

# Usporedba učinkovitosti udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre pomoću intermitentne ishemije gornjeg ekstremiteta s lokalnim ishemičkim prekondicioniranjem intermitentnim Pringlovim manevro ...

---

**Rakić, Mislav**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:717134>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-03**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**Sveučilište u Splitu**

**Medicinski Fakultet**

**Mislav Rakić**

**Usporedba učinkovitosti udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre pomoću  
intermitentne ishemije gornjeg ekstremiteta s lokalnim ishemičkim  
prekondicioniranjem intermitentnim Pringlovim manevrom kod sprječavanja  
ishemijsko-reperfuzijske ozlijede jetre tijekom resekcija jetre**

**Doktorska disertacija**

**U Splitu, 2019. godine**

Klinička bolnica Dubrava – Zagreb

Klinika za kirurgiju

Zavod za abdominalnu kirurgiju

Odjel za hepatobilijarnu kirurgiju

Voditelj rada: prof.dr.sc. Leonardo Patrlj

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji koja mi je bila velika podrška tijekom izrade istog te svom mentoru prof. Leonardu Patrlju kojem sam zahvalan za sve svoje kirurške i znanstvene vještine.

## SADRŽAJ:

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
1.1. Tumori jetre.....	1
1.2. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda.....	1
1.3. Prekondicioniranje jetre.....	2
1.4. Lokalno ishemijsko prekondicioniranje.....	2
1.5. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje.....	3
<b>2. Ciljevi i hipoteze.....</b>	<b>4</b>
2.1. Glavni cilj.....	4
2.2. Sporedni cilj.....	4
2.3. Hipoteza.....	4
<b>3. Metode i materijali.....</b>	<b>5</b>
3.1. Organizacija istraživanja.....	5
3.2. Etička načela.....	5
3.3. Ustroj istraživanja.....	6
3.4. Odabir bolesnika.....	8
3.5. Uzorak i randomizacija bolesnika.....	8
3.6. Anesteziološki postupak.....	9
3.7. Kirurški postupak.....	10
3.8. Instrumenti korišteni u studiji.....	11
3.9. Ishod istraživanja.....	11
3.10. Statistički postupci.....	12
<b>4. Rezultati.....</b>	<b>13</b>
4.1. Demografske karakteristike pacijenata.....	13
4.2. Predoperacijski podaci.....	14
4.3. Intraoperacijski podaci.....	14
4.4 Postoperacijski podaci.....	15

4.5 Podaci doppler UZV protoka.....	18
4.6. Rezultati patohistološke analize.....	20
<b>5. Rasprava.....</b>	<b>22</b>
5.1. Epidemiologija i liječenje metastaza kolorektalnog karcinoma u jetru.....	22
5.2. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda.....	23
5.3. Prekondicioniranje jetre.....	23
5.4. Lokalno ishemijsko prekondicioniranje (LIPC).....	24
5.5. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (UIPC).....	24
5.6. Rasprava rezultata.....	25
5.7. Ograničenja studije.....	26
<b>6. Zaključak.....</b>	<b>26</b>
<b>7. Sažetak na hrvatskom jeziku.....</b>	<b>27</b>
<b>8. Sažetak na engleskom jeziku (Abstract).....</b>	<b>28</b>
<b>9. Popis literature.....</b>	<b>29</b>
<b>10. Životopis.....</b>	<b>38</b>
<b>11. Prilozi.....</b>	<b>42</b>

**Popis oznaka i kratica:**

Acth – acetilkolinesteraza

Alb – albumin

ALT – alanin aminotransveraza

APTV – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

ASA – American Society of Anaesthesiologists

AST – aspartat aminotransveraza

Bil – bilirubin

CRC – kolorektalni karcinom (colorectal cancer)

CVP – centralni venski tlak

E – eritrocit

GGT – gama glutamiltransveraza

Hct – hematokrit

Hgb – hemoglobin

INR - international normalized ratio

IR – ishemijsko-reperfuzijska

KS – kontrolna skupina

L – leukocit

LIPC – lokalno ishemijsko prekondicioniranje

MAP – srednji arterijski tlak (mean arterial pressure)

PV – protrombinsko vrijeme

SP - serumski protein

UIPC – udaljeno ishemijsko prekondicioniranje

UZV – ultrazvuk

# 1. UVOD

## 1.1 Tumori jetre

Jedni su od najčešćih tumora koji se javljaju kod čovjeka (1). Mogu biti dobroćudni ili zloćudni. Zloćudni tumori jetre mogu biti primarni ili sekundarni (metastaze drugih zloćudnih tumora). Kolorektalni karcinom je treći po učestalosti od svih karcinoma koji se javljaju kod ljudi, s oko 1,4 milijuna novo dijagnosticiranih slučajeva godišnje u svijetu (2); te je četvrti tumor po smrtnosti (3), odmah iza karcinoma pluća, jetre i želuca (4). Jetra je najčešći organ u koji metastazira kolorektalni karcinom (5). Približno 70% bolesnika s kolorektalnim karcinomom razvije metastaze u jetri tijekom svoje bolesti (6).

Kirurško odstranjenje (resekcija jetre) s resekcijskim rubovima bez tumora (RO resekcija) najučinkovitiji je oblik liječenja zloćudnih tumora jetre (7) i jedini način liječenja koji pruža mogućnost izlječenja i duljeg preživljenja (8). Upravo iz tog razloga u zadnjih nekoliko desetljeća svjedočimo sve većem broju kirurških resekcija jetre što je dovelo do izrazitog razvoja kirurgije jetre.

Kirurgija jetre je segment abdominalne kirurgije koji je doživio najveću progresiju posljednjih tridesetak godina. Na jetri se vrše sve opsežnije resekcije što na kušnju stavlja njen regeneracijski potencijal poznat još iz vremena Prometeja (9).

Resekcije jetre su prvi izbor u liječenju primarnih i sekundarnih tumora jetre (7-9). Najveći problem kirurgu tijekom resekcija jetre je krvarenje. Kako bi se ono reduciralo tijekom jetrenih resekcija koristi se okluzija vaskularnih struktura hepatoduodenalnog ligamenta (hepatalne arterije te portalne vene), tzv. Pringlov manevar te niski centralni venski tlak (10-11).

## 1.2 Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda

Period jetrene ishemije i reperfuzije povezan je s ishemijsko-reperfuzijskom (IR) ozljedom jetre. Nakon velikih jetrenih resekcija rađenih u totalnoj ili djelomičnoj vaskularnoj okluziji IR ozljeda ostatnog dijela jetre može biti ozbiljna komplikacija te voditi do postoperativnog zatajenja ostatnog dijela jetre s posljedičnim morbiditetom i mortalitetom (12).

Ishemija i reperfuzija jetre tijekom resekcija rezultira smanjenom perfuzijom kroz jetru što dovodi do aktivacije kaskade upalnog odgovora koji obuhvaća lokalnu adheziju leukocita na endotelne stanice te migraciju u sinusoidne i posljedično oštećenje jetrenih stanica. Ozbiljnost IR ozljede korelira s duljinom ishemije (13).

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda jetre ima ranu i kasnu fazu. U ranoj fazi Kupfferove stanice su najodgovornije za aktivaciju upalnog odgovora, otpuštanje slobodnih radikala i citokina te endotelnu ozljedu. U kasnoj fazi IR ozlijede jetre neutrofili otpuštaju slobodne radikale i uzrokuju oštećenje hepatocita (14).

### **1.3. Prekondicioniranje jetre**

Zaštitna i blagotvorna uloga prekondicioniranja u kirurgiji jetre je dobro poznata. Mnoga klinička istraživanja te istraživanja provedena na životinjskim modelima pokazale su da prekondicioniranje može smanjiti ili prevenirati IR ozljedu jetre, pogotovo nakon duljih ishemijskih perioda (15).

Danas je poznato više tehnika prekondicioniranja jetre, bilo da se radi o farmakološkom prekondicioniranju Sevoranom (16) ili o mehaničkom (ishemičkom) prekondicioniranju, koje može biti lokalno (okluzija hepatoduodenalnog ligamenta - Pringlov manevar) ili udaljeno (prolazna ishemija ekstremiteta) (14-17). Nijedna od ovih metoda nije se nametnula kao „zlatni standard“ u prekondicioniranju jetrenog parenhima prije resekcije.

U ovom istraživanju usporedili smo dva mehanička (ishemijska) oblika jetrenog prekondicioniranja:

- a) Lokalno, čiji je učinak već znanstveno dokazano (18-19),
- b) Udaljeno, koje je ispitano u kardijalnoj i spinalnoj kirurgiji, te na jetri na životinjskom modelu, dok učinak na jetru još nije potvrđen na ljudima (20-21).

### **1.4. Lokalno ishemijsko prekondicioniranje (LIPC)**

LIPC je proces tijekom kojeg kratki period ishemije jetre nakon kojeg slijedi period reperfuzije prije prolongirane okluzije i ishemije čini jetru otpornijom na IR ozljedu (22-23). LIPC je dokazano učinkovito na različitim tkivima iako točan mehanizam djelovanja nije poznat. Dokazano je da LIPC smanjuje oslobađanje citokina te potiče proizvodnju



adenozina koji ima hepatoprotektivni učinak kao i proizvodnju staničnog ATP-a što potiče jetrenu regeneraciju. LIPC također smanjuje procese apoptoze u jetri (24).

### **1.5. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (UIPC)**

UIPC povećava otpornost jetre na produljeni period ishemije, kratkim periodom ishemije i reperfuzije udaljenog organa (25-26). Dosadašnja istraživanja provedena na životinjskom modelu su pokazala da UIPC povećava perfuziju parenhima jetre i oksigenaciju što smanjuje ozljedu jetrenog parenhima u ranoj fazi IR ozljede (27). Protektivni učinak UIPC postiže se interakcijom neuralnih, humoralnih i sistemskih puteva. Ova interakcija dovodi do inhibicije lokalnog upalnog odgovora i aktivacije više hepatoprotektivnih staničnih kaskada (25-27).

Slična istraživanja nismo pronašli pretraživajući recentnu literaturu (PubMed, Medline, keywords: *ischemic liver preconditioning, Sevorane, liver resection, remote ischemic preconditioning*).

Uzevši u obzir ove činjenice iz dostupne nam publicirane literature odlučili smo provesti randomizirano kontrolirano istraživanje koje će vrednovanjem sintetske funkcije jetrenog ostatka dati znanstveno utemeljen odgovor na pitanje učinkovitosti UIPC i LIPC u prevenciji IR ozljede jetre tijekom jetrenih resekcija.

## **2. CILJEVI I HIPOTEZA**

### **2.1 Glavni cilj**

Glavni cilj ovog istraživanja bio je ispitati postoji li učinak UIPC na protekciju jetre od IR ozljede koja se događa nakon jatrogene ishemije jetre (Pringlov manevar) za vrijeme resekcije jetre.

U ovom randomiziranom prospektivnom kliničkom istraživanju željeli smo ispitati hepatoprotektivni učinak UIPC jetre (intermitentnom ishemijom desne nadlaktice), te ga usporediti s hepatoprotektivnim učinkom LIPC jetre (intermitentnim klemanjem hepatoduodenalnog ligamenta – Pringlov manevar) kod resekcija jetre.

Naime pregledom recentne literature nismo naišli ni na jedno kliničko istraživanje provedeno na ljudima koja uspoređuje ove dvije metode ishemijskog jetrenog prekondicioniranja. Stoga za sada ne postoje znanstveno utemeljene činjenice koje bi omogućile kliničku primjenu UIPC jetre ili dale prednost UIPC nad LIPC intermitentnim Pringlovim manevrom kod resekcija jetre.

### **2.2 Sporedni cilj**

Sporedni cilj ovog istraživanja bio je usporediti učinkovitosti u protekciji jetrenog parenhima od IR ozljede nakon protražiranog kontinuiranog Pringlovog manevra tijekom resekcije jetre između dvije ishemijske tehnike prekondicioniranja jetre, UIPC te LIPC.

### **2.3 Hipoteza**

Hipoteza ovog istraživanja je da UIPC jetre štiti jetru od IR ozljede tijekom resekcija jetre te da je taj učinak jednako učinkovit u preveniranju IR ozljede jetre tijekom resekcija iste kao i učinak LIPC.

To bi značilo da UIPC ima mjesta za kliničku primjenu, pogotovo kod sinkronih operacija kolorektalnog karcinoma i resekcija jetrenih metastaza kolorektalnog karcinoma, gdje se u jednom aktu radi resekcija jetre i crijeva, a za ishod liječenja je bitno da mezenterijska kongestija traje što kraće.

### **3. METODE I MATERIJALI**

#### **3.1. Organizacija istraživanja**

Ovo randomizirano kontrolirano prospektivno istraživanje pod nazivom: „Učinkovitost udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre pomoću intermitentne ishemije gornjeg ekstremiteta s lokalnim ishemičkim prekondicioniranjem intermitentnim Pringlovim manevrom kod sprječavanja ishemijsko-reperfuzijske ozlijede jetre tijekom resekcija jetre“ je dizajnirano prema smjernicama i standardima za izradu i provođenje randomiziranih istraživanja s usporednim skupinama ispitanika CONSORT 2010 (28-29).

Istraživanje je provedeno na Odjelu za hepatobilijarnu kirurgiju Zavoda za abdominalnu kirurgiju Klinike za kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu u razdoblju od siječnja 2016. godine do lipnja 2018. godine.

Voditelj ovog istraživanja je doktorant Mislav Rakić, dr.med. U istraživanju sudjeluju i ostali djelatnici Odijela za hepatobilijarnu kirurgiju Zavoda za abdominalnu kirurgiju. Sva laboratorijska mjerenja rađena su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava.

Istraživanje je registrirano u svjetskoj bazi kliničkih istraživanja Clinical Trials (ClinicalTrials.gov. Identifier: NCT03130920). U ovom istraživanju smo koristili i analizirali podatke koje smo sami prikupili te ih uspoređivali s onima iz dostupne nam literature.

#### **3.2. Etička načela**

U ovom randomiziranom kontroliranom istraživanju su u potpunosti poštovana etička načela. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničke bolnice Dubrava (broj 25022016). Svaki bolesnik uključen u istraživanje je nakon detaljnog usmenog upoznavanja sa istraživanjem potpisao informirani pismeni pristanak za sudjelovanje (Prilog 1).

### 3.3. Ustroj istraživanja

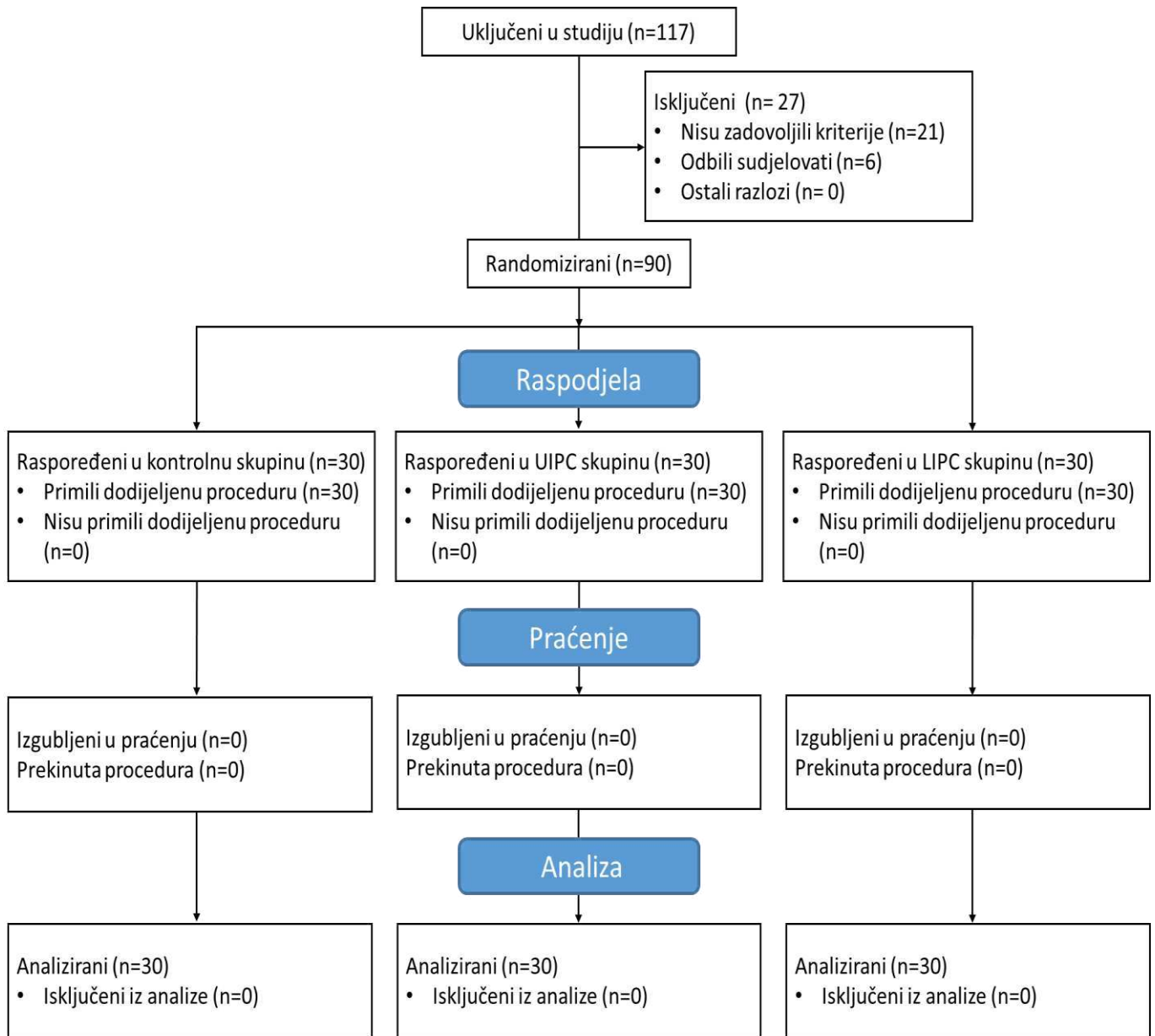
Nakon što bi se utvrdilo da bolesnik ispunjava protokolom određene uključene kriterije za sudjelovanje u istraživanju (navedene u poglavlju 3.4) te da pristaje na sudjelovanje, a nakon potpisivanja informativnog pristanka provodila bi se randomizacija pomoću računala u tri ranije navedene skupine, pod uvjetom da kod bolesnika nije bilo prisutnosti isključnih kriterija (navedeni u poglavlju 3.4). U slučaju postojanja isključnih kriterija, bolesnik bi se isključio iz istraživanja prije postupka randomizacije (slika 1).

Predoperativno su se vršili laboratorijski testovi (navedeni u poglavlju 3.8) te se kod bolesnika provodila standardna predoperativna priprema (pregled anesteziologa) za operativni zahvat resekcije jetre. U skladu s randomizacijom, tijekom zahvata (prije resekcije) bolesnici su bili podvrgnut jednoj od tehnika ishemijskog prekondicioniranja, osim bolesnika randomiziranih u KS koji nisu prekondicionirani.

Tijekom operacije, neposredno prije i neposredno nakon prekondicioniranja bolesnicima se mjerila brzina protoka kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu doppler UZV-om, osim u KS u kojoj bolesnici nisu prekondicionirani.

Laboratorijski nalazi su ponovljeni prvog, trećeg i sedmog postoperativnog dana. Postoperativno se provodila patohistološka evaluacija preparata kojom se po Rodriguezu klasificiralo oštećenje jetrenog parenhima u preparatu (30).

Slika 1: Dijagram toka istraživanja



### **3.4. Odabir bolesnika**

U ovom randomiziranom kontroliranom istraživanju koje je trajalo od siječnja 2016. godine do lipnja 2018. godine uvršteno je 90 bolesnika koji su podvrgnuti resekcijama jetre na Odijelu za hepatobilijarnu kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava zbog metastaza kolorektalnog karcinoma u jetru. Jetreni sekundarizmi su utvrđeni predoperativnom radiološkom obradom (MSCT, MR, UZ ili PET-CT). Uvjet za sudjelovanje u istraživanju je taj da se tijekom jetrene resekcije koristila okluzija hepatodudoenalnog ligamenta (Pringlov manevar).

Isključni kriteriji su postojanje kronične nemaligne bolesti jetre, kronične bolesti srca, pluća ili bubrega te predoperativno povišene jetrene transaminaze ili bilirubin odnosno predoperativno oštećena sintetska funkcija jetre kao i ASA (American Society of Anaesthesiologists) klasifikacija veća od III.

### **3.5. Uzorak i randomizacija bolesnika**

Bolesnici koji su ispunili sve uvijete da budu uključeni u istraživanje, njih 90 je računalnom randomizacijom podijeljeno u tri skupine tako da svaka skupina sadrži 30 bolesnika:

1. skupina tretirana udaljenim ishemičkim prekondicioniranjem (UIPC)
2. skupina tretirana lokalnim ishemičkim prekondicioniranjem (LIPC)
3. skupina ne tretirana prekondicioniranjem – kontrolna skupina (KS)

### 3.6. Anesteziološki postupak

Svi bolesnici su podvrgnuti standardiziranom anesteziološkom protokolu. Bolesnici su predoperativno pregledani od strane anesteziologa te klasificirani po uputama Američkog društva za anesteziiju u ASA skupine (tablica 1.).

Tablica 1: Skupine bolesnika klasificirane prema smjernicama Američkog društva za anesteziiju

ASA status	Opis bolesnika
I	Normalan zdrav bolesnik (bez organskih, fizioloških, biokemijskih ili psihijatrijskih bolesti)
II	Blaga sistemska bolest (bez funkcionalnih ograničenja, vitalni organi nisu zahvaćeni)
III	Teška sistemska bolest (funkcionalna ograničenja, život nije izravno ugrožen)
IV	Teška sistemska bolest koja ugrožava život (značajna funkcionalna ograničenja)
V	Moribundan bolesnik (ne očekuje se 24 satno preživljenje bez operacije)
VI	Utvrđena moždana smrt (bolesnik je predviđen za donora organa)

Večer prije operacije bolesnici su primali antitrombotsku profilaksu niskomolekularnim heparinom u dozi ovisnoj o tjelesnoj masi bolesnika. Trideset minuta prije anesteziološke indukcije svi bolesnici bi dobili 5 mg Midazolama. Prilikom indukcije u anesteziiju bolesnici su dobivali: Midazolam 5 mg, Fentanyl 2 µg/kg, Thiopental 3-5 µg/kg, Norcuron 0.1 µg/kg. Anestezija je tijekom operativnog zahvata održavana Sevofluranom. Hemodinamika je praćena elektrokardiografskom analizom prekordijalnih odvoda V2-V5 te kontinuiranim mjerenjem arterijskog i centralnog venskog tlaka (CVP). Anesteziološka strategija je bila restriktivna volumenom tako da se CVP nastojao održati oko 5 mmHg, a srednji arterijski tlak (MAP) oko 65 mmHg. Transfuzija koncentrata eritrocita bila je ordinirana kada bi hemoglobin pao ispod 85 g/L, a svježe smrznuta plazma kada bi INR (international normalized ratio) porastao

preko 1.6. Ako bi MAP pao ispod 60 mmHg bolesnici su dobivali norepinephrin. Nakon operacije bolesnici bi bili smješteni u jedinici intenzivne njege na minimalno 24 sata.

### 3.7. Kirurški postupak

Sve operacije izvršio je isti tim iskusnih hepatobilijarnih kirurga (L.P. i M.R.) po istom protokolu. Randomizirani sudionici istraživanja su podvrgnuti operativnom zahvatu resekcije jetre u parcijalnoj vaskularnoj jetrenoj okluziji (Pringlov manevar). Nakon indukcije u opću endotrahealnu anesteziju, a prije pripreme operacijskog polja doppler UZV-om bi izmjerili protoke kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu. Zatim se pristupalo u trbušnu šupljinu desnom subkostalnom „J“ laparotomijom te bi se mobilizirala jetra, nakon čega je slijedio pregled jetre UZV – om (31). Vrstu i opseg postupka (jetrene resekcije) determinirao je broj, veličine i lokalizacija jetrenih metastaza.

S obzirom na ishod randomizacije prije početka resekcije provodilo se ishemijsko prekondicioniranje:

- 1) udaljeno kod UIPC skupine (tri ciklusa ishemije desne nadlaktice provedene pneumatskom manšetom na desnoj nadlaktici napuhnutom na 200 mmHg praćene s tri ciklusa reperfuzije; svaki ciklus je trajanja 5 minuta, ukupno 30 minuta prekondicioniranja – slika 2) (32-34)
- 2) lokalno kod LIPC skupine (15 minuta okluzije hepatoduodenalnog ligamenta praćene s 10 minuta reperfuzije, ukupno 25 minuta prekondicioniranja – slika 3) (35-36)
- 3) bez prekondicioniranja kod kontrolne skupine (KS).

Nakon provedenog prekondicioniranja (osim u kontrolnoj skupini) ponovio bi se doppler UZV hepatalne arterije i portalne vene te bi se pristupalo parcijalnoj vaskularnoj okluziji jetre klemanjem hepatoduodenalnog ligamenta (Pringlov manevar) i resekciji jetre. Jetrena resekcija je rađena „blunt clamping“ tehnikom pomoću Ligasure (Covidien – USA) aparata uz dodatno postavljanje klipsa na strukture segmentalnih pedikla (37). Nakon jetrene resekcije i adekvatne hemostaze plasirali bi dren pod jetru, a laparotomijska rana se zatvarala po slojevima.



### 3.8. Instrumenti korišteni u istraživanju

Instrumenti korišteni u ovom istraživanju dijele se na intraoperativno korištene instrumente te instrumente korištene izvan operacijske dvorane.

Tijekom operacije korišteni su: klasični set za laparotomiju (skalpeli, pincete, jetrene i laparotomijske kuke, škare, titanske klipse i klipaplikatori), abdominalni retraktor (Thompson), energetska generator (Triada-Covidien, USA), Ligasure (Covidien, USA), aspirator, doppler UZV (Simens) (slika 4.).

Instrumenti korišteni izvan operacijske dvorane su:

- laboratorijski testovi (aspartat aminotransferaze – AST, alanin aminotransferaze - ALT, gamaglutamil aminotransferaze – GGT, aktivnog parcijalnog tromboplastinskog vremena – APTV, protrombinskog vremena - PV, albumina – Alb, serumskih proteina – SP, acetilkolinesteraze – Acth, bilirubina – Bil, leukocita – L, eritrocita – E, hemoglobina , hematokrita – Hct, Ureje – U, Kreatinina – K)
- postoperativni patohistološki pregled preparata po Rodriguezu kojim se analizirala i u četiri stupnja vrednovala mikrovaskularna i makrovaskularna steatoza, sinusoidalna kongestija i dilatacija u tri stupnja, leukocitna infiltracija u tri stupnja te fokalna, konfluirajuća ili zonalna nekroza također u tri stupnja (30).
- izmjerene vrijednosti protoka kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu doppler uzv - om.

### 3.9. Ishod istraživanja

Je razlika u sintetskoj funkciji jetre nakon resekcije iste između skupina prekondicioniranih udaljenom ili lokalnom ishemijskom tehnikom te kontrolne skupine kod koje nije rađeno prekondicioniranje.

Sintetska funkcija jetre se procjenjivala na osnovu mjerenih vrijednosti laboratorijskih parametara: aspartat aminotransferaze – AST, alanin aminotransferaze - ALT, gamaglutami aminotransferaze – GGT, aktivnog parcijalnog tromboplastinskog vremena – APTV, protrombinskog vremena - PV, albumina – Alb, serumskih proteina – SP, acetilkolinesteraze – Acth, bilirubina – Bil.

U istraživanju su se još mjerile laboratorijske vrijednosti: leukocita – L, eritrocita – E, hemoglobina, hematokrita – Hct, Ureje – U, Kreatinina – K, te duljina trajanja Pringlovog manevra, duljina trajanja operacije, gubitak krvi, ordinirana transfuzija, tip resekcije.

Sva laboratorijska mjerenja su vršena prije operacije te prvi, treći i sedmi dan nakon operacije.

### **3.10. Statistički postupci**

Rezultati se temelje na prethodnoj analizi homogenosti. Iako je uzorak relativno malen, distribucija rezultata je u normalnom rasponu. Prema Kolmogorov-Smirnov i Shapiro Wilks testovima pretpostavka normalnosti distribucije je potvrđena u ovom uzorku te se mogu primjenjivati parametrijski testovi.

ANOVA i Tukey HSD test su korišteni kako bi se potvrdila ili odbacila postojanost razlika između tri skupine bolesnika, dvije skupine podvrgnute ishemičnom prekondicioniranju i KS, u svim točkama mjerenja (prije operacije, 1., 3., i 7. dan nakon operacije) za vrijednosti: aspartat aminotransferaze – AST, alanin aminotransferaze - ALT, gamaglutamil aminotransferaze – GGT, aktivnog parcijalnog tromboplastinskog vremena – APTV, protrombinskog vremena - PV, albumina – Alb, serumskih proteina – SP, acetilkolinesteraze – Acth, bilirubina – Bil, leukocita – L, eritrocita – E, hemoglobina, hematokrita – Hct, Ureje – U, Kreatinina – K.

Razlike među skupinama podvrgnutim ishemičnom prekondicioniranju za vrijednosti doplerskih protoka kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu analizirane su korištenjem sumarnog t-testa nezavisnih uzoraka.

T-test nezavisnih uzoraka, korišten je u pronalasku razlika između dviju skupina bolesnika podvrgnutih ishemičnom prekondicioniranju za vrijednosti histološke analize vrednovane po Rodriguezu (steatoza, sinusoidalna kongestija i dilatacija, leukocitna infiltracija, nekroza) (30).

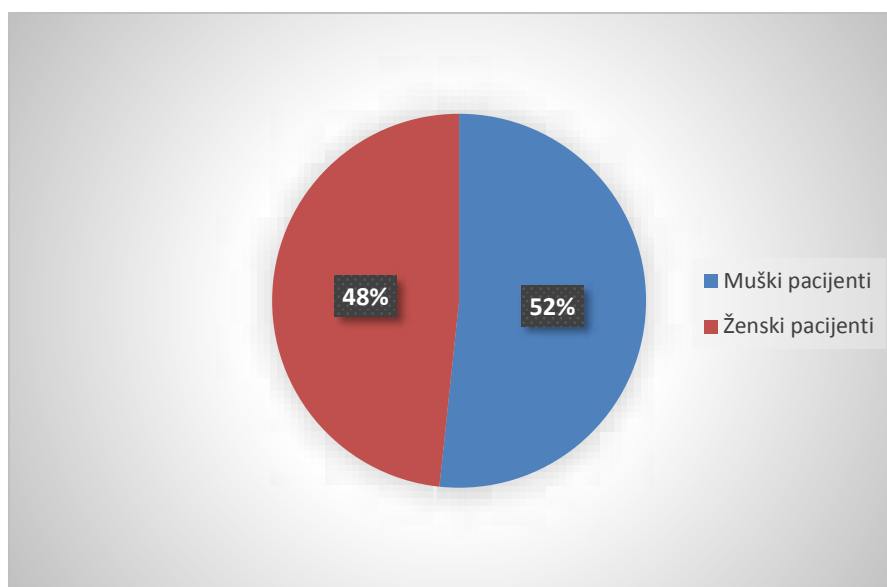
Svi navedeni statistički testovi provedeni su uz razinu statističke značajnosti od  $p < ,05$ . Program korišten za statističku analizu je IBM SPSS 21.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Demografske karakteristike bolesnika

U ovom randomiziranom kontroliranom istraživanju uključeno je 117 bolesnika sa metakronim metastazama kolorektalnog karcinoma na jetri koji su operirani na Odijelu za hepatobilijarnu kirurgiju Kliničke bolnice Dubrava u periodu od siječnja 2016. godine do lipnja 2018. godine. Nakon daljnje provjere i obrade iz daljnjeg sudjelovanja u istraživanju isključeno je 27 bolesnika (21 bolesnik je isključen iz istraživanja poštujući isključne kriterije, a 6 bolesnika je odbilo sudjelovati u istraživanju). Sudjelovalo je 52,2 % muških bolesnika (N=48) i 45,8% ženskih bolesnika (N=42), kao što prikazuje slika 2.

Slika 2: Distribucija bolesnika po spolu



Prosječna životna dob bolesnika iznosila je 64.9 godina s rasponom od 39 do 80 godina. Bolesnici su bili prosječne visine 170,4 cm (153 – 196), s prosječnom težinom koja je iznosila 77 kg (50 – 113) te prosječnim indexom tjelesne mase (BMI) 26,5 kg/cm<sup>2</sup> (18-37,50). Jetrene metastaze su se prosječno javljale 32 mjeseca nakon primarne operacije kolorektalnog karcinoma (1-72) (tablica 2).

Tablica 2: Demografski podaci bolesnika uključenih u istraživanje

	Prosječna vrijednost	Minimum	Maksimum
<b>Dob</b> (godine)	64,9	39	80
<b>Visina</b> (cm)	170,4	153	196
<b>Težina</b> (kg)	77	50	113
<b>BMI</b> (kg/cm <sup>2</sup> )	26,5	18	37,5
<b>Vrijeme pojave metastaza nakon operacije CRC</b> (mjeseci)	32	1	72

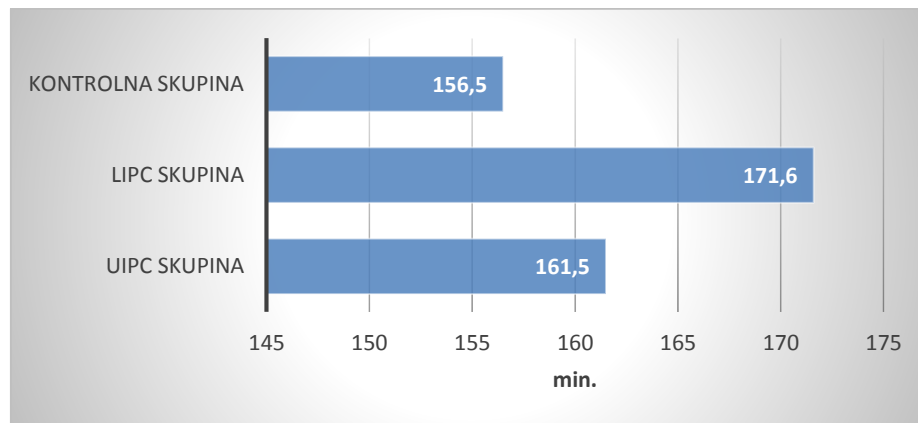
#### 4.2. Predoperacijski podaci

U predoperacijskim mjerenjima vrijednosti AST, ALT, GGT, PV, APTV, leukocit, eritrocit, Hgb, Hct, urea, kreatinin, serumski protein, albumin, acetilkolineteraza, bilirubin nije bilo statistički značajne razlike između skupina bolesnika. Svih 90 randomiziranih bolesnika bilo je dostupno u svim točkama mjerenja. Značajne razlike u mjerenjima prikazane su vrijednostima  $P > ,05$  u poglavljima 4.4.-4.6.

#### 4.3. Intraoperacijski podaci

Prosječno trajanje operacije iznosilo je 163,2 minute, s tim da je su operacije najkraće trajale u KS (prosjeak 156,5 min.), zatim u UIPC skupini (prosjeak 161,5 min.), a najdulje prosječno trajanje operacija zabilježeno je u LIPC skupini (prosjeak 171,6 min.) (slika 3).

Slika 3: Prosječno trajanje operacije po skupinama



Pringlov manevar se koristio kod svih bolesnika s prosječnim trajanjem od 19 minuta (11-32 minuta). Prosječan procijenjeni intraoperacijski gubitak krvi iznosio je 400 ml (100 ml – 730 ml). Prosječno trajanje hospitalizacije iznosilo je 11 dana (6-21) (tablica 3).

Tablica 3: Intraoperacijski podaci

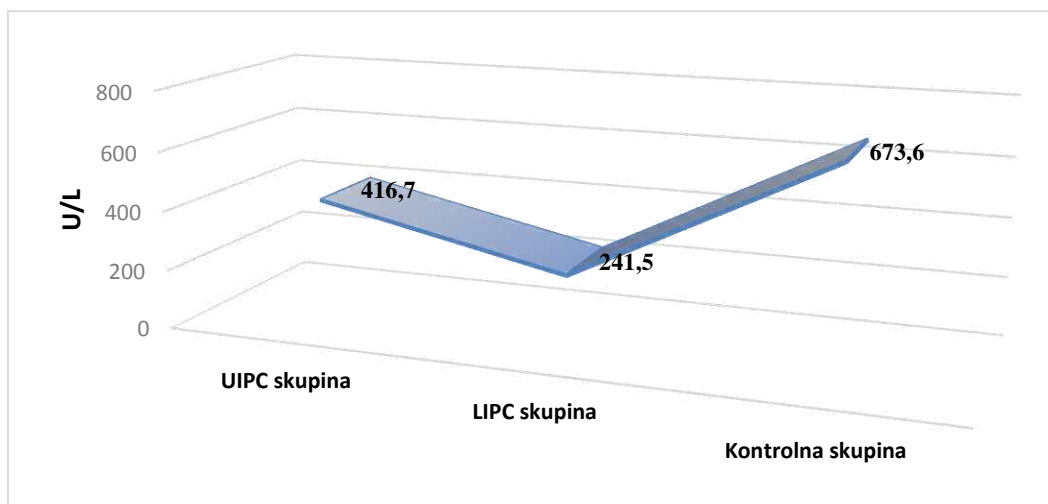
	Prosječna vrijednost	Minimum	Maksimum
Trajanje Pringlovog manevra (min.)	19	11	32
Intraoperacijski gubitak krvi (ml)	400	100	730
Trajanje hospitalizacije (dana)	11	6	21

#### 4.4. Postoperacijski podaci

Postoperacijska mjerenja rađena su prvog, trećeg i sedmog postoperacijskog dana. Prvog postoperacijskog dana pokazala se značajna razlika između skupina bolesnika u rezultatima mjerenja vrijednosti AST (P= ,000) i ALT (P=,000).

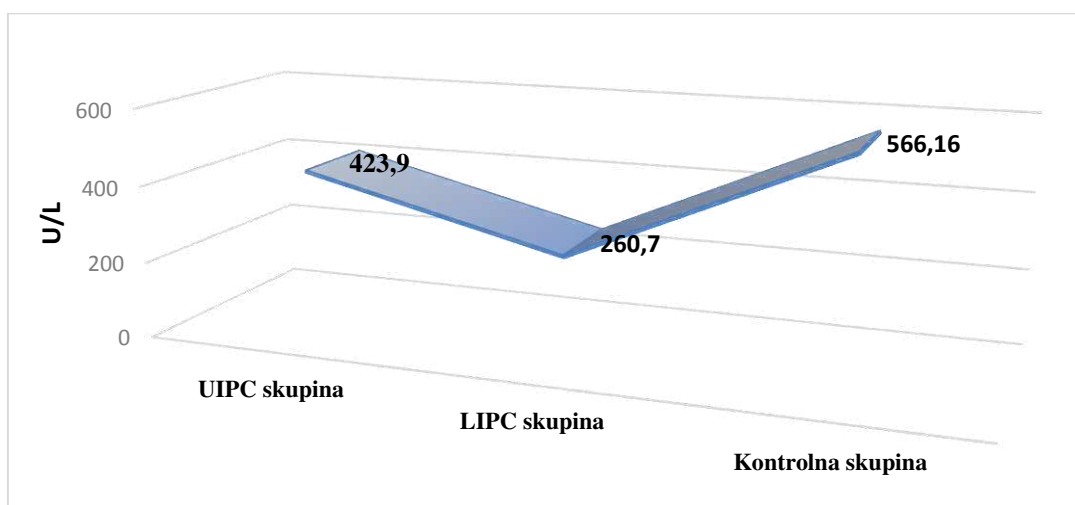
Najniže vrijednosti za AST prvog postoperativnog dana izmjerene su kod bolesnika u LIPC skupini, a najviše u KS (slika 4). Uvažavajući Tukey HSD test razlike su značajne između sve tri skupine. UIPC/LIPC (P=,024), UIPC/KS (P=,000), LIPC/CG (P=,000).

Slika 4: Vrijednosti AST-a prvog postoperativnog dana



Najniže vrijednosti za ALT prvog postoperativnog dana izmjerene su kod bolesnika u LIPC skupini, a najviše u KS (slika 5). Uvažavajući Tukey HSD test razlike su značajne između sve tri skupine. UIPC/LIPC (P=,018), UIPC/KS (P=,046), LIPC/KS (P=,000).

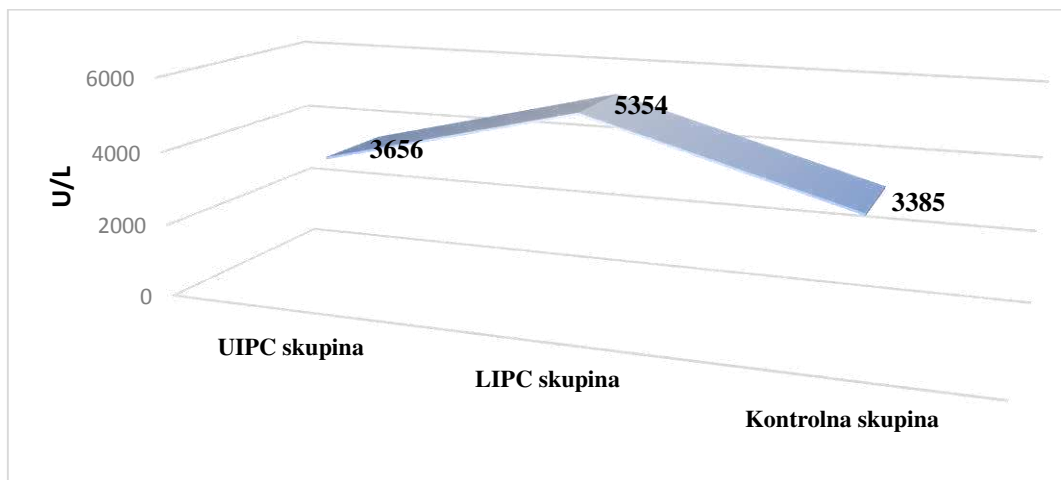
Slika 5: Vrijednosti ALT-a prvog postoperativnog dana



Sedmog postoperacijskog dana pokazala se značajna razlika između skupina bolesnika u rezultatima mjerenja vrijednosti acetilkolinesteraze ( $P=,000$ ) i bilirubina ( $P=,027$ ).

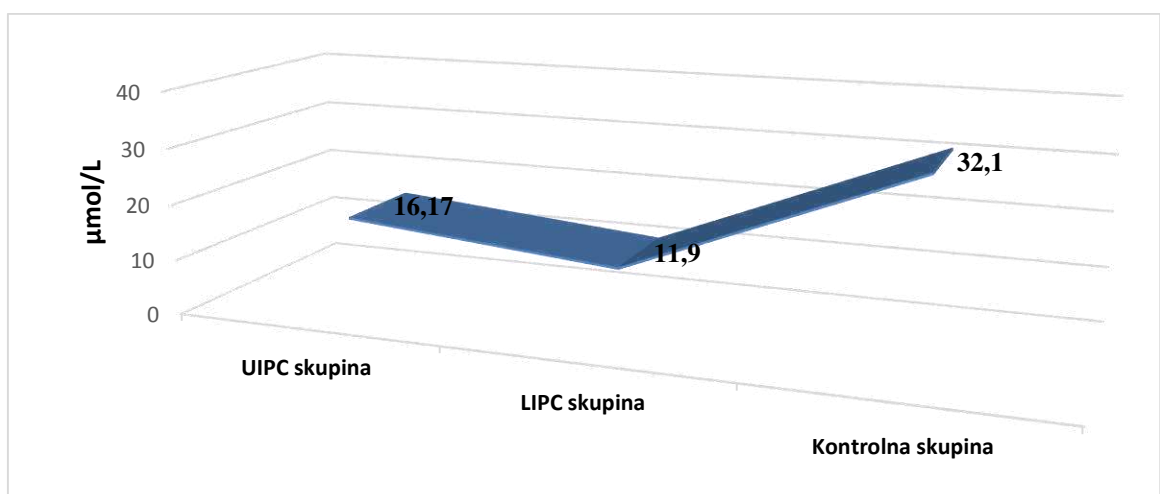
Najviše vrijednosti acetilkolinesteraze sedmog postoperativnog dana izmjerene su kod bolesnika u LIPC skupini, a najniže u KS (slika 6). Uvažavajući Tukey HSD test razlike su značajne između sve tri skupine. UIPC/LIPC ( $P=,024$ ), UIPC/KS ( $P=,000$ ), LIPC/KS ( $P=,000$ ).

Slika 6: Vrijednosti acetilkolinesteraze sedmog postoperativnog dana



Najviše vrijednosti za bilirubin sedmog postoperativnog dana izmjerene su kod bolesnika u KS, a najniže u LIPC skupini (slika 7). Uvažavajući Tukey HSD test razlike su značajne između skupine LIPC i UIPC te LIPC i KS, dok nema značajne razlike između UIPC i KS; UIPC/LIPC ( $P=,023$ ), LIPC/KS ( $P=,004$ ), UIPC/KS ( $P=,795$ ).

Slika 7: Vrijednosti bilirubina sedmog postoperativnog dana



Sve vrijednosti postoperativnih podataka sa značajnim statističkim razlikama ( $P>,05$ ) su prikazane u tablici 4.

Tablica 4: Vrijednosti statistički značajnih razlika u postoperativnim podacima

	AST			ALT			Acth			Bilirubin		
	Prvi postoperativni dan			Prvi postoperativni dan			Sedmi postoperativni dan			Sedmi postoperativni dan		
Skupine	U/L			U/L			U/L			μmol/l		
UIPC	416,7			423,9			3656			16,17		
LIPC	241,5			266,7			5354			11,9		
KS	673,6			566,16			3385			32,1		
P	,000			,000			,000			0,027		
Skupine	LIPC/ UIPC	UIPC/ KS	KS/ LIPC	LIPC/ UIPC	UIPC/ KS	KS/ LIPC	LIPC/ UIPC	UIPC/ KS	KS/ LIPC	LIPC/ UIPC	UIPC/ KS	KS/ LIPC
P	,024	,000	,000	,018	,046	,000	,024	,000	,000	,023	<b>,795</b>	,004

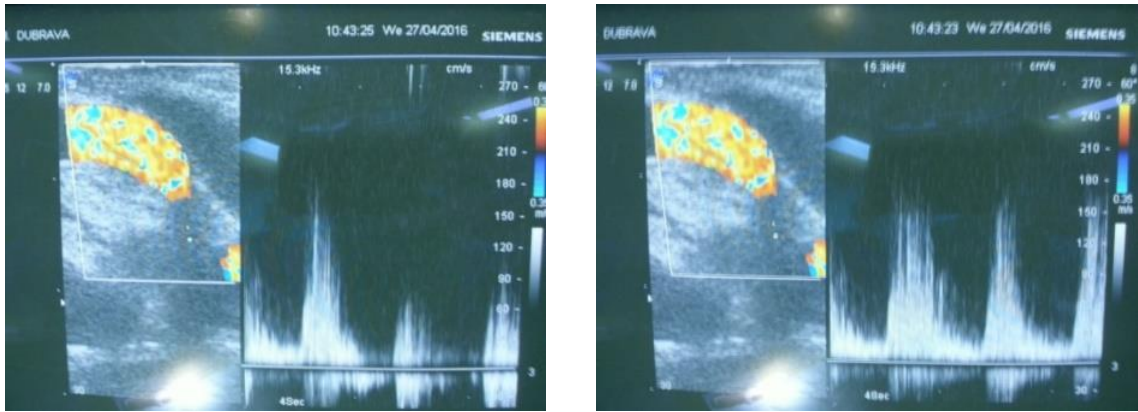
#### 4.5. Podaci doppler UZ protoka

Svim prekonkicioniranim bolesnicima (UIPC skupina i LIPC skupina) se tijekom operacije doppler UZ – om mjerio protok kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu prije i poslije prekonkicioniranja. Prije prekonkicioniranja nisu nađene razlike u vrijednostima doppler UZ protoka između skupina.

Statistički značajne razlike između UIPC i LIPC skupine su pronadene nakon prekonkicioniranja u vrijednostima protoka kroz hepatalnu arteriju ( $P=,028$ ). Značajno više srednje vrijednosti doppler UZ protoka kroz hepatalnu arteriju nakon ishemičkog prekonkicioniranja izmjerene su u LIPC skupini (167 cm/s, SD 22,43), naspram srednjih vrijednosti u UIPC skupini (141 cm/s, SD 25,2) (slike 8 i 9).



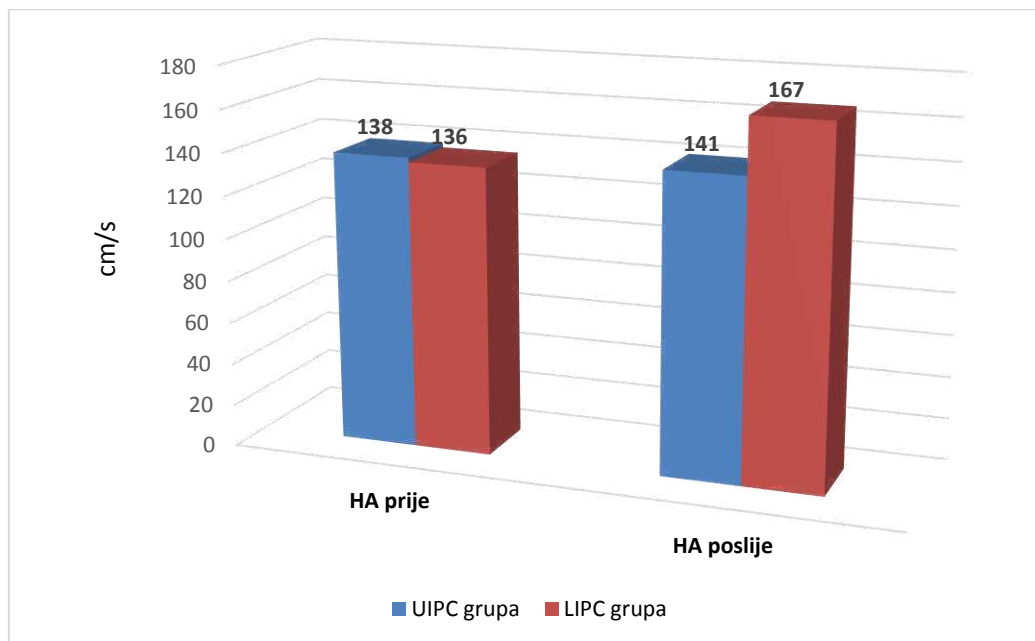
Slika 8: Doppler UZ protoka kroz hepatalnu arteriju prije LIPC (a) i poslje LIPC (b)



*a*

*b*

Slika 9: Vrijednosti izmjerenih protok kroz hepatalnu arteriju prije i poslje prekondicioniranja



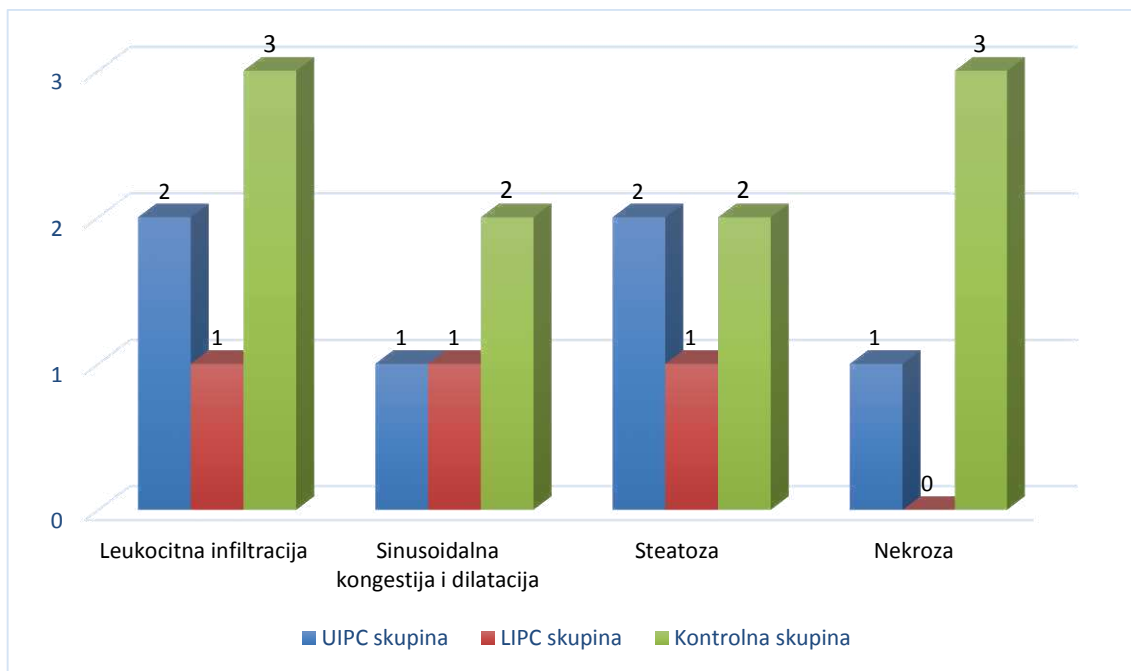
#### 4.6. Rezultati patohistološke analize

Nakon operativnog zahvata preparat jetre je patohistološki pregledan i analiziran po Rodriguezu (30). Ovom analizom se vrednovala:

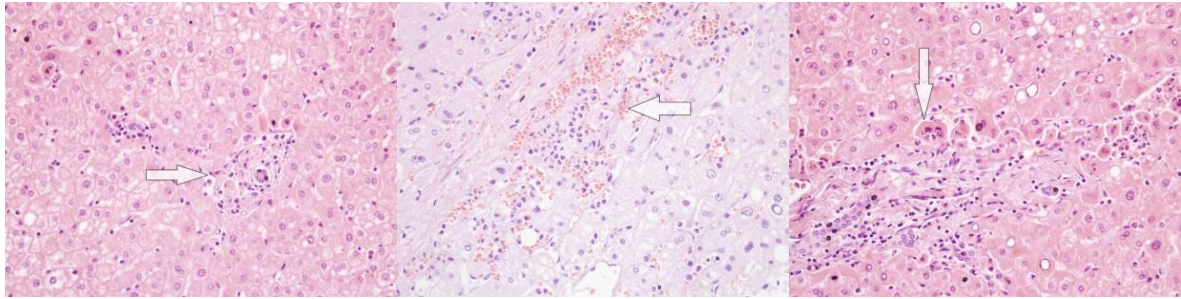
- mikrovaskularna i makrovaskularna steatoza (u četiri stupnja),
- sinusoidalna kongestija i dilatacija (u tri stupnja),
- leukocitna infiltracija (u tri stupnja),
- fokalna, konfluirajuća ili zonalana nekroza (u tri stupnja) (30).

Značajna razlika između skupina je nađena u rezultatima hepatocitne nekroze ( $P=,031$ ). U LIPC skupini bolesnika nije bilo hepatocitne nekroze za razliku od ostale dvije skupine, s time da je hepatocitna nekroza bila manje izražena u UIPC skupini nego u KS (slike 10 i 11).

Slika 10: Srednje vrijednosti patohistološke evaluacije po Rodriguezu za prekondicionirane bolesnike



Slika 11: Prezervirano jetreno tkivo s: blagom (a), srednje jakom (b) i jakom (c) neutrofilnom infiltracijom, sinusoidalnom kongestijom i dilatacijom u i portalnim prostorima i oko njih (strelica); HE bojanje, povećanje 400x.



(a) LIPC

(b) UIPC

(c) KS

## 5. RASPRAVA

### 5.1. Epidemiologija i liječenje metastaza kolorektalnog karcinoma u jetru

Kolorektalni karcinom je treći po učestalosti od svih karcinoma koji se javljaju kod ljudi (2), četvrti je tumor po smrtnosti (3). Jetra je najčešći organ u koji metastazira kolorektalni karcinom (5) te približno 70 % bolesnika s kolorektalnim karcinomom razvije metastaze u jetri tijekom svoje bolesti (6, 38).

U današnje vrijeme postoje različite terapijske metode kojima se liječe jetrene metastaze kolorektalnog karcinoma. Taj široki spektar terapijskih postupaka upotpunjavaju mnogobrojni onkološki protokoli zasnovani na kemoterapeuticima koji se mogu primjenjivati kao adjuvantna ili neoadjuvantna kemoterapija (39-42). Zatim različite ablativne tehnike poput radiofrekventne ablacije (43-44), mikrovalne ablacije (45-48), kemijske ablacije etilnim alkoholom (49-50), krioablacije (51-52) pa sve do radiokirurške ablacije u novije vrijeme (53-54). U liječenju metastatskog karcinoma kolorektuma u jetru također se koriste i interventne radiološke metode kao što je kemoembolizacija (55-56).

Unatoč razvoju kemoterapeutika i ablativne tehnologije, kirurško odstranjenje (resekcija jetre) sa čistim resekcijskim rubovima smatra se najučinkovitijim oblikom liječenja kolorektalnih metastaza u jetri (57-58) i jednim načinom liječenja koji pruža mogućnost izlječenja i duljeg preživljenja (59-60). U današnje vrijeme čak 20 % inicijalno inoperabilnih metastaza CRC na jetri se nakon neoadjuvantne kemoterapije konvertira u resektabilne (61).

Upravo iz tog razloga u zadnjih nekoliko desetljeća svjedočimo sve većem broju kirurških resekcija jetre što je dovelo do izrazitog razvoja kirurgije jetre.

Kirurgija jetre je segment abdominalne kirurgije koji je doživio najveću progresiju posljednjih tridesetak godina. Na jetri se vrše sve opsežnije resekcije što na kušnju stavlja njen regeneracijski potencijal poznat još iz vremena Prometeja (9, 62-64).

## 5.2. Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda

Resekcije jetre su prvi izbor u liječenju primarnih i sekundarnih tumora jetre (7-9, 57-60). Najveći problem kirurgu tijekom resekcija jetre je krvarenje. Da bi se ono reduciralo tijekom jetrenih resekcija koristi se pažljiva kirurška resekcijska tehnika (37, 65-67), kombinirana s okluzijom vaskularnih struktura hepatoduodenalnog ligamenta (hepatalne arterije te portalne vene), tzv. Pringlov manevar (10, 68-70) te niski centralni venski tlak (11, 71-73).

Period jetrene ishemije i reperfuzije povezan je s ishemijsko-reperfuzijskom (IR) ozljedom jetre (74). Nakon velikih jetrenih resekcija rađenih u totalnoj ili djelomičnoj vaskularnoj okluziji IR ozljeda ostatnog dijela jetre može biti ozbiljna komplikacija, te voditi do postoperativnog zatajenja ostatnog dijela jetre s posljedičnim morbiditetom i mortalitetom (12).

Ishemija i reperfuzija jetre tijekom resekcija rezultira smanjenom perfuzijom kroz jetru što dovodi do aktivacije kaskade upalnog odgovora koji obuhvaća lokalnu adheziju leukocita na endotelne stanice te migraciju u sinusoidne i posljedično oštećenje jetrenih stanica. Ozbiljnost IR ozlijede korelira s duljinom ishemije (13, 75-76).

Ishemijsko-reperfuzijska ozljeda jetre ima ranu i kasnu fazu. U ranoj fazi Kupfferove stanice su najodgovornije za aktivaciju upalnog odgovora, otpuštanje slobodnih radikala i citokina te endotelnu ozljedu. U kasnoj fazi IR ozlijede jetre neutrofili otpuštaju slobodne radikale i uzrokuju oštećenje hepatocita (14, 77-78).

## 5.3. Prekondicioniranje jetre

Da bi smanjili IR ozljedu jetre tijekom resekcija liječnici koriste različite tehnike i strategije prekondicioniranja jetre. Mnoga klinička istraživanja te istraživanja provedena na životinjskim modelima pokazala su da prekondicioniranje može smanjiti ili prevenirati IR ozljedu jetre, pogotovo nakon duljih ishemijskih perioda (15, 79-80), ali niti jedna od danas korištenih tehnika prekondicioniranja jetre nije se nametnula kao „zlatni standard“, što nas je i potaknulo na ovo istraživanje.

Danas je poznato više tehnika prekondicioniranja jetre, bilo da se radi o farmakološkom prekondicioniranju Sevoranom (16, 80) ili o mehaničkom (ishemičkom)

prekondicioniranju, koje može biti lokalno (okluzija hepatoduodenalnog ligamenta - Pringlov manevar) ili udaljeno (prolazna ishemija ekstremiteta) (14-17, 81). Prekondicioniranje jetre hipotermijom koje se pokazalo učinkovitim u transplantacijskoj kirurgiji jetre (82) nije pokazalo učinak kod resekcijskih zahvata na jetri (83).

U ovom istraživanju usporedili smo dva mehanička (ishemijska) oblika jetrenog prekondicioniranja, lokalno (čiji učinak je već znanstveno dokazan) (18-19) te udaljeno (koje je ispitano u kardijalnoj i spinalnoj kirurgiji te u istraživanjima provedenim na miševima, dok učinak na jetru još nije potvrđen na ljudima) (20-21).

#### **5.4. Lokalno ishemijsko prekondicioniranje (LIPC)**

LIPC je proces tijekom kojeg kratki period ishemije jetre nakon kojeg slijedi period reperfuzije prije prolongirane okluzije i ishemije čini jetru otpornijom na IR ozljedu (22-23,84). Dokazano je da LIPC smanjuje oslobađanje citokina te potiče proizvodnju adenzina koji ima hepatoprotektivni učinak kao i proizvodnju staničnog ATP-a što potiče jetrenu regeneraciju. LIPC također smanjuje procese apoptoze u jetri (24).

Iako je Clavian sa suradnicima dokazao protektivni učinak LIPC jetre na smanjenje IR ozlijede (85), te je isti učinak potvrđen od drugih autora (86-87) i korelira s našim rezultatima, Azoulay je sa svojim suradnicima u istraživanju (88) opovrgnuo protektivni učinak LIPC na jetru. Postoje istraživanja koja ne osporavaju smanjeni porast jetrenih enzima kod LIPC bolesnika, ali to ne povezuju s boljim kliničkim ishodom ovih bolesnika (86, 89).

#### **5.5. Udaljeno ishemijsko prekondicioniranje (UIPC)**

UIPC povećava otpornost jetre na produljeni period ishemije, kratkim periodom ishemije i reperfuzije udaljenog organa (25-26). UIPC prvi puta je publicirano u istraživanju Pryzkenka i suradnika 2008. godine, kada su prikazali protektivnu ulogu UIPC na miokard tijekom kardiokirurških operacija (90). Nekoliko istraživanja zasnovano na ovom konceptu je provedeno ne bi li pokazalo protektivnu ulogu UIPC od IR ozlijede na druge organe uključujući i jetru (91-93). Provedena istraživanja su dokazala hepatoprotektivni učinak UIPC, ali su bila provedene na životinjskom

modelu. Mehanizam ovog učinka i danas je nepotpuno razjašnjen, ali se pretpostavlja da postoje dva mehanizma djelovanja UIPC, humoralni i neurogeni / neuroendokrini (94-96). Hepatoprotektivni efekt se postiže smanjenim otpuštanjem citokina te smanjenom aktivacijom neutrofila što rezultira prezervacijom endotela kao osnovnog čimbenika očuvanja jetrene mikrocirkulacije, te povećanom aktivnošću dušičnogoksida (NO) koji također potiče mikrocirkulaciju vazodilatacijom (97).

Kim WH 2014. godine sa suradnicima objavljuje istraživanje u kojem ne pronalazi dokaza za hepatoprotektivni efekt UIPC kod jetrenih transplantacija (98).

## **5.6. Rasprava rezultata**

Upravo gore navedeni, do sada objavljeni kontradiktorni rezultati istraživanja o hepatoprotektivnom učinku UIPC i LIPC, te nedostatak randomiziranog kontroliranog istraživanja (RCT) provedenih na ljudima koja bi usporedila ove dvije metode potaknuli su nas da provedemo ovo istraživanje.

Rezultati istraživanja koju smo proveli potvrđuju bolju sačuvanost sintetske funkcije jetrenog ostatka nakon resekcija jetre u prekondicioniranim skupinama, pogotovo u skupini podvrgnutoj LIPC (tablica 4, slike 4-7).

Kraće trajanje operacije u UIPC skupini u odnosu na LIPC skupinu (slika 3) nastaje iz razloga što bolesnike u UIPC skupini prekondicioniramo tijekom indukcije u anesteziju te na taj način ne gubimo vrijeme čekajući da se provede postupak prekondicioniranja za vrijeme same operacije što je slučaj kod LIPC skupine bolesnika.

Također smo dokazali porast protoka kroz hepatalnu arteriju nakon LIPC, što može korelirati s boljom oksigenacijom hepatocita nakon LIPC te boljim hepatoprotektivnim učinkom LIPC (slike 8 i 9).

Na patohistološkom preparatu bolesnika iz LIPC skupine dokazali smo manje nekroze te bolji skor po Rodriguez (slika 10 i 11) (30).

Rezultati našeg istraživanja vrlo su slični rezultatima istraživanja koju je sa suradnicima 2017. godine proveo Kanoira (99). U tom istraživanju je provodio UIPC tako što je radio tri ciklusa ishemije donjeg ekstremiteta pneumatskom vrpcom napuhanom na 200 mmHg. Svaki ciklus ishemije trajao je 10 minuta a bio je praćen ciklusom reperfuzije od 10 minuta. U svojem istraživanju nije zabilježio komplikacije vezane za ishemiju ekstremiteta u vidu boli ili parestezija.

Međutim rezultati istraživanja koje smo proveli dokazuju da se jednaki hepatoprotektivni učinak može postići i s dvostruko kraćim protokolom UIPC (3 x 5 minuta ishemije + 3 x 5 minuta reperfuzije), što opovrgava hipotezu Kanoirinog istraživanja da dulji period ishemije udaljenog ekstremiteta povećava učinak UIPC.

### **5.7. Ograničenja istraživanja**

Ovo istraživanje je ograničeno veličinom uzorka koju je bilo teško postići poradi strogih kriterija uključivanja i isključivanja, a koje smo morali postaviti da bi uniformirali uzorak. Također ograničenje istraživanja je što nismo ispitali način djelovanja ispitivanih tehnika prekondicioniranja. Ograničenje istraživanja je i to što unatoč dokazanoj boljoj sintetskoj funkciji jetrenog ostatka nakon resekcije, nismo dokazali od kolike je to kliničke važnosti te kakav ima utjecaj na krajnji ishod u liječenju bolesnika.

## **6. ZAKLJUČAK**

Provedeno istraživanje je pokazalo da se najbolje očuvanje sintetske funkcije jetrenog ostatka kod resekcija jetre postiže LIPC. Također je potvrđen učinak UIPC jetre u sprječavanju i smanjivanju IR ozlijede jetrenog ostatka nakon resekcija jetre. Ovaj efekt je nešto slabiji od onog izazvanog LIPC, ali se preporučuje kod sinkronih operacija kolorektalnog karcinoma i resekcija jetrenih metastaza gdje Pringlov manevar mora biti što kraći da se izbjegne kongestija mezenterijskog sliva koja može dovesti do edema sluznice i dehiscence anastomoze (100-101). Također trajanje operacije kod bolesnika u UIPC skupini je kraće od onog u LIPC skupini što govori u prilog ovoj metodi.

Jaki znanstveni dokazi dobiveni u ovom istraživanju potvrđuju pozitivan učinak LIPC na smanjenje IR ozlijede jetre tijekom resekcija jetre. Mehanizmi ovog učinka nisu u potpunosti istraženi kao ni utjecaj na krajnji ishod u liječenju bolesnika, ova dva pitanja su zanimljive teme za buduća istraživanja.



## 7. SAŽETAK

**Cilj:** Je bio procijeniti učinak udaljenog ishemijsko prekondicioniranja (UIPC) u sprečavanju nastanka ishemijsko-reperfuzijske ozlijede (IR) na jetrenom ostatku nakon resekcija iste te taj učinak usporediti s učinkom lokalnog ishemijskog prekondicioniranja jetre (LIPC).

**Metode:** Randomizirano kontrolirano istraživanje je provedeno na Odijelu hepatobilijarne kirurgije Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu od siječnja 2016. godine do lipnja 2018. godine. U istraživanje je uključeno 90 bolesnika operiranih poradi metastaza kolorektalnog karcinoma u jetru. Bolesnici su randomizirani u tri skupine: 1) skupina UIPC, 2) skupina LIPC te 3) kontrolna skupina (KS) kod koje nije proveden nikakav oblik prekondicioniranja jetre prije resekcije. Učinak zaštite jetre od IR ozlijede određenom tehnikom prekondicioniranja se procjenjivao uspoređujući rezultate mjerenja vrijednosti: aspartat aminotransferaze – AST, alanin aminotransferaze - ALT, gamaglutamil aminotransferaze – GGT, aktivnog parcijalnog tromboplastinskog vremena – APTV, protrombinskog vremena - PV, albumina – Alb, serumskih proteina – SP, acetilkolinesteraze – Acth, bilirubina – Bil. Vrijednosti su se mjerile predoperativno, prvog, trećeg i sedmog postoperativnog dana. Također su se intraoperacijski, nakon prekondicioniranja dopler UZV - om mjerile brzine protoka kroz hepatalnu arteriju i portalnu venu. Postoperativno su se preparati patohistološki analizirali po Rodriguez. Istraživanje je registrirano u bazi podataka ClinicalTrials.gov (NCT03130920).

**Rezultati:** Značajna razlika je utvrđena u serumskim vrijednostima jetrenih transaminaza i bilirubina između skupina, najviše vrijednosti su zabilježene u KS a najmanje u LIPC skupini. Vrijednosti Acth su također pokazale razlike između skupina, najviše su bile u LIPC skupini. Patohistološko vrednovanje preparata po Rodriguezu je pokazalo manju razinu nekroze kod LIPC i UIPC u odnosu na KS. Brzine protoka zabilježene dopler UZV-om su pokazale porast protoka kroz hepatalnu arteriju nakon LIPC.

**Zaključak:** Bolja očuvanost sintetske funkcije jetre nakon resekcija iste u LIPC skupini i UIPC skupini ukazuje na postojanje zaštitnog učinka ove dvije metode prekondicioniranja od IR ozlijede jetre.

## 8. ABSTRACT:

### **Comparison of hepatoprotective effect from ischemia-reperfusion injury of remote ischemic preconditioning of the liver vs local ischemic preconditioning of the liver during human liver resections**

**Aim:** To compare and evaluate the hepatoprotective effect of remote ischemic preconditioning (RIPC) with local ischemic preconditioning (LIPC) of the liver during human liver resections.

**Methods:** A prospective, single-center, randomized control trial was conducted in the Clinical Hospital “Dubrava” from January 2016 to June 2018. A total of 90 patients, who underwent liver resection due to colorectal cancer liver metastasis, were randomised to one of three study arms: 1) a RIPC group, 2) an LIPC group and 3) a control group (CG) in which no ischemic preconditioning was done before liver resection. The hepatoprotective effect was evaluated by comparing serum transaminase levels, bilirubin levels, albumin, and protein levels, coagulograms and through pathohistological analysis. The trial was registered on ClinicalTrials.gov (NCT03130920).

**Results:** Significant differences were found in serum levels of liver transaminases and bilirubin levels between the groups, the highest level in the CG and the lowest level in the LIPC group. Levels of cholinesterase were also significantly higher in the LIPC group. Pathohistological findings graded by the Rodriguez score showed favorable changes in the LIPC and RIPC groups versus the CG.

**Conclusion:** Strong evidence supports the hepatoprotective effect of RIPC and LIPC preconditioning from an ischemia-reperfusion injury of the liver. Better synthetic liver function preservation in these two groups supports this conclusion.

## 9. LITERATURA:

- 1 Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136:E359-86.
- 2 Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut*. 2017;66:683–691.
- 3 Adam R, de Gramont A, Figueras J, Kokudo N, Kunstlinger F, Loyer E, Poston G, Rougier P, Rubbia-Brandt L, Sobrero A et al. Managing synchronous liver metastases from colorectal cancer: a multidisciplinary international consensus. *Cancer Treat Rev*. 2015;41:729–741.
- 4 GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional and national levels of age-specific mortality and 240 causes of death, 1990 - 2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385:117–171.
- 5 Sheth KR, Clary BM. Management of hepatic metastases from colorectal cancer. *Clin Colon Rectal Surg*. 2005;18:215–223.
- 6 Rothbarth J, van de Velde C. Treatment of liver metastases of colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2005;16:44–49.
- 7 Quan D<sup>1</sup>, Gallinger S, Nhan C, Auer RA, Biagi JJ, Fletcher GG, Law CH, Moulton CA, Ruo L, Wei AC, McLeod RS; Surgical Oncology Program at Cancer Care Ontario. The role of liver resection for colorectal cancer metastases in an era of multimodality treatment: a systematic review. *Surgery*. 2012;151:860-70.
- 8 Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg*. 1999; 230:309-21.
- 9 Khatri VP, Petrelli NJ, Belghiti J. Extending the frontiers of surgical therapy for hepatic colorectal metastases: is there a limit? *J Clin Oncol*. 2005; 23:8490-9.
- 10 Pringle JH. Notes on the Arrest of Hepatic Hemorrhage Due to Trauma. *Ann Surg*. 1908; 48:541-9.
- 11 Moggia E, Rouse B, Simillis C, Li T, Vaughan J, Davidson BR, et al. Methods to decrease blood loss during liver resection: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016.
- 12 Serracino-Inglott F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg*. 2001; 181:160-6.

- 13 Hong JC, Koroleff D, Xia V, Chang CM, Duarte SM, Xu J, et al. Regulated hepatic reperfusion mitigates ischemia-reperfusion injury and improves survival after prolonged liver warm ischemia: a pilot study on a novel concept of organ resuscitation in a large animal model. *J Am Coll Surg.* 2012; 214:505-16.
- 14 Tapuria N, Junnarkar S, Abu-Amara M, Fuller B, Seifalian AM, Davidson BR. Haemoxygenase modulates cytokine induced neutrophil chemoattractant in hepatic ischemia reperfusion injury. *World J Gastroenterol.* 2016; 22:7518-35.
- 15 Sugimoto R, Nakao A, Nagahiro I, Kohmoto J, Sugimoto S, Okazaki M, et al. Experimental orthotopic lung transplantation model in rats with cold storage. *Surg Today.* 2009; 39:641-5. Jeong JS, Kim D, Kim KY, Ryu S, Han S, Shin BS, Kim GS, Gwak MS, Ko JS.
- 16 Ischemic Preconditioning Produces Comparable Protection Against Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury Under Isoflurane and Sevoflurane Anesthesia in Rats. *Transplant Proc.* 2017;49:2188-2193.
- 17 Kocman EA, Ozatik O, Sahin A, Guney T, Kose AA, Dag I, et al. Effects of ischemic preconditioning protocols on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2015; 193:942-52.
- 18 Levchenkova OS, Novikov VE, Parfenov EA, Kulagin KN. Neuroprotective Effect of Antioxidants and Moderate Hypoxia as Combined Preconditioning in Cerebral Ischemia. *Bull Exp Biol Med.* 2016; 162:211-14.
- 19 Lloris-Carsí JM, Cejalvo D, Toledo-Pereyra LH, Calvo MA, Suzuki S. Preconditioning: effect upon lesion modulation in warm liver ischemia. *Transplant Proc.* 1993; 25:3303-4.
- 20 Matsuyama K, Chiba Y, Ihaya A, Kimura T, Tanigawa N, Muraoka R. Effect of spinal cord preconditioning on paraplegia during cross-clamping of the thoracic aorta. *Ann Thorac Surg.* 1997; 63:1315-20.
- 21 De Hert SG, Van der Linden PJ, Cromheecke S, Meeus R, Nelis A, Van Reeth V, et al. Cardioprotective properties of sevoflurane in patients undergoing coronary surgery with cardiopulmonary bypass are related to the modalities of its administration. *Anesthesiology.* 2004; 10:299-310.
- 22 Hotter G, Closa D, Prados M, Fernández-Cruz L, Prats N, Gelpí E, et al. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 222:27-32.

- 23 Gomez D, Homer-Vanniasinkam S, Graham AM, Prasad KR. Role of ischaemic preconditioning in liver regeneration following major liver resection and transplantation. *World J Gastroenterol*. 2007; 13:657-70.
- 24 Yadav SS1, Sindram D, Perry DK, Clavien PA. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway. *Hepatology*. 1999; 30:1223-31.
- 25 Hu GH1, Lu XS. Effect of normothermic liver ischemic preconditioning on the expression of apoptosis-regulating genes C-jun and Bcl-XL in rats. *World J Gastroenterol*. 2005; 11:2579-82.
- 26 Tapuria N, Junnarkar SP, Dutt N, Abu-Amara M, Fuller B, Seifalian AM, et al. Effect of remote ischemic preconditioning on hepatic microcirculation and function in a rat model of hepatic ischemia reperfusion injury. *HPB (Oxford)*. 2009; 11:108-17.
- 27 Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 2006; 93:762-8.
- 28 Bian ZX, Shang HC. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Annals of internal medicine*. 2011; 154: 290-1; author reply 91-2.
- 29 Clavien PA, Lillemoe KD. A new policy to implement CONSORT guidelines for surgical randomized controlled trials. *Annals of surgery*. 2014; 260: 947-8.
- 30 Rodriguez A, Taura P, Garcia Domingos MI, Herrero E, Camps J, Forcada P, Sabate S, et al. E. Hepatic cytoprotective effect of ischemic and anaesthetic preconditioning before liver resection when using intermittent vascular inflow occlusion: A randomized clinical trial. *Surgery*; 157:249-59.
- 31 Sato H, Sugawara Y, Yamasaki S, Shimada K, Takayama T, Makuuchi M, Kosuge T. Thoracoabdominal approaches versus inverted T incision for posterior segmentectomy in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2000;47:504-6.
- 32 Szijártó A, Czigány Z, Turóczy Z, Harsányi L. Remote ischemic preconditioning--a simple, low-risk method to decrease ischemic reperfusion injury: models, protocols and mechanistic background. A review. *J Surg Res*. 2012; 178:797-806.
- 33 Wang M, Shen J, Feng B, Gui L, Chen Q, Zhang B, et al. Remote ischemic preconditioning promotes early liver cell proliferation in a rat model of small-for-size liver transplantation. *J Surg Res*. 2013; 179:245-53.

- 34 Jia J, Li J, Jiang L, Zhang J, Chen S, Wang L, et al. Protective effect of remote limb ischemic preconditioning on the liver grafts of rats with a novel model. *PLoS One*. 2015; 10:e0121972.
- 35 Clavien PA, Selzner M, Rüdiger HA, Graf R, Kadry Z, Rousson V, et al. A prospective randomized study in 100 consecutive patients undergoing major liver resection with versus without ischemic preconditioning. *Ann Surg*. 2003; 238:843-52.
- 36 Qin LJ, Cao Y [Protective effects of local heat preconditioning on hepatic ischemia/reperfusion injury]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2005;21:285-8. Chinese.
- 37 Patrlj L, Tuorto S, Fong Y. Combined blunt-clamp dissection and LigaSure ligation for hepatic parenchyma dissection: postcoagulation technique. *J Am Coll Surg*. 2010; 210:39-44.
- 38 Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893–917.
- 39 Hagino S, Miyata T, Sakamoto K. Experience of Ramucirumab plus FOLFIRI as Second-Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer in Our Hospital. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2017;44:1559-1561.
- 40 Tani K, Shindoh J, Akamatsu N, Arita J, Kaneko J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. Management of disappearing lesions after chemotherapy for colorectal liver metastases: Relation between detectability and residual tumors. *J Surg Oncol*. 2018;117:191-197.
- 41 Hasselgren K, Malago M, Vyas S, Campos RR, Brusadin R, Linecker M, Petrowsky H, Clavien PA, Machado MA, Hernandez-Alejandro R, et al. Neoadjuvant chemotherapy does not affect future liver remnant growth and outcomes of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy. *Surgery*. 2017;161:1255–1265.
- 42 Inoue Y, Hazama S, Suzuki N, Tokumitsu Y, Kanekiyo S, Tomochika S et al. Cetuximab strongly enhances immune cell infiltration into liver metastatic sites in colorectal cancer. *Cancer*. 2017;108:455-460.
- 43 Cassinotto C, Denys A, Gay F, Duran R, Hocquelet A, Piron L, Guiu B. Radiofrequency Ablation of Liver Tumors: No Difference in the Ablation Zone Volume Between Cirrhotic and Healthy Liver. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2018;41:905-911.
- 44 Imai K, Allard MA, Castro Benitez C, Vibert E, Sa Cunha A, Cherqui D, Castaing D, Baba H, Adam R. Long-term outcomes of radiofrequency ablation combined with

- hepatectomy compared with hepatectomy alone for colorectal liver metastases. *Br J Surg.* 2017;104:570-579.
- 45 Peng S, Huang P, Yu H, Wen Y, Luo Y, Wang X, Zhou J, Qin S, Li T, Chen Y, Liu G, Huang M. Prognostic value of carcinoembryonic antigen level in patients with colorectal cancer liver metastasis treated with percutaneous microwave ablation under ultrasound guidance. *Medicine (Baltimore).* 2018;97:10.
- 46 Philips P, Groeschl RT, Hanna EM, Swan RZ, Turaga KK, Martinie JB, Iannitti DA, Schmidt C, Gamblin TC, Martin RC. Single-stage resection and microwave ablation for bilobar colorectal liver metastases. *Br J Surg.* 2016 ;103:1048-54.
- 47 Frühling P. Reply to: Microwave thermosphere™ ablation in the multimodal management of colorectal cancer liver metastasis'. *Eur J Surg Oncol.* 2017;43:1979.
- 48 Wada Y, Takami Y, Tateishi M, Ryu T, Mikagi K, Saitsu H. Efficacy of surgical treatment using microwave coagulo-necrotic therapy for unresectable multiple colorectal liver metastases. *Onco Targets Ther.* 2016, 25;937-43.
- 49 Kurokohchi K, Masaki T, Miyauchi Y, Funaki T, Yoneyama H, Miyoshi H, et al. Percutaneous ethanol and lipiodol injection therapy for hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.* 2004;24:381-7.
- 50 Giovannini M. Percutaneous alcohol ablation for liver metastasis. *Semin Oncol.* 2002;29:192-5.
- 51 Yang WL, Addona T, Nair DG, Qi L, Ravikumar TS. Apoptosis induced by cryo-injury in human colorectal cancer cells is associated with mitochondrial dysfunction. *Int J Cancer.* 2003;103:360-9.
- 52 Schuld J, Richter S, Oberkircher LW, Seeland U, Debnar-Daumler KI, Rauch J, et al. Evidence for tumor cell spread during local hepatic ablation of colorectal liver metastases. *J Surg Res.* 2012;178:268-79.
- 53 Peiffert D, Baumann AS, Marchesi V. Treatment of hepatic metastases of colorectal cancer by robotic stereotactic radiation (Cyberknife®). *J Visc Surg.* 2014;151:45-9.
- 54 Mahadevan A, Blanck O, Lanciano R, Peddada A, Sundararaman S, D'Ambrosio D, Sharma S, et al. Stereotactic Body Radiotherapy (SBRT) for liver metastasis - clinical outcomes from the international multi-institutional RSSearch® Patient Registry. *Radiat Oncol.* 2018;13:26.
- 55 Martin RC, Robbins K, Tomalty D, O'Hara R, Bosnjakovic P, Padr R, et al. Transarterial chemoembolisation (TACE) using irinotecan-loaded beads for the

- treatment of unresectable metastases to the liver in patients with colorectal cancer: an interim report. *World J Surg Oncol*. 2009. 3;7:80.
- 56 Williams S, Palmer D, Johnson P. New medical options for liver tumours. *Clin Med (Lond)*. 2007;7:351-6.
- 57 Meriggi F, Bertocchi P, Zaniboni A. Management of potentially resectable colorectal cancer liver metastases. *World J Gastrointest Surg* 2013;5:138–45.
- 58 Smith JJ, D'Angelica MI. Surgical management of hepatic metastases of colorectal cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29:61–84.
- 59 Ito K, Govindarajan A, Ito H, et al. Surgical treatment of hepatic colorectal metastasis: evolving role in the setting of improving systemic therapies and ablative treatments in the 21st century. *Cancer J* 2010;16:103–10.
- 60 Mutsaerts EL, van Ruth S, Zoetmulder FA, Rutgers EJ, Hart AA, van Coevorden F. Prognostic factors and evaluation of surgical management of hepatic metastases from colorectal origin: a 10-year single-institute experience. *J Gastrointest Surg*. 2005;9:178-86.
- 61 Maeda Y, Shinohara T, Nagatsu A, Futakawa N, Hamada T. Long-term outcomes of conversion hepatectomy for initially unresectable colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol*. 2016;23:242–248.
- 62 Rudnick DA, Davidson NO. Functional relationships between lipid metabolism and liver regeneration. *Int J Hepatol*. 2012;2012:549241.
- 63 Maros T, Seres-Sturm L, Lakatos O, Seres-Sturm M, Mody E, Blazsek V. Data regarding the restorative effects of the partial removal of the liver in advanced stages of toxic cirrhosis. *Morphol Embryol (Bucur)* 1975;21:213–17.
- 64 Haney A, Peacock EE, Jr, Madden JW. Liver regeneration and hepatic collagen deposition in rats with dimethylnitrosamine-induced cirrhosis. *Ann Surg*. 1972;175:863–9.
- 65 Rau HG, Buttler ER, Baretton G, Schardey HM, Schildberg FW. Jet-cutting supported by high frequency current: new technique for hepatic surgery. *World J Surg*. 1997;21:254-9.
- 66 Putnam CW. Techniques of ultrasonic dissection in resection of the liver. *Surg Gynecol Obstet*. 1983 ;157:474-8.



- 67 Fortner JG, Shiu MH, Kinne DW, Kim DK, Castro EB, Watson RC, et al. Major hepatic resection using vascular isolation and hypothermic perfusion. *Ann Surg.* 1974 ;180:644-52.
- 68 Huguet C, Addario-Chieco P, Gavelli A, Arrigo E, Harb J, Clement RR. Technique of hepatic vascular exclusion for extensive liver resection. *Am J Surg.* 1992;163:602-5.
- 69 Dua MM, Worhunsky DJ, Hwa K, Poultides GA, Norton JA, Visser BC. Extracorporeal Pringle for laparoscopic liver resection. *Surg Endosc.* 2015;29:1348-55.
- 70 Otsubo T. Control of the inflow and outflow system during liver resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2012 ;19:15-8.
- 71 Gagnière J, Le Roy B, Antomarchi O, Pereira B, Futier E, Dupré A, Buc E. Effects of clamping procedures on central venous pressure during liver resection. *J Visc Surg.* 2016;153:89-94.
- 72 Zatloukal J, Pradl R, Kletecka J, Skalicky T, Liska V, Benes J. Comparison of absolute fluid restriction versus relative volume redistribution strategy in low central venous pressure anesthesia in liver resection surgery: a randomized controlled trial. *Minerva Anesthesiol.* 2017 ;83:1051-1060.
- 73 Moggia E, Rouse B, Simillis C, Li T, Vaughan J, Davidson BR, Gurusamy KS. Methods to decrease blood loss during liver resection: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016; 31;10.
- 74 Cannistrà, M.; Ruggiero, M.; Zullo, A.; Gallelli, G.; Serafini, S.; Maria, M.; et al. Original research: Hepatic ischemia reperfusion injury: A systematic review of literature and the role of current drugs and biomarkers. *Int. J. Surg.* 2016, 33,57-70.
- 75 Huang, Y.; Rabb, H.; Womer, K.L. Ischemia-reperfusion and immediate T cell responses. *Cell Immunol.* 2007, 248, 4–11.
- 76 Gracia-Sancho, J.; Casillas-Ramirez, A.; Peralta, C. Molecular pathways in protecting the liver from ischaemia/reperfusion injury: A 2015 update. *Clin. Sci.* 2015, 129, 345–362.
- 77 Ma, Z.; Xin, Z.; Di, W.; Yan, X.; Li, X.; Reiter, R.J.; Yang, Y. Melatonin and mitochondrial function during ischemia/reperfusion injury. *Cell. Mol. Life Sci.* 2017, 74, 3989–3998.
- 78 Zhang, M.; Carroll, M.C. Natural IgM-mediated innate autoimmunity: A new target for early intervention of ischemia-reperfusion injury. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2007, 7, 1575–1582.

- 79 Picker O, Beck C, Pannen B. Liver protection in the perioperative setting. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2008 ;22:209-24.
- 80 Wu Y, Gu C, Huang X. Sevoflurane protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by modulating microRNA-200c regulation in mice. *Biomed Pharmacother.* 2016;84:1126-1136.
- 81 Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74:1124–1136.
- 82 Polderman KH. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit Care Med.* 2009;37:186–202.
- 83 Kim YI, Hiratsuka K, Kitano S, Joo DH, Kamada N, Sugimachi K. Simple in situ hypothermia reduced ischaemic injury to human liver during hepatectomy. *Eur J Surg.* 1996;162:717–721.
- 84 Gurusamy KS<sup>1</sup>, Gonzalez HD, Davidson BR. Current protective strategies in liver surgery. *World J Gastroenterol.* 2010;6:6098-103.
- 85 Clavien PA, Yadav S, Sindram D, Bentley RC. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg.* 2000; 232:155-62.
- 86 Gurusamy KS, Kumar Y, Pamecha V, Sharma D, Davidson BR. Ischaemic preconditioning for elective liver resections performed under vascular occlusion. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009:CD007629.
- 87 Gurusamy KS, Kumar Y, Sharma D, Davidson BR. Ischaemic preconditioning for liver transplantation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008:CD006315.
- 88 Azoulay D, Lucidi V, Andreani P, Maggi U, Sebagh M, Ichai P, et al. Ischemic preconditioning for major liver resection under vascular exclusion of the liver preserving the caval flow: a randomized prospective study. *J Am Coll Surg.* 2006; 202:203-11.
- 89 Kanoria S, Mehta NN, Seifalian A, Sharma D, Davidson B. Effect of remote ischemic preconditioning on liver injury in patients undergoing hepatectomy for colorectal metastasis - A single center randomised controlled trial. *Society of Academic & Research Surgery.* London: Yearbook; 2010. p. 45.
- 90 Przyklenk K, Maynard M, Darling CE, Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with post-conditioning. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51:1393-8.

- 91 Lai IR, Chang KJ, Chen CF, Tsai HW. Transient limb ischemia induces remote preconditioning in liver among rats: the protective role of heme oxygenase-1. *Transplantation*. 2006; 81:1311-7.
- 92 Gustafsson BI, Friman S, Wallin M, Heiman J, Delbro DS. Effect of remote preconditioning on mild or severe ischemia-reperfusion injury to rat liver. *Transplant Proc*. 2006; 38:2708-9.
- 93 Kanoria S, Jalan R, Davies NA, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR. Remote ischaemic preconditioning of the hind limb reduces experimental liver warm ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 2006; 93:762-81.
- 94 Kanoria S, Jalan R, Seifalian AM, Williams R, Davidson BR. Protocols and mechanisms for remote ischemic preconditioning: a novel method for reducing ischemia reperfusion injury. *Transplantation*. 2007; 84:445-58.
- 95 Bolte CS1, Liao S, Gross GJ, Schultz Jel J. Remote preconditioning-endocrine factors in organ protection against ischemic injury. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2007; 7:167-75.
- 96 Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*. 2008;79:377–386.
- 97 Tapuria N, Junnarkar S, Abu-Amara M, Fuller B, Seifalian AM, Davidson BR. Modulation of microcirculatory changes in the late phase of hepatic ischaemia-reperfusion injury by remote ischaemic preconditioning. *HPB (Oxford)*. 2012; 14:87-97.
- 98 Kim WH, Lee JH, Ko JS, Min JJ, Gwak MS, Kim GS, et al. Effect of remote ischemic postconditioning on patients undergoing living donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2014; 20:1383-92.
- 99 Kanoria S, Robertson FP, Mehta NN, Fusai G, Sharma D, Davidson BR. Effect of Remote Ischaemic Preconditioning on Liver Injury in Patients Undergoing Major Hepatectomy for Colorectal Liver Metastasis: A Pilot Randomised Controlled Feasibility Trial. *World J Surg*. 2017; 41:1322-1330.
- 100 Jansen-Winkel B, Tagkalos E, Heimann A, Gaiser T, Hirsch D, Gockel I, et al. Pringle maneuver increases the risk of anastomotic leakage after colonic resection in rats. *HPB* 2018; 182:31123-1.
- 101 Nakajima K, Takahashi S, Saito N, Kotaka M, Konishi M, Gotohda N, et al. Predictive factors for anastomotic leakage after simultaneous resection of synchronous colorectal liver metastasis. *J Gastrointest Surg*. 2012; 16:821-7.

## **10. ŽIVOTOPIS:**

**Mislav Rakić**, rođen 17. rujna, 1978. godine u Splitu, gdje završava osnovnu i srednju školu te Medicinski fakultet 2003. godine. Nakon odrađenog staža u KBC „Split“ i vojne obveze u Počasno- zaštitnoj bojnoj HV-a, 2006. godine zapošljava se na Klinici za kirurgiju KB „Dubrava“ u Zagrebu gdje završava specijalizaciju iz Opće kirurgije (2010. godine) te subspecijalizaciju iz Abdominalne kirurgije (2014. godine). Od 2016. godine voditelj je odijela Hepatobilijarne kirurgije K.B. "Dubrava", Zagreb te naslovni asistent na katedri za Kirurgiju Medicinskog fakulteta Osječkog sveučilišta. Također dulji niz godina obnaša dužnost liječnika U-21 hrvatske nogometne selekcije. Aktivni je član nogometne sekcije sportskog liječničkog društva CroDocs koje djeluje pri hrvatskom liječničkom zboru.

Osobni podaci: Hrvat, oženjen, otac troje djece.

### **Obrazovanje:**

2018. travanj – Cleveland Clinic Abu Dhabi - observer

2017. IRCAD cours of minimally invasive liver surgery

poslijediplomski doktorski studij – klinička medicina, pri Medicinskom fakultetu sveučilišta u Splitu

2012. – 2014., subspecijalizacija abdominalne kirurgije, KB "Dubrava", Zagreb

2006.-2010., specijalizacija opće kirurgije, KB "Dubrava", Zagreb

1998.-2003., doktor medicine, Medicinski fakultet sveučilišta u Splitu

1994.-1998., Opća gimnazija Marko Marulić, Split

### **Zaposlenja:**

2005.-danas., specijalist opće kirurgije te subspecijalist abdominalne kirurgije, voditelj odijela Hepatobilijarne kirurgije - KB "Dubrava", Zagreb

2003.-2005. pripravnički staž KB "Firule", Split

2007. – danas., liječnik U-21 hrvatske nogometne reprezentacije

### **Područja znanstvenog interesa:**

Hepatobilijarna kirurgija  
Minimalno invazivna kirurgija jetre  
Onkološka abdominalna kirurgija

### **Članstva u strukovnim asocijacijama:**

Član Hrvatske liječničke komore  
Hrvatskog liječničkog zbora  
Hrvatskog i Europskog društva za endoskopsku kirurgiju  
Hrvatskog društva za hepatobilijarnu i pankreatičnu kirurgiju (jedan od osnivača)

### **Sudjelovanje na kongresima:**

1. Hrvatski kongres digestivne kirurgije – aktivni sudionik zadnjih 6. godina kao predavač i voditelj sesije o jetrenoj kirurgiji
2. Hrvatski kongres endoskopske kirurgije – aktivni sudionik zadnjih 6. godina
3. Svjetski kongres hepatobilijarne i pankreatične kirurgije održan u Yokohami 2017.godine u organizaciji International Hepato-Pancreato-Biliary Association – IHPBA

### **Publikacije:**

1. Rakić M, Patrlj L, Amić F, Aralica G, Grgurević I. Comparison of hepatoprotective effect from ischemia-reperfusion injury of remote ischemic preconditioning of the liver vs local ischemic preconditioning of the liver during human liver resections. *Int J Surg.* 2018;54:248-253.
2. Grgurevic I, Bokun T, Salkic NN, Brkljacic B, Vukelić-Markovic M, Stoos-Veic T, Aralica G, Rakic M, Filipec-Kanizaj T, Berzigotti A. Liver elastography malignancy prediction score for noninvasive characterization of focal liver lesions. *Liver Int.* 2017 Oct 131.
3. Unić A, Derek L, Duvnjak M, Patrlj L, Rakić M, Kujundžić M, Renjić V, Štoković N, Dinjar P, Jukic A, Grgurević I. Diagnostic specificity and sensitivity of PIVKAI,II

- GP3, CSTB, SCCA1 and HGF for the diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Ann Clin Biochem.* 2017;1:4563217726808.
4. Busić Z, Kolovrat M, Đuzel A, Rakić M, Cavka M, Begović A, Kopljar M, Patrlj L. Laparoscopic partial pericystectomy of splenic hydatid cyst - a case report. *Lijec Vjesn.* 2015;137:361.
  5. Kopljar M, Patrlj I, Bušić Ž, Kolovrat M, Rakić M, Kliček R, Židak M, Stipančić I. Potential use of Doppler perfusion index in detection of occult liver metastases from colorectal cancer. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3:259-67.
  6. Patrlj I, Kopljar M, Kliček R, Hrlec – Patrlj M, Kolovrat M, Rakić M, Đuzel A. The surgical treatment of patients with colorectal cancer and liver metastases in the setting of the “liver first” approach. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3:324-9.
  7. Rakić M, Patrlj L, Kliček R, Kopljar M, Duzel A, Cupurdija K, Bušić Z. The laparoscopic liver resections-an initial experience and the literature review. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3:313-6.
  8. Rakić M, Patrlj L, Kopljar M, Kliček R, Kolovrat M, Loncar B, Busic Z. Gallbladder cancer. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3:221-6.
  9. Rakić M, Jukić M, Pogorelić Z, Mrklić I, Kliček R, Družijanić N, Perko Z, Patrlj L. Analysis of endoloops and endostaples for closing the appendiceal stump during laparoscopic appendectomy. *Surg Today.* 2014;44:1716-22.
  10. Rakić M, Pogorelić Z, Lambasa S, Patrlj L, Perko Z, Rakić M, Mrklić I, Jukić M. Primary malignant fibrous histiocytoma of the spleen: recurrence eight years after splenectomy--report of a case and literature review. *Coll Antropol.* 2013;37:1007-10.
  11. Perko Z, Rakić M, Pogorelić Z, Družijanić N, Kraljević J. Laparoscopic transabdominal preperitoneal approach for inguinal hernia repair: a five-year experience at a single center. *Surg Today.* 2011;41:216-21.
  12. Rakić M, Popović D, Rakić M, Družijanić N, Lojpur M, Hall BA, Williams BA, Sprung J. Comparison of on-demand vs planned relaparotomy for treatment of severe intra-abdominal infections. *Croat Med J.* 2005;46:957-63.

13. Erceg M, Maricević A, Rakić M. Bilateral ulnar pseudoarthroses in an adult. *Acta Med Croatica*. 2004;58:229-32.

**Prilog 1: Informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju**

Klinička bolnica Dubrava

Klinika za kirurgiju – Zavod za abdominalnu kirurgiju

Telefon: 01/290 3508

Avenija Gojka Šuška 6

10 000 Zagreb

INFORMIRANI PRISTANAK ZA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU: Usporedba učinkovitosti udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre sa prekondicioniranjem intermitentnim Pringlovim manevrom kod sprječavanja reperfuzijske ozlijede jetre tijekom resekcija jetre

Ja ..... svojim potpisom potvrđujem dragovoljno sudjelovanje u gore navedenom istraživanju kao bolesnik, te dozvoljavam korištenje prikupljenih podataka u znanstvene svrhe ovog istraživanja.

Pristanak sam dao nakon što sam usmenim putem upoznat s protokolom provođenja istraživanja.

U Zagrebu dana:

BOLESNIK:



## Prilog 2: Dozvola etičkog povjerenstva

 **KBD / Klinička bolnica Dubrava**  
Avenija Gojka Šuška 6  
10000 Zagreb  
Telefon: 01 / 290 24 44  
Telefaks: 01 / 286 36 95  
E-mail: kbd@kbd.hr

**ETIČKO POVJERENSTVO**  
U Zagrebu, 25. veljače 2016. god.

**PREDMET:** Zamolba za odobrenjem znanstvenog istraživanja pod naslovom:  
**Prevenција reperfuzijskih ozljeda jetre kod jetrenih resekcija,**  
a u svrhu izrade doktorske disertacije pod naslovom:  
**Usporedba učinkovitosti udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre sa prekondicioniranjem intrmitentnim Pringlovim manevrom kod sprječavanja reperfuzijske ozlijede jetre tijekom resekcije jetre.**

*Pozvani istraživač: Mislav Rakić, dr.med.*

Mislav Rakić, dr.med., podnio je Etičkom povjerenstvu KB Dubrava zamolbu za odobrenje znanstvenog istraživanja pod naslovom: **Prevenција reperfuzijskih ozljeda jetre kod jetrenih resekcija**, a u svrhu izrade doktorske disertacije pod naslovom: **Usporedba učinkovitosti udaljenog ishemičkog prekondicioniranja jetre sa prekondicioniranjem intrmitentnim Pringlovim manevrom kod sprječavanja reperfuzijske ozlijede jetre tijekom resekcije jetre.**

Nakon rasprave Etičko povjerenstvo u sastavu: doc.dr.sc. Ivica Grgurević, dr.med. -predsjednik, mr.sc. Željko Bočina, dr.med. –član, dr.sc. fra Zoran Senjak –član, dr.sc. Luka Štilinović, dr.med. -član, Jasminka Mitraković-zapisničar, **ODOBRILO JE** da se navedeno istraživanje provodi u KB Dubrava.

  
**za EP KB Dubrava**  
**doc.dr.sc. Ivica Grgurević, dr.med.**  
**Predsjednik**