veszélyeztetett szívizomzat területét (**9. ábra**).

A bal kamra és a veszélyeztetett terület aránya $41,3 \pm (3,4) \%$ volt. Az infarktus területe a veszélyeztetett terület $48,4 (\pm 5,2) \%$ -át képviselte (**10. ábra**).

9. ábra A miokardium nekrosis és a veszélyeztetett szívizomzat területének meghatározása képanalizáló szoftverrel. P. Andréka Az emberi szívinfarktus jól reprodukálható sertésmodellje MÁL 2024. 08. 465-474

10. ábra Az infarktus területének a veszélyeztetett területhez mért százalékos meghatározása. P. Andréka Az emberi szívinfarktus jól reprodukálható sertésmodellje MÁL 2024. 08. 465-474

4.3.7. Az adatfeldolgozás módszerei

Az adatokat középértékben (SEM) adtuk meg. Az össz kreatin-kináz kiáramlás görbe alatti területét az alábbi egyenlet segítségével számoltuk ki:

$$\text{Terület} = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_{14} = \left(\frac{(y_0 + y_1) \cdot x_1}{2} \right) + \left(\frac{(y_1 + y_2) \cdot x_2}{2} \right) + \left(\frac{(y_2 + y_3) \cdot x_3}{2} \right) + \dots + \left(\frac{(y_{13} + y_{14}) \cdot x_{14}}{2} \right)$$

A veszélyeztetett terület méretét a bal kamra tömegének százalékában, az infarktus méretét pedig a veszélyeztetett terület százalékában fejeztük ki. Statisztikai szignifikanciát elfogadtuk, ha $p < 0,05$ (varianciaanalízis).

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Kidolgozásra került a koronária intervenciók vizsgálatára alkalmas sertés modell és a miokardiális infarktus „biztonságos” létrehozásának technikája, 12.5%-os mortalitási rátával. Előbbiek megvalósítása során meghatároztuk az anesztézia helyes módját, valamint a megfelelő méretű infarktus kialakítása érdekében a LAD elzárás pontos helyét és idejét. Beállítottuk az infarktus vizsgálatára és az infarktusos területek nagyságának meghatározására alkalmazható módszereket, a kreatinin-foszfokináz-értékek grafikus ábrázolása után a görbe alatti területek összehasonlítását, a gadolinium kontrasztos MRI vizsgálat során a LE-t mutató területek nagyságának összehasonlítását, valamint az általunk kifejlesztett szövettani vizsgálatot. Vizsgálataink eredményei egyértelműen bizonyították, hogy *sertésekben a LAD reverzibilis elzárásával létrehozott szívizom*

infarktusban a koronária megnyitása után közvetlenül elvégzett távoli posztkondicionálás a nem létfontosságú alsó végtagon létrehozott reverzibilis iszkémia-reperfúziós ciklusokkal szignifikáns mértékben csökkentette a miokardiális infarktus kiterjedését a kontroll állatokhoz képest.

Az első 72 órában 15 alkalommal meghatározott szérum kreatinin-foszfokináz-érték ábrázolásával elkészített grafikon alatti terület szignifikánsan kisebb volt a posztkondicionált csoportban, ami az infarktusos terület 26%-os csökkenését reprezentálta.

A gadolinium kontraszt MR-en a LE jelenségét vizsgálva ugyancsak igazolni tudtuk az infarktusos terület 22%-os csökkenését .

A szövettani vizsgálat szintén az infarktusos terület szignifikáns csökkenését igazolta (47.5%) a posztkondicionált csoportban a kontroll csoporthoz képest.

Eredményeink elsőként igazolták azt a feltevést, hogy a könnyen elérhető, nem létfontosságú végtagizomzat rövid, reverzibilis iszkémia-reperfúziója távolról posztkondicionálja a szívet az infarktus során elzárt koronária megnyitása után közvetlenül végrehajtva. Ezzel az eljárással az infarktusos terület szignifikáns mértékben csökkenthető anélkül, hogy koronária sérülés veszélyének tennénk ki az állatokat.

Kísérleteink sikere felveti annak a lehetőségét, hogy a távoli posztkondicionálás emberi használhatóságát is igazoljuk kezdetben kis esetszámú, majd ezek pozitív eredménye esetén nagyobb esetszámú, később randomizált és multicentrikus humán vizsgálatok során is.

6. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A diagnózis és a gyógykezelés terén az elmúlt négy évtizedben elért eredmények ellenére az akut STEMI gyakorisága továbbra is jelentős problémát jelent, és egyre fontosabbá válik a fejlődő országokban is. Mivel a STEMI-betegek akut halálzásának fő oka a malignus kamrai ritmuszavar, a halálzás mérséklésének legfontosabb eszköze a koronária őrzők létrehozása volt, amik képesek folyamatosan, 48 órán keresztül monitorozni a betegeket és szükség esetén a DC sokkot elvégezni a malignus ritmuszavar megszüntetésére. A következő "nagy lépés" a koronária perfúzió gyors, újbóli biztosítása (nyitott artéria elmélet) volt kezdetben vérrögoldó fibrinolízissel, majd katéteres terápiával (pPCI) (6, 9).

Mivel mind a PCI-ben alkalmazott technikák, mind az eszközök folyamatos fejlesztés alatt állnak, szükség volt egy olyan nagyállat-modellre, amelyben a STEMI egyszerűen és reprodukálhatóan létrehozható, valamint amely alkalmas a különböző intervenciós kardiológiai technikák és eszközök tesztelésére. Mivel a sertés és az ember koszorúér rendszere között jelentős hasonlóságok vannak, az elmúlt két évtizedben egyre nagyobb érdeklődés mutatkozott a specifikus patogénektől mentes sertésfajták alkalmazása iránt az intervenciós kardiológiai kutatásokban. Emellett számos nem tudományos meghatározó tényező, például pénzügyi és társadalmi nyomás is hozzájárult ahhoz, hogy a sertés az intervenciós kardiológiai kutatások népszerű kísérleti állata lett és felváltotta pl. a kutyák rutinszerű használatát (91, 92). Ennek ellenére a sertések a mai napig nem gyakran használatosak az emberi szívinfarktus

modelljeként, mivel elterjedt nézet, hogy nem tolerálják a stresszt, az akut iszkémiát, következményes malignus kamrai ritmuszavarok (VT, VF) alakulnak ki és az állatok elhullanak.

A sertések nagyon érzékenyek mindenféle stresszre (91, 92). Ismert tény, hogy a stresszmentes környezet meghatározza a sertéskísérletek eredményét. Amint az állatok hozzászoktak a csendes laboratóriumi helyiségekhez, a változatlan gondozó személyzethez és a rendszeres etetési órákhoz, viselkedésük meglehetősen egységes és engedelmes lett. Az elkerülhetetlen stresszhelyzetek (rendszeres vérvizsgálatok) káros következményeinek minimalizálása érdekében az állatokat állandó midazolam szedációban tartottuk.

Más kutatók hasonló beavatkozásait nyitottmellkason keresztül (94) végezték el, vagy a katétert percutan, a feltárt jobb vagy bal oldali nyaki aortán vagy nyaki vénán át vezették fel (95).

Az általunk 2006-ban, a humán miokardiális infarktus modellezésére kidolgozott zárt mellkasú sertés nagyállat-modell volt az első ilyen katéteres rendszer hazánkban (93), amit aztán több hazai és külföldi munkacsoport követett és dolgozott át a saját kísérleti igényeinek megfelelően. (96, 97, 98, 99, 100).

A LAD akut teljes elzáródása sertésben gyakran vezet kamrafibrillációhoz (101, 102), ami nagyban függ az iszkémiás szívizomzat méretétől (103). Vizsgálataink során a LAD akut teljes elzárását a második diagonális ágától disztálisan végeztük, és kamrafibrilláció az állatok 41,6%-ában fordult elő (3 esetben halálos, 7 esetben DC-sokkal sikeresen megszüntetett), szemben a Verdouw és munkatársai által publikált 100%-kal a LAD proximális lekötése után (104). Laboratóriumunkban a kamrafibrilláció többsége 10 percen

belül bekövetkezett, és a legtöbb malignus aritmiát DC-sokk-kal könnyen meg lehetett szüntetni. A LAD-okklúzió során az állatok mindössze 12,5%-át veszítettük el, és a halál oka mindig a kezelhetetlen kamrafibrilláció volt. A malignus aritmiák megelőzésére antiaritmiás gyógyszert (lidokain 1 mg/kg) alkalmaztunk.

Bár a második diagonális ágától disztálisan elhelyezkedő LAD ballonos elzárása a mindössze 12,5%-os halálozási aránnyal biztonságos eljárásnak bizonyult, azt is meg kellett vizsgálnunk, hogy az ezzel a technikával létrehozott szívinfarktus mérete elég nagy-e ahhoz, hogy a különböző intervenciós kardiológiai kutatásokhoz felhasználható legyen. Az ST-szakasz eleváció, a T- és Q-hullámok változása, valamint az összszérum-kreatinin-kináz felszabadulás a reperfüzió 72 órája alatt, a gadolínium late enhancement MRI-vizsgálata és a 72 órás szövettani vizsgálat bizonyította, hogy a második diagonális ágától disztálisan elhelyezett LAD elzárás jelentős méretű szívizominfarktust képes okozni. A veszélyeztetett terület a bal kamra körülbelül 40%-át tette ki, míg az infarktus mérete a veszélyeztetett terület körülbelül 48%-a volt. A módszer eredményeit könnyen és jól reprodukálhatóan tudtuk igazolni ex vivo Evans-kék és TTC dupla festéssel.

A fent említett vizsgálatok célja az volt, hogy a humán ST-elevációs szívinfarktus egyszerű, hatékony és jól reprodukálható sertésmodelljét fejlesszük ki az intervenciós kardiológiai kutatások számára. Ezekben a kísérletekben sikerült jelentősen csökkenteni a korábban közölt magas halálozási arányt a LAD ballonos elzárásával kiváltott sertés szívinfarktusban úgy, hogy közben a következményes szívizom- infarktus mérete is megfelelően nagy maradt. Kidolgoztuk a

szívizom infarktus méretének pontos meghatározására alkalmas technikák sorát, ami magában foglalja az enzimkiáramlás speciális mérését, a gadolinium kontraszt MRI vizsgálatot, az infarktusos terület volumenének pontos meghatározására, valamint a veszélyeztetett terület és az infarktus méret meghatározását digitális szövettani technikákkal. Adataink fontos információkat szolgáltatnak ahhoz, hogy az ST-elevációs infarktus sertés modelljét használhassuk az intervenciós kardiológiai kutatásokban a szívinfarktus invazív kezelésében alkalmazott különböző technikák és különböző eszközök vizsgálatára, valamint az intervenciós beavatkozások oktatására.

Munkánk megerősítette azt a feltételezést, hogy közvetlenül a reperfúzió után a távoli posztkondicionálás során a hátsó lábon indukált rövid, ciklikus iszkémiás epizódok az infarktus méretét 48%-kal képesek csökkenteni. Ez az eredmény azért lényeges, mert az összes módszer, amivel az infarktus méretét megbecsültem, statisztikai és klinikai szempontból is szignifikáns infarktus méret csökkenést mutatott, ami pedig a STEMI prognózisának legfontosabb meghatározója (105).

Saját és más kutatócsoportok eredményei is logikus következményei az iszkémiás miokardium kondicionálás kutatásának (23). Igaz, hogy a gyors reperfúzió elvégzése a legjobb stratégia a szívizom-iszkémia komplikációinak csökkentésére és a reperfúzió önmaga is képes miokardium diszfunkciót okozni (106). A reperfúziós sérülések számos mechanizmust foglalnak magukba. A reperfúzió folyamata további biokémiai, strukturális és funkcionális változásokkal jár a szívizomban, és meghatározhatja a sejtek túlélését és a sejthalált (108). Ugyan a tudományos inspiráció forrását az utóbbi

időben a prekondicionálás jelentette, ennek klinikai alkalmazhatósága nagyon korlátozott, mivel nehéz előre megjósolni az akut szívizom-események bekövetkeztét. Az a későbbi felismerés, hogy a reperfúziós sérülést jelző kinázok aktivációja esetleg csökkenti a reperfúziós sérülés kiterjedését és megmentheti a miokardiumot, újra felkeltette az érdeklődést a kontrollált vagy mérsékelt reperfúzió iránt. Ugyan a lokális miokardiális posztkondicionálás hatásossága a koronária ballon felfújásával bizonyított (109), ez a mindennapi gyakorlatban logisztikai nehézségekbe ütközik (110). A posztkondicionálásról bizonyított, hogy távolról elvégezve is hatásos szívizom-infarktus rágcső modelljében több ciklusban veseiszkémiát vagy nyúlmodellben alsó végtag iszkémiát okozva (23). Több vizsgálat igazolta, hogy távoli posztkondicionálás (sokkal inkább, mint a reperfúzió előtt elvégzett prekondicionálás) a végtag iszkémiás manipulációjával biztonságos és effektív (24,111.).

Az infarktusos terület nagysága, amit standard módon a veszélyezett terület arányában adtuk meg és a kontroll állatokhoz hasonlítottunk, 48%-os csökkenést mutatott a távoli posztkondicionáláson átesett állatokban. Ezeket a méréseket egyéb validált, az infarktus méretét pontosan meghatározni képes módszerekkel (pl. MRI) is igazoltuk (27). Saját vizsgálatainkban a posztkondicionálás hatása megegyezett más munkacsoportok vizsgálataival pre- és posztkondicionálás után több más állatmodellben, mint pl. patkányban, nyúlban és kutyában (28). Igaz ugyan, hogy a prekondicionálás intuitívan és empirikusan is hatásosabbnak tűnik a posztkondicionálásnál, azonban Kharbanda és mtsai által hasonló sertés modellben elvégzett prekondicionálásos

vizsgálat eredményeit összehasonlítva a saját eredményeinkkel, az infarktusz terület méretének csökkenése lényegében nem különbözött (26 (\pm 9) % vs. 53 (\pm 8) %, $p < 0.05$, a csökkenés kb. 50%) (32). Az abszolút infarktus méretben mutatkozó különbségek metodikai különbségekkel magyarázhatók leginkább, Kharbanda és mtsai kisebb (kb. 15 kg testsúlyú) Danish Landrace sertéseket használtak a PTCA ballont 40 perce felfújva az 1. diagonális ágától disztálisan. Vizsgálataink során nagyobb (kb. 25 kg testsúlyú) Yorkshire sertéseket használtunk és a PTCA ballont 90 percig tartottuk felfújva a 2. diagonális ágától disztálisan, így az infarktus a veszélyeztetett terület kisebb részében jelentkezett.

A kondicionálás elméletei hagyományosan -függetlenül az alkalmazott modelltől (patkány, nyúl, kutya vagy ember)- az iszkémiás ciklusok hosszától és számától (egy vagy több ciklus), vagy az index iszkémia szervétől (lokális vagy távoli, pl. vese iszkémia), és hogy a kondicionálásról (31), vagy a poszt kondicionálásról van-e szó (112, 24), megegyeznek abban, hogy a beavatkozást a reperfüziót követő egy percen belül meg kell kezdeni. Vizsgálataink során sikeresen alkalmaztuk a távoli poszt kondicionálást egy, az emberi viszonyokat jobban modellező sertés modellen, zárt mellkas mellett. Míg korábban egyéb kisállatmodellen nem sikerült bizonyítani az eljárás sikerességét, úgy tűnik, hogy a poszt kondicionálás több, mint csupán egy kontrollált reperfüziót előidéző, lokális hemodinamikára ható tényező (113). A távoli poszt kondicionálás feltételezhetően azonnal olyan szignáltranszdukciós útvonalakat indít meg, amelyek enyhítik a reperfüziós károsodást. Feltehetően az útvonalak mediátorai és hatásidejük változatos (attól függően, hogy melyik

szervet mennyi ideig érinti az iszkémia) és a távoli kondicionálás mechanizmusa pontosan nem tisztázott (legyen az prekondicionálás vagy posztkondicionálás) mégis feltételezhető, hogy összefüggés van a kettő között. Általánosságban elfogadott, hogy az adozin kiáramlásnak és az A_{2A} és A_3 receptorra kifejtett hatásának kritikus hatása van az infarktus kiterjedésének csökkentésében. Humorális faktorokra jellemző módon az idegrendszeri aktiválódás lehet az egyik triggere az intramiokardiális adozin felszabadulásnak a prekondicionálás bizonyos formáiban. Ez a reflex bizonyos esetekben meggátolható ganglionblokkoló hexametonium alkalmazásával (31). Figyelemreméltó, hogy a sertés szív nem rendelkezik az emberihez hasonló kiterjedt koronária kollaterális hálózattal, így bármelyik mediátornak egyéb, nem direkt módon kell kifejtenie hatását a miokardiumra, vagy a reperfüzió után azonnal kell aktiválnia. További tudományos munkát igényel a pontos jelátvivő útvonalak és az esetleges gyógyszer interakciók meghatározása, pl. az inhalációs anesztetikumokkal.

Habár eredményeinket limitálta, hogy nem ismertük a valódi posztkondicionálás és a downstream jelátviteli folyamatok pontos hatásmechanizmusát, azonban vizsgálataink igazi célja az volt, hogy bizonyítsák a távoli posztkondicionálás hatásosságát. Kezdetben sokan nem tulajdonítottak jelentőséget a posztkondicionálásnak, hiszen hagyományosan a perkondicionálási doktrína szerint szükséges egy meghatározott idő a preiszkémia és a reperfüzió között, hogy a pontos jelátviteli mechanizmusok hatásosak lehessenek (31).

Vizsgálataink eredményei igazolták először, hogy zárt mellkas mellett - egy emberhez hasonlóan - nagytestű emlősállatban

biztonságosan és egyszerűen végrehajtható a távoli posztkondicionálás, amely több területen egyaránt alkalmazható lehet, mint például a gyermek szívtranszplantáció és a primer angioplasztika. Vizsgálataink eredményeit megerősíti két kisállat-modellen végrehajtott távoli kondicionálással foglalkozó tanulmány is (23, 24,114).

Világosan sikerült igazolni, hogy a mai modern szív- és érrendszeri medicinában az alapvető fontosságú csapatmunka az eddigieken túl, sokkal szélesebb körben is értelmezhető. A sertés nagyállat-modell kidolgozása a humán ST-elevációs szívinfarktus modellezésére, valamint a katéteres technikák tesztelésére egy komplex, magas szaktudást igénylő feladat, ami csak állatorvosok és humán intervenció kardiológusok jól megtervezett és kidolgozott csapatmunkájával kivitelezhető.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Vizsgálataink igazolták, hogy az emberi koszorúsér- intervenciók vizsgálatára alkalmas az alacsony mortalitású sertés modell

2. Kidolgoztuk a sertés szívizom-infarktus vizsgálatára és az infarktusos területek nagyságának meghatározására és összehasonlítására alkalmazható módszereket, úgy mint:

-a kreatinin-foszfokináz értékek grafikus ábrázolása után a görbe alatti területek összehasonlítását,

-a gadolinium kontrasztos MRI vizsgálat során a LE-t mutató területek nagyságának összehasonlítását,

-a szövettani vizsgálatot a nem iszkémiás miokardium-terület, a veszélyeztetett terület, a nekrotikus miokardium terület, valamint az életképes miokardium terület nagyságának összehasonlítására.

3. Vizsgálataink egyértelműen bizonyították, hogy sertésekben létrehozott szívizom infarktusban a koronária megnyitása után közvetlenül elvégzett távoli posztkondicionálás a nem létfontosságú alsó vétagon létrehozott reverzibilis iszkémia-reperfúziós ciklusokkal könnyen és biztonságosan elvégezhető volt és szignifikáns mértékben csökkentette a miokardiális infarktus kiterjedését a kontroll állatokhoz képest.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Mint minden fejlett államban, Magyarországon is a szív- és érrendszeri betegségek vezetnek a halálozási listát, ezen belül is az iszkémiás szívbetegségben és a következményes szívelégtelenségben elhunyt betegek száma a legmagasabb. Az elmúlt 10 év terápiás erőfeszítési ellenére ez a szívelégtelenség progresszív és nagyon magas halálozású maradt, mivel a diagnózis felállítását követő 5 éven belül a betegek közel 50%-a meghalt.

A szívelégtelenség leggyakoribb oka az iszkémiás szívbetegség, és azon belül is a miokardiális infarktus, aminek a halálozása az utóbbi időben drámaian csökkent. Ezzel szemben a krónikus szívelégtelenség incidenciája és prevalenciája jelentősen növekedett. Ennek az lehet az oka, hogy a modern intervenciós és gyógyszeres kezelés lényegesen csökkentette a szívizom infarktus mortalitását, így egyre több beteg éli túl a betegség akut szakát, akiknél viszont a nagy kiterjedésű szívinfarktus következtében jelentős szisztolés diszfunkció jelentkezik, és kialakul a súlyos szívelégtelenség.

Minden beavatkozás tehát, ami a szívizomsejtek pusztulásának megakadályozását vonja maga után, csökkenti a posztinfarktusos szívelégtelenség kialakulásának valószínűségét, és így a kardioprotekció, azaz a szívizom védelmének fontos része lehet. Jelen PhD munka a kardioprotekció kísérletes vizsgálata köré épül.

Mivel az iszkémiás prekondicionálás egyértelműen csökkenti a szívben az iszkémia-reperfúziós sérülés mértékét, ennek kedvező hatása megmutatkozik mind a miokardium lokális, mind pedig távoli, akár egy nem vitális szerven keresztüli prekondicionálása esetén. Az iszkémiás poszt kondicionálás - rövid iszkémiás epizódokkal végezve - az iszkémiás esemény után azonnal a prekondicionáláshoz hasonló kedvező eredményt mutat.

A sertéseket kardiológiai modell-állatként egyre gyakrabban alkalmazzák az intervenciós kutatásokban ereiknek a humán koszorúerek anatómiájához való hasonlóságuk, valamint az előbbiekből adódó katéterezési technikák sertésekben való könnyű használhatósága miatt.

Munkánk első részében az emberi szívinfarktus perkután behelyezett ballonkatéterrel kialakított, egyszerű sertés-modellje kerül részletes bemutatásra.

Vizsgálataink második részében elemzésre kerül, hogy egy sertés végtagon mesterségesen létrehozott iszkémia kivált-e távoli poszt kondicionálást, aminek kövekezményével csökkenthető-e a sertés nagyállat-modellben létrehozott akut szívinfarktus mérete.

Kísérleteink során mindkét nemből huszonnégy yorkshire sertésen a bal elülső leszálló koszorúér ágban (LAD) akut szívom infarktust indukáltunk. A ballon leengedése után azonnal 12 sertésben távoli iszkémiás poszt kondicionálást végeztünk egy vérnyomásmérő

mandzsetta négy alkalommal, öt percre történő felfűjásával az állatok egyik hátsó végtagján. A szívinfarktus kialakulását az EKG segítségével azonosítható ST-szakasz emelkedésével igazoltuk. Méretét a 72 órás teljes szérum kreatinin-kináz felszabadulással, gadolinium kontraszt MRI-vel és immunhisztokémiai vizsgálattal értékeltém.

Vizsgálataink eredményei alapján beigazolódott, hogy a sertés modell-állatként praktikus, költséghatékony, és használatával jól reprodukálható méretű szívinfarktus hozható létre, ami nagyon hasonlít az emberi szívinfarktushoz. Orvos-kollégákkal közösen elvégzett műtéteink eredményei alapján a második diagonális ágától disztálisan kialakított szívinfarktus mortalitása alacsonyabb volt, mint ahogy az az irodalomból ismert.

A vérbiokémiai vizsgálatok eredményei szerint a teljes szérum kreatinin-kináz felszabadulás görbéje alatti terület szignifikánsan kisebb volt a posztkondicionáláson átesett csoportban, mint a kontroll csoportban, ami 26%-kal kisebb infarktus méretet igazolt ($p < 0.05$). Ezt az MRI és az immunhisztokémiai vizsgálat is megerősítette 22%-os ($p < 0.05$) és 47.5%-os ($p < 0.01$) infarktus méret csökkenést kimutatva.

A kondicionálás elméletei hagyományosan, függetlenül az alkalmazott modelltől, az iszkémiás ciklusok hosszától és számától, vagy az index iszkémia szervétől, és hogy a kondicionálásról általánosságban, vagy a posztkondicionálásról van-e szó, megegyeznek

abban, hogy a beavatkozást a reperfúziót követő egy percen belül meg kell kezdeni. Jelen kutatás sikeresen alkalmazott valódi posztkondicionálást, egy az emberi viszonyokat jobban modellező sertés modellen zárt mellkas mellett. Ezen túlmenően mi igazoltuk először, hogy zárt mellkas mellett, egy emberhez hasonlóan nagytestű emlősállatban biztonságosan és egyszerűen végrehajtható a távirányított posztkondicionálás, amivel kiküszöbölhető lehet a direkt posztkondicionálás számos, nem kívánatos mellékhatása.

Meggyőződésünk, hogy csak az állatorvosok és a humán kardiológusok együttműködésével lehet a sertés koronária vizsgálatok nehézségeit kiküszöbölni. A távoli iszkémiás posztkondicionálás egy viszonylag egyszerű technika az infarktus méretének csökkentésére, ami kiküszöböli a lokális posztkondicionálás során, a koszorús artériákban elvégzendő többszörös ballonfelfújáshoz köthető szövődményveszélyt. Ez a fajta iszkémiás kondicionálás jelentős klinikai előnnyel járhat, de még további vizsgálatokat igényel.

9. IRODALOMJEGYZÉK

1. Weidinger F, Luscher T, Achenbach S et al. ESC Cardiovascular realities 2022
2. Timmis A, Vardas P, Townsend N et al. ESC cardiovascular disease statistics 2021. *Eu Heart J* 2022; 43: 716-799
3. Vervoort D, Wang R, Li G et al. Addressing the global burden of cardiovascular disease in women: JACC state-of-the-art review. *JACC* 2024; 83: 2690-2707
4. Mansah GA, Myers T, Schmelzer R et al. Turning data into action: the JACC Global Burden of Cardiovascular Diseases and risk interactive tool and resources. *JACC* 2024; 83: 2610-2613
5. Saad RK, Alsouri R, Kruse MH. Addressing emerging public health threats: the Noncommunicable Disease Capacity Assessment and Planning (N-CAP) Process. *Front Public Health* 2024; 12: 1384957.doi: 10.3389
6. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ et al. 2023 ESC Guideline for the management of acute coronary syndromes. *Eu Heart J* 2023; 44: 3720-3820
7. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003; 361:13–20.
8. Betriu A, Masotti M. Comparison of mortality rates in acute myocardial infarction treated by percutaneous coronary intervention versus fibrinolysis. *Am J Cardiol* 2005; 95: 100-101

9. Halkin A, Stone G, Dixon S, et al. Impact and determinants of left ventricular function in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2005; 96:325–31.
10. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, et al. Clinical implications of the ‘no reflow’ phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation* 1996; 93:223–8.
11. McDonagh TA, Metra M, Adamo M et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eu Heart J* 2021; 42: 3599-3726
12. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA et al. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol* 1960; 70: 68-78
13. Okamoto F, Allen BS, Buckberg GD, et al. Reperfusion conditions: importance of ensuring gentle versus sudden reperfusion during relief of coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986;92:613–20.
14. Racz B, Gasz B, Gallyas F JR, et al. PKA-Bad-14-3-3 and Akt-Bad-14-3-3 signaling pathways are involved in the protective effects of PACAP against ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis. *Regul Pept* 2008; 145(1–3): 105–15.
15. Alston EN, Parrish DC, Hasan W, et al. Cardiac ischemia-reperfusion regulates sympathetic neuropeptide expression through gp130-dependent and independent mechanisms. *Neuropeptides* 2011; 45(1): 33–42.

16. Sebbag L, Reimer KA, Jennings RB et al. Elimination of glycolytically-derived ATP markedly accelerates the onset of transmural cell death during myocardial ischemia in vivo in dogs. *Circulation* 1996; 94: 367
17. Cannon RO III. Mechanisms, management and future directions for reperfusion injury after acute myocardial infarction. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2:88–94.
18. Jennings RB. Commentary on Selected Aspects of Cardioprotection. *J Cardiovasc Pharm Ther* 2011; 16: 340-348
19. Jennings RB. Historical Perspective on the Pathology of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *Circ Res* 2013; 113: 428-438
20. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136
21. Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM et al. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 1991; 84: 350-356
22. Li CM, Zhang XH, Ma XJ, et al. Limb ischemic postconditioning protects myocardium from ischemia-reperfusion injury. *Scand Cardiovasc J* 2006; 40:312–17.
23. Yellon DM, Downey JM. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 2003; 83:1113–51.
24. Schmidt MR, Smerup M, Konstantinov IE, et al. Intermittent peripheral tissue ischemia during coronary ischemia reduces

- myocardial infarction: first demonstration of remote ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Published Online First 15 Dec 2006. doi: 10, 1152/ajpheart.00617., 2006.
25. Kim RJ, David S, Fieno BS, et al. Relationship of MRI delayed contrast enhancement to irreversible injury, infarct age, and contractile function. *Circulation* 1999; 100:1992–2002.
 - 26.
 27. Crisostomo PR, Aairiuko GM, Wang M, et al. Preconditioning versus postconditioning: mechanisms and therapeutic potentials. *J Am Coll Surg* 2006; 202:797–812
 28. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M. Regional ischemic preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion *Circulation* 1993; 87: 893-899
 29. Heusch G, Schultz R. Remote preconditioning. *J Moll Cell Cardiol* 2002; 34: 1279-1281
 30. Gho BCG, Schoemaker RG, van den Doel MA, et al. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation* 1996; 94:2193–2200.
 31. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002; 106:2881–3.
 32. Botker HE, Kharbanda R, Schmidt MR et al. Remote ischemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomized trial. *Lancet* 2010; 375: 727-34

33. Eitel I, Stiermaier T, Rommel KP et al. Cardioprotection by combined intrahospital remote ischemic preconditioning and postconditioning in ST-elevation myocardial infarction: the randomized LIPSIA CONDITIONING trial. *Eur Heart J* 2015; 36: 3049-3057
34. Hausenloy DJ, Khabanda RK, Moller UK et al. Effect on remote ischemic conditioning on clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction (CONDI-2/ERIC-PPCI): a single-blind randomized controlled trial. *Lancet* 2019; 394: 1415-1424
35. Heusch G. Postconditioning: old wine in a new bottle? *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1111–12.
36. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2005; 103:2776-9.
37. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344:1750–7.
38. Malouf NN, Coleman WB, Girsham JW, et al. Adult-derived stem cells from the liver become myocytes in the heart in vivo. *Am J Pathol* 2001; 158:1929-35.
39. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410:701–5.
40. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Nat Acad Sci USA* 2001; 98:10344–9.

41. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428:664–8.
42. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428,:668-73.
43. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001; 108:407-14.
44. Kótai István, Font Gusztáv, Andréka György, Megtörtént az első őssejttranszplantáció Magyarországon Kamarai Állatorvos 2007 24-28.
45. Kehat I, Khimovich L, Caspi O, et al. Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2004; 22:1282-9.
46. Dowel JD, Rubart M, Pasumarthi KB, et al. Myocyte and myogenic stem cell transplantation in the heart. *Cardiovasc Res* 2003; 58:336-50.
47. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:1078–83.
48. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999; 103:697-705.

49. Toma C, Pittenger MF, Cahil KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002; 105:93–8.
50. Mangi AA, Noiseux N, Kong D, et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med* 2003; 9:1195-201.
51. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:1919-25.
52. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002; 99:3838-43.
53. Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation* 2001; 103:634-7.
54. Badorff C, Brandes RP, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes. *Circulation* 2003; 107:1024-32.
55. Lee SH, Wolf PL, Escudero R, et al. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *N Engl J Med* 2000; 342:626-33.
56. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2002; 53:31-47.

57. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363:751–6.
58. Jorgensen E, Ripa RS, Helqvist S, et al. In-stent neo-intimal hyperplasia after stem cell mobilization by granulocyte-colony stimulating factor. Preliminary intracoronary ultrasound results from a double-blind randomized placebo-controlled study of patients treated with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (STEMMI Trial). *Int J Cardiol* 2006; 111:174-7.
59. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI). *Circulation* 2005; 112:3097–106.
60. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7:430-6.
61. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004; 95:9-20.

62. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium. *Circulation* 2005; 111:2198-202.
63. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106:3009–17.
64. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrowcell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364:141–8.
65. Orlic D, Hill J, Arai A. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002; 91:1092–102.
66. Vulliamy PR, Greeley M, Halloran SM, et al. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363:783–4.
67. Murad-Netto S, Moura R, Romeo LJM, et al. Stem cell therapy with retrograde coronary perfusion in acute myocardial infarction. A new technique. *Arq Bras Card* 2004; 83:352-4.
68. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361:47–9.
69. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107:2294–302.
70. Bartunek J, Terzik A, Davison BA et al. Cardiopoietic cell therapy for advanced ischemic heart failure: results at 39 weeks

- of the prospective, randomized, double blind, sham-controlled CHART-1 clinical trial. *Eu Heart J* 2016; 0:1-13
71. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005; 96:151-63.
 72. Forrester JS, Price MJ, Makkar RR. Stem cell repair of infarcted myocardium. An overview for clinicians. *Circulation* 2003; 108:1139-45.
 73. Lee MS, Makkar RR. Stem-cell transplantation in myocardial infarction: A status report. *Ann Intern Med* 2004; 140:729-37.
 74. Leontiadis E, Manginas A, Cokkinos DV. Cardiac repair – fact or fancy? *Heart Fail Rev* 2006; 11:155-70.
 75. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:1721–4.
 76. Hamano K. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001; 65:845-7.
 77. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110(suppl II):213-8.
 78. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone

- marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106:1913–8.
79. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108:2212-8.
 80. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113:1287-1294.
 81. Bartunek J, Dimmeler S, Drexler H, et al. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. *Eur Heart J* 2006; 27:1338-40.
 82. Erbs S, Linke A, Adams V, et al. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion, *Circ Res* 2005; 97:576–62.
 83. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1651–8.
 84. Yoon YS, Park JS, Thebuchava T et al. Unexpected severe calcification after transplantation of bone marrow cells in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109: 3154-7

85. Font Gusztáv, Andréka György, Kótai István, Megtörtént az első állatorvosi őssejt-transzplantáció Magyarországon, Kamarai Állatorvos 2007/2 26-29
86. Houghes HC. Swine in cardiovascular research. *Laboratory Animal Science* 1986; 36: 348-350
87. Simon J. Crick, Mary N. Sheppard, Siew Yen Ho, Lior Gebstein, Robert H. Anderson, Anatomy of the pig heart: comparisons with human cardiac structure
Journal of anatomy 1998 105-119
88. A.C. Smith, M.M. Swindle Comparative anatomy and physiology of the pig
Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science 25 11-21
89. F. White, D. Roth, C. Bloor The pig as a model for myocardial ischemia and exercise
Laboratory animal science 1986 August 351-356
90. Gy. Fehér Háziállatok funkcionális anatómiája 1980 167-186
91. Lowe HC, Schwart RS, MacNeill BD, Jang IK, Hayase M, Rogers C, Oesterle SN. The porcine coronary model of in-stent restenosis: current status in the era of drug-eluting stents.
Catheterization and Cardiovascular Interventions 2003; 60: 515-523
92. Andreka G, Vertesaljai M, Szantho G, Font G, Piroth Z, Fontos G, Juhasz ED, Szekely L, Szelid Z, Turner MS, Ashrafian H, Frenneaux MP, Andreka P. Remote ischaemic preconditioning

- protects the heart during acute myocardial infarction in pigs.
Heart 2007; 93: 749-752
93. Baranyai T, Giricz Z, Varga ZV, Koncsos G, Lukovic D, Makkos A, Sarkozy M, Pavo N, Jakab A, Czibalmos C, Vago H, Ruzsa Z, Toth L, Garamvolgyi R, Merkely B, Schultz R, Gyongyosi M, Ferdinandy P. In vivo MRI and ex vivo histological assessment of the cardioprotection induced by ischemic preconditioning, postconditioning and remote conditioning in a closed-chest porcine model of reperfused acute myocardial infarction: importance of microvasculature. *J Trans Med* 2017; 15: 67
94. David Garcia-Dorado, Pierre Theroux, Jamie Elizaga, Manuel Galinanez, Julia Solarez, Mariano Riesgo, Maria J. Gomez, Aurora Garcia-Dorado, Francisco Fernandez Aviles, Myocardial reperfusion in the pig heart model: infarct size and duration of coronary occlusion.
Cardiovascular research, 1987, 21:537-544
95. Andrea Bahr, Nadja Hornaschewitz, Christian Kupatt, Myocardial Infarction in pigs
Cardiac regeneration, Methods and Protocols 43-50
96. Pavo N, Lukovic D, Zlabinger K, Zimba A, Lorant D, Goliash G, Winkler J, Pils D, Auer K, Ankersmit HJ, Giricz Z, Baranyai T, Sarkozy M, Jakab A, Garamvolgyi R, Emmert MY, Hoerstrup SP, Hausenloy DJ, Ferdinandy P, Mauer G, Gyongyosi M. Sequential activation of different pathway

- networks in ischemia-affected and non-affected myocardium, inducing intrinsic remote conditioning to prevent left ventricular remodeling. *Sci Rep* 2017; 7: 43958
97. Voros I, Saghy E, Pohoczky K, Makkos A, Onodi Z, Brenner GB, Baranyai T, Agg B, Varadi B, Kemeny A, Leszek P, Gorbe A, Varga ZV, Giricz Z, Schulz R, Helyes Z, Ferdinandy P. Somatostatin and Its Receptors in Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury and Cardioprotection. *Front Pharmacol* 2021; 12: 663655
 98. Lukovic D, Gugerell A, Zlabinger K, Winkler J, Pavo N, Baranyai T, Giricz Z, Varga ZV, Riesenhuber M, Spannbauer A, Traxler D, Jakab A, Garamvolgyi R, Petnehazy O, Pils D, Toth L, Schultz R, Ferdinandy P, Gyongyosi M. Transcriptional Alterations by Ischaemic Postconditioning in a Pig Infarction Model: Impact on Microvascular Protection. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 344
 99. Lu L, Tian Y, Mou Tiantian, Zhou Y, Tian J, Yun M, Kiss A, PodesserHacker M, Zhang X, Li Xiang. Transient cardioprotective effects of remote ischemic postconditioning on non-reperfused myocardial infarction: longitudinal evaluation study in pigs. *Int J Cardiol* 2022; 355: 37-43
 100. Bloor CM, White FC, Roth DM (1992) The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion. In: Swindle, M (ed)., Swine as models in biomedical research. Iowa State University Press, Iowa, USA, 1992; pp. 163-175

101. Kong Y, Chen JTT, Zeft HJ, Whalen RE, McIntosh HD. Natural history of experimental coronary occlusion of pigs: a serial cineangiographic study. *Am Heart J* 1969; 77: 45-54
102. Suzuki Y, Lyons JK, Yeung AC, Ikeno F. In Vivo Porcine Model Reperfused Myocardial Infarction: In situ Double Staining to Measure Precise Infarct Area/Area at Risk. *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 2006; 71: 100-107
103. Sutton MS, Pfeffer AM, Moya L et al. Cardiovascular death and left ventricular remodeling: two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril. Information from the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) Trial. *Circulation* 1997; 96: 3294-9
104. Verdouw PD, Wolffenbuttel BHR, Van der Giessen WJ. Domestic pigs in the study of myocardial ischemia. *Eu Heart J* 1983; 4: 61-67
105. Schwart LM, Lagranha CJ, Ischemic postconditioning during reperfusion activates Akt and ERK without protecting against lethal myocardial ischemia-reperfusion injury in pigs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H1011-18
106. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Postconditioning: Reduction of reperfusion-induced injury. *Cardiovasc Res* 2006; 70:200–11.
107. Staat P, Rioufol G, Christophe P, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112:2143–8.
108. Cs. Csonka, K., Kupai, G.F. Kocsis, G. Novák, V. Fekete, P. Bencsik, T. Csont, P. Ferdinandy, Measurement of myocardial infarct size in preclinical studies

109. Laskey WK, Staat P, Rioufol G, et al. Letter regarding article by Staat et al, “postconditioning the human heart. *Circulation* 2006; 113: e665.
110. Yellon DM, Hausenloy DJ. Realizing the clinical potential of ischemic preconditioning and postconditioning. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2:568–75.
111. Kerendi F, Kin H, Halkos ME, et al. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res Cardiol* 2005; 100:404–12.
112. Staat P, Rioufol G, Christophe P, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation* 2005; 112:2143–8
113. Kerendi F, Kin H, Halkos ME, et al. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. *Basic Res Cardiol* 2005; 100:404–12.
114. Kleinbongard P, Lieder H, Skyschally A, Heusch G. No sex-related differences in infarct size, no-reflow, and protection by ischemic pre-conditioning in Gottingen minipigs. *Cardiovascular Research* 2023; 119: 561-570

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Vezető beosztású, aktív dolgozóként nem könnyű kutatómunkát végezni, publikálni és PhD fokozatot szerezni. Valahol óhatatlanul meg kell osztanunk magunkat és valamilyen szinten kompromisszumokra is kényszerülünk. Egy ilyen helyzetben mindig a család tőr a legtöbbet, tőlük vesszük el magunkat délutánonként, esténként és éjszakánként, hogy elvégezhessük a feladatunkat úgy, hogy hiányunkat mások ne vegyék észre, a munkánk ne lássa kárát. Ezért most első helyen a családomnak, feleségemnek és gyerekeimnek szeretném megköszönni, hogy kibírták velem az elmúlt sok évet. Nélkülük ez a munka nem készülhetett volna el.

Külön köszönet illeti unokahúgomat, dr. Andréka Lillát, aki értékes tudományos tanácsaival és adminisztratív fegyelmével segítette dolgozatom formába öntését.

Nagy segítségemre volt a győri Xantus János Állatkert minden dolgozója, nekik is köszönöm ezt.

Szeretném őszinte köszönetemet kifejezni a Széchenyi István Egyetem Albert Kázmér Mosonmagyaróvári Karának, leginkább Prof. emer. Dr. Egri Borisz DSc, MRANH és Prof. emer. Dr. Szabó Ferenc DSc., professzoroknak, akik hittek bennem és végig ösztönöztek a dolgozatom elkészítésére.

Végül, de nem utolsó sorban nagyon köszönöm a Győr Megyei Jogú Város Önkormányzata töretlen támogatását, akik folyamatosan mellettem álltak és megértették munkám fontosságát.

