

**EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS**

**Dr. Sajtos Erika**

**Aspleniás-hypospleniás állapotok jelzésének lehetőségei  
haemorheologiai és képkalkotó vizsgáló módszerekkel  
lépmegtartó műtéteket követően állatkísérletekben**

**Témavezetők:  
Prof. Dr. Mikó Irén  
Prof. Dr. Furka István**



**DEBRECENI EGYETEM  
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA  
Debrecen, 2014**

# Tartalomjegyzék

<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	<b>1</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b> .....	<b>2</b>
2.1. A lép anatómiája, funkciói .....	2
2.2. A lépeltávolítás következményei .....	4
2.3. Lépsérülések felosztása, kezelési lehetőségek, műtéttechnikai megoldások .....	6
2.4. A lép autotransplantatio kutatási vonatkozásai .....	13
2.5. Leukocytá antisedimentációs ráta .....	19
<b>3. CÉLKITŰZÉSEK</b> .....	<b>22</b>
<b>4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b> .....	<b>23</b>
4.1. Kísérleti állatok, anesthesia.....	23
4.2. Műteti csoportok, műteti technika.....	23
4.3. A prae- és postoperatív vizsgálatok protokollja .....	25
4.3.1. Laboratóriumi vizsgálatok .....	26
4.3.1.1. Haematologiai paraméterek meghatározása .....	26
4.3.1.2. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata .....	27
4.3.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás mérése .....	27
4.3.1.2.1.1. Filtrometria .....	27
4.3.1.2.1.2. Ektacytometria.....	28
4.3.1.2.2. Leukocytá antisedimentációs ráta meghatározása .....	29
4.3.2. Képkalkotó vizsgálatok.....	29
4.3.2.1. Colloid scintigraphia.....	30
4.3.2.2. Lép-specifikus scintigraphia.....	30
4.3.3. Laparoscopos vizsgálatok .....	31
4.3.4. Morphologiai vizsgálatok .....	31
4.3.5. Statisztikai analízis.....	31
<b>5. EREDMÉNYEK</b> .....	<b>33</b>
5.1. A laboratóriumi vizsgálatok eredményei .....	33
5.1.1. Haematologiai paraméterek .....	33
5.1.2. Haemorheologiai paraméterek .....	33
5.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás .....	33
5.1.2.1.1. Filtrometria mérési eredmények .....	33
5.1.2.1.2. Ektacytometria mérési eredmények .....	36
5.1.2.2. Leukocytá antisedimentációs ráta .....	38
5.2. A képkalkotó vizsgálatok eredményei .....	40
5.2.1. Colloid scintigraphia .....	40
5.2.2. Lép-specifikus scintigraphia .....	43
5.3. A laparoscopos vizsgálatok eredményei .....	45
5.4. A morphologiai vizsgálatok eredményei.....	48
<b>6. MEGBESZÉLÉS, ÚJ EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK</b> .....	<b>49</b>
6.1. Megbeszélés .....	49
6.2. Új eredmények és azok gyakorlati alkalmazhatósága .....	59
<b>7. ÖSSZEFOGLALÁS/SUMMARY</b> .....	<b>60</b>
<b>8. IRODALOMJEGYZÉK</b> .....	<b>62</b>
8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke .....	62
8.2. Saját közlemények jegyzéke .....	68
<b>9. TÁRGYSZAVAK/KEYWORDS</b> .....	<b>71</b>
<b>10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b> .....	<b>72</b>
<b>11. FÜGGELÉK</b> .....	<b>74</b>

## 1. BEVEZETÉS

A lépsérülések ellátásában az elmúlt 100 év jelentős szemléletváltozást hozott. A XX. század kezdetén még a lépsérülések esetében a leggyakrabban alkalmazott ellátás a splenectomia volt, azonban az 1950-es évektől kezdődően az Overwhelming Postsplenectomy Infection (OPSI) syndroma megfigyelésével ezt az egységes álláspontot egyre többen megkérdőjelezték. Ez indította el a folyamatot, amelynek során a lép funkcióit -többek között a tokos baktériumok elleni védelemben betöltött szerepét- azonosították.

Az új ismereteket hamarosan követte az a szemléletváltozás, amelynek során elsőként gyermekek sérülései esetében, majd a felnőtt sérültek körében is a lépeltávolítás helyét a lépmegtartó -operatív és/vagy konzervatív- technikák átvették. Az így -legalább részlegesen- megőrzött lépfunkcióknak nagy szerepe lehet az OPSI syndroma és egyéb lehetséges lépeltávolítást követő szövődmények kivédésében.

A lépmegtartó technikák hatásosságát tekintve a szakirodalom nincs egységes állásponton, amely annak is köszönhető, hogy a lépfunkciók monitorizálására -éppen annak összetettsége következtében- nincs egyértelműen elfogadott vizsgálati protokoll.

Korábbi tanszéki kutatások sikerrel alkalmaztak számos paramétert az aspleniás-hypospleniás állapotok követésére experimentális vizsgálati sorozatokban, de napjainkra felmerült az igény ezen vizsgálatok beagle kutyákra történő adaptálására és a levonható mértéktartó következtetéseket követően, a klinikumban is alkalmazható vizsgálati protokollok javaslatára.

Ezért célul tűztük ki, egy hosszú távú követésre is alkalmas -nagy laboratóriumi állaton megvalósuló- vizsgálati modellen egy komplex vizsgálati protokoll beállítását, amelynek segítségével a lépeltávolítás vagy a csökkent lépműködés következtében kialakulható késői szövődmények és hatások is eredményesen vizsgálhatóak. Ezáltal a klinikum számára is értékes információkat kívántunk szolgáltatni a lépmegtartó műtétek hatásosságáról és a jelző értékű korai és késői postoperatív követésre alkalmas vizsgálati lehetőségekről.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A lép anatómiája, funkciói

A lép testünk legnagyobb nyirokszerve, amely a hasüreg bal felső részében helyezkedik el, nagyrészt bordák által fedetten. A hilus kis részét leszámítva peritoneum borítja. A lépkapu a hashártya szalagjai révén a gyomorhoz (lig. gastrolienale), a rekeszhez (lig. phrenicolienale) és a retroperitoneumhoz (lig. colicolienale) van rögzítve. Vérellátásának nagy részét az a. lienalis biztosítja, amely a lépkapu előtt 6-8 ágra osztódik. Rögzítő szalagjain keresztül a lépet eléri még a vasa gastrica breves és az a. gastroepiploica sinistrae ágai, mely ereknek szintén szerepe van a vérellátásban. A vénás elvezetés nagy részét a v. lienalis biztosítja, de a cardia tájék és a vesetok körüli retroperitoneális hálózat sem elhanyagolható és a portalis rendszer nyomásfokozódása esetén jelentős vérzés forrása lehet [Sulyok 2002, Antal és mtsai 2002].

A lépet egy a hashártyával összenőtt rostos kötőszöveti tok veszi körül, az ebből kiinduló trabeculák adják a szerv durva vázát. A belépő artériák a trabeculákat követve egyre kisebb keresztmetszetűvé válnak, majd belépnek a lép állományába, mint arteria centralis. Innentől az artériákat egy T-lymphocytákból álló hüvely (PALS - periarteriolar lymphoid sheath) veszi körül. Az arteria centralisból leágazó capillarisok szabadon végződnek a marginalis zónában, amely pulpakötegekkel elválasztott vénás sinusokból áll. Ezek a részek igen gazdagok B-lymphocytákban, plasmasejtekben és macrophagokban. A szabad végzések következtében a marginalis zóna sejtjei érintkeznek legelsőként a keringésből kilépő anyagokkal. Az a. centralis további lefutása során elvékonyodik és ecetszerűen elágazódik (arteriola penicilliformis). Ez simaizomsejtjeit elveszítve további kis capillarisokban végződik. Az itt található macrophagok feladata a keringésből kilépett corpuscularis és solubilis anyagok szűrése. Ezek az ecset-capillarisok szintén pulpakötegekbe nyílnak, ahonnan az erythrocyták a

dongasejtek között áthaladva a vénás sinusokban szedődnek össze [Antal és mtsai 2002, Krstic 1984].

A lép szerkezetét tekintve ezek alapján felosztható marginális zónára, vörös és fehér pulpára. Ez utóbbi az arteriákat kísérő T-lymphocytákból (PALS) és a szélen elhelyezkedő B-lymphocyta csíracentrumokból áll. A vörös pulpa a sinus-rendszerből áll, amelynek a vázát a lép-reticulumsejtjei adják, melyhez nagyszámú macrophag és egyéb lymphoid elemek csatlakoznak. A marginális zóna a fehér pulpát körülvevő sinusokból áll, egy speciális B-lymphocyta subpopulációval [Antal és mtsai 2002, Krstic 1984].

A lépfunkciókat -melyek az anatómiai szerkezetből is logikusan következnek- klasszikusan 4 fő csoportba szokás osztani: filtrációs-, immunológiai-, reservoir- és haemopoeticus funkciókra [Neiman 1997].

A lép *filtrációs* funkciója során a vérnek a pulpakötegek történő lelassult áthaladása közben zajlik az előregedett, sérült vagy inclusiákat tartalmazó erythrocyták eltávolítása (culling, pitting). Itt kerül sor a thrombocyták és leukocyták destructiójára is. Szintén itt kerülnek ki a keringésből az IgG-vel és IgM-mel fedett sejttörmelékek, különböző sejtfragmentumok, colloidalis particulumok és egyes baktériumok és intracellularis parasiták [Stiehm és mtsa 1997, Hansen és mtsa 2001].

A lép *immunológiai* funkciója részben összefügg a szűrő funkciójával. Különösen a tokos baktériumok elleni védelemben igen fontos a szerepe, leginkább akkor, amikor az antitestek szintje alacsony, így például újszülöttek és fiatal csecsemők esetében. A lép az elsődleges helye a tokos baktériumok elleni antitest synthesisnek, mivel itt zajlik az eltávolításuk. A lépben termelődő és aktiválódó tuftsinnél szükséges a phagocyták és macrophagok aktiválásához és a T-lymphocyták antigén-függő éréséhez. A hatásos phagocytosist segíti még egy itt termelődő opsonin, a properdin is. Ezen tényezőknek is köszönhető, hogy a lép phagocytotikus kapacitása még a májnál is magasabb. A korral csökkenő mértékben szintén

itt történik a lymphocyták proliferációja, valamint a macrophagok és a supressor T-lymphocyták aktiválása. A lépben antitest és immunglobulin synthesis is zajlik, de szerepe van az IgM - IgG izotípus váltásban is. A lép továbbá az egyik nagy színhelye a VIII. faktor termelésének [Stiehm és mtsa 1997, Hansen és mtsa 2001].

Mindezek mellett a lép fontos szerepet játszik a mononuclearis phagocyták, a thrombocyták, immunocompetens lymphocyták és a vas *tárolásában* [Stiehm és mtsa 1997, Hansen és mtsa 2001].

A lépben történő *haemopoesis* normál esetben még születés előtt lezárul, de súlyos anaemia esetén ez a funkció visszatérhet [Stiehm és mtsa 1997].

## **2.2. A lépeltávolítás következményei**

A lépeltávolítás egyes szövődményei korábban is ismertek voltak, de főként a késői szövődmények lehetőségére az újabb -lépsebészettel és a lépmeztartó műtétekkel kapcsolatos kutatások- adtak magyarázatot.

A legkorábbi megfigyelések a lépeltávolítás kapcsán a futás gyorsaságának megnövekedésére vonatkoztak. A teljesítőképesség növekedését megfigyelték állatkísérletes modellekben, de humán vonatkozású példák is ismertek [Hansen és mtsa 2001]. A XX. század elején már klinikai megfigyelések utaltak a splenectomia és különböző fertőzések kapcsolatára, mely miatt tudományosan kidolgozott experimentális modellek kialakításával kezdték el kutatni az összefüggéseket [Morris és mtsa 1919].

Azonban a teljes szemléletváltáshoz -azzal a megállapítással ellentétben, miszerint a lép teljes eltávolítása esetén funkcióját más szervek teljes mértékben átveszik- King és Shumacker 1952-ben megjelent közleménye járult hozzá legnagyobb mértékben. A szerzők esetismertetéseket közöltek haematologiai betegségekben szenvedő gyermekekről, akik a lépeltávolítást követően súlyos septicus állapotba kerültek, igazolva ezzel azt a felvetést, hogy a splenectomia megnöveli az infectiók esélyét gyermekekben [King és mtsa 1952].

Napjainkban a szövődményeket leggyakrabban korai és késői csoportba osztjuk. Ezen besorolás szerint a korai szövődmények közé tartozhatnak a vérzés, infectio, láz, steril sebgyógyulási zavar, subphrenicus abscessus, thromboemboliás szövődmények, pancreatitis és gyomor-bél motilitási zavarok.

A késői szövődmények közé az OPSI syndroma (Overwhelming Postsplenectomy Infection), a DIC (disseminált intravasculáris coagulatio), az infectiókra való fokozott érzékenység, a szívet és agyat érintő ischaemiás elváltozások és a dyslipidaemia. A korai szövődmények egy része nem specifikus a splenectomiára, általános sebészi szövődménynek tekinthető, de a késői szövődmények egy része összefüggésben állhat a lépfunckciók elvesztésével [King és mtsa 1952, Littmann és mtsa 1988, Cadili és mtsa 2008, Akan és mtsai 2008].

A legrettegettebb szövődmény napjainkban is az OPSI syndroma. Hasi trauma következtében elvégzett splenectomia után a kialakulását elsőként 1957-ben publikálták [Smith és mtsai 1957]. A kórképet tokos baktériumok okozzák: több mint 90%-ban Streptococcus pneumoniae, majd ezt követően leggyakrabban Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae b és Escherichia coli [Hansen és mtsa 2001, Cadili és mtsa 2008].

Az OPSI syndroma előfordulását 4,4-5%-ra teszik gyermekekben, 0,9%-ra felnőttek esetében, azonban a kórkép súlyosságát jelzi, hogy a mortalitást 50-70% közötti, még a legkorszerűbb kezelés ellenére is [Holdsworth és mtsai 1991, Aygencel és mtsai 2008, Cadili és mtsa 2008]. Fontos megjegyezni, hogy bár a prognózis a gyermekek és idősek esetében a legrosszabb, de felnőtteknél is számolni kell megjelenésével, különösen az első 3 postoperatív évben, de akár évtizedekkel a lépeltávolítás után is [Waghorn 2001, Kyaw és mtsai 2006].

Az OPSI syndroma kialakulását az teszi lehetővé, hogy a lépeltávolítást követően a lépfunckciók kiesése miatt csökken a szervezet phagocytoticus aktivitása, az IgM és tuftsin szintje, a complement rendszer alternatív útjának aktiválása és a suppressor T-sejtek száma, illetve megnyúlik a lymphocyták keringésben töltött ideje. Az alkalmazott védőoltások és

antibiotikumok éppen ezeknek a tényezőknek a hatására nem képesek teljes védelmet nyújtani [Timens és mtsa 1991]. Mivel a kórkép nem jellegzetes tünetekkel kezdődik -fáradtság, rossz közérzet, fejfájás, láz- könnyen elnézhető. A súlyosabb tünetek megjelenésével gyors progrediálás után akár már 12-18 órán belül bekövetkezhet a halál [Trunkey és mtsai 1997]. A klinikai kép gyakran lokalizált formában jelentkezik -meningitis vagy pneumonia formájában- de septicaemia kialakulása esetén Waterhouse-Friderichsen syndroma vagy DIC is megjelenhet [Waghorn 2001, Rizzo és mtsai 2004, Hansen és mtsa 2001].

Az OPSI syndroma mellett más fertőzések megjelenésével is gyakrabban kell számolni splenectomiát követően, melyek recurrens formában visszatérhetnek. A Gram-negatív baktériumok mellett az intracellularis paraziták, mint a Plasmodium falciparum és a Babesia microti fertőzésekre is fokozottabb hajlamuk van a splenectomisált egyéneknek [Cadili és mtsa 2008, Hansen és mtsa 2001].

A splenectomiát követően thromboemboliás szövődmények gyakran manifesztálódnak, akár vena portae thrombosis formájában is. Emelkedik a normál populációhoz képest az atherosclerosis miatti cerebrovascularis és cardialis ischaemiás események előfordulásának gyakorisága is [Crary és mtsa 2009, Robinette és mtsa 1977, Robertson és mtsai 1981]. A dyslipidaemia kialakulását már állatkísérletes modellekben is igazolták és felmerül az összefüggés lehetősége ezen eltérések és az atheroscleroticus szövődmények kialakulása között [Akan és mtsai 2008, Simões és mtsai 2007, Crary és mtsa, 2009].

### **2.3. Lépsérülések felosztása, kezelési lehetőségek, műtétechnikai megoldások**

A lép a tompa hasi sérülések kapcsán a leggyakrabban sérülő szerv. Ezt magyarázhatja rögzített helyzete, bordaívекhez való közelsége, szöveti szerkezete, valamint gyenge kötőszövetes tokja. Mivel a rögzítő szalagok collagen-rostjainak lefutása megegyezik a szerv-

vongálás fő irányával, ezért ez könnyen a léptok repedéséhez vezethet [Trunkey és mtsai 1997, Sulyok 2002].

A XX. század elejéig a diagnosticus lehetőségek korlátai miatt a tompa hasi sérülések kapcsán a lépsérülésre csak akkor derült fény, ha az shockot vagy peritonitist okozott. A diagnosticus peritonealis lavage vagy az ultrahang segítségével már azonosítható volt a haemoperitoneum, azonban a computer tomographia (CT) elérhetővé válásának köszönhetően már a sérült szerv is azonosíthatóvá vált és megítélhető lett a sérülés súlyossága. Viszonylag új területe az ultrahang alkalmazásának a kontrasztanyaggal végzett ultrahang vizsgálat lehetősége. Ezzel a módszerrel is nagy pontossággal megállapítható a sérülés foka, így elterjedése a későbbiekben feltehetően fontos szerepet játszhat a klinikai gyakorlatban [Harbrecht 2005, Leenen 2009].

Főként az OPSI szindrómától való félelem miatt elsőként a gyermeksebészek kezdték el a konzervatív -azaz lépmegtartó- kezelés alkalmazását lépsérülések esetében. A kezdeti ellenszenv ellenére idővel fokozatosan elfogadottá vált és bevezetésre került a felnőttek körében is [Gauer és mtsai 2008]. Azonban a motorizáció fejlődésével párhuzamosan, a megszorított közlekedési balesetek maguk után vonták a súlyos lépsérülések számának növekedését, így a lépen végzett beavatkozások ismét előtérbe kerültek [Harbrecht 2005]. A sérüléseket nagyrészt közlekedési baleset okozza. Meglepő módon -a fellelt szakirodalmi adatok alapján- a sérülések gyakorisága nem különbözik a biztonsági övet használó, és az azt nem használó sérültek között [Rutledge és mtsai 1991, Kaseje és mtsai 2008].

Hosszú időn keresztül a lépsérülések ellátását nagymértékben megnehezítette, hogy a sérülések súlyosságának megítélésére nem állt rendelkezésre megfelelő standardizált skála. Az első, a sérülések mértékének leírására szolgáló standardizált skála -az ún. Spleen Injury Scale- 1989-ben került publikálásra, amelyet rövid időn belül, 1994-ben revideáltak. Hosszú idő óta ez a beosztás szolgál alapul a lépsérülések mértékének megfelelő sebészi beavatkozás

megválasztásához (I. táblázat). A publikáció álláspontja szerint a IV. és V. fokban károsodott lép esetében indokolt a splenectomia végzése, lehetőség szerint törekedve a megmaradt lép állapotának megtartására, autotransplantációjára [Moore és mtsai 1994].

**I. táblázat:** A lép sérülések felosztása, azok jellege és jellemzői Moore és mtsai szerint

<i>Sérülés foka</i>	<i>Lépsérülés jellege</i>	<i>Lépsérülés jellemzői</i>
<b>I.</b>	<b>haematoma:</b>	subcapsularis , <10% felület érintettség
	<b>laceratio:</b>	tok szakadása <1 cm mélységű parenchyma sérülés
<b>II.</b>	<b>haematoma:</b>	subcapsularis 10-50% felület érintettség; intraparenchymalis <5cm átmérő
	<b>laceratio:</b>	1-3cm mélységű parenchymasérülés, amely nem involválja a trabecularis ereket
<b>III.</b>	<b>haematoma:</b>	subcapsularis >50% felület érintettség; subcapsularis ruptura vagy parenchymalis haematoma; intraparenchymalisan >50% átmérő
	<b>laceratio:</b>	>3cm mélységű parenchyma sérülés vagy a trabecularis erek érintettsége
<b>IV.</b>	<b>laceratio:</b>	jelentős devascularisatiót okozó segmentális vagy hilaris érsérülés, > 25% érintettség
<b>V.</b>	<b>laceratio:</b>	teljesen roncsolt lép
	<b>érsérülés:</b>	hilaris érsérülés, teljes devascularisatioval

A konzervatív vagy a sebészi kezelés közötti döntés meghatározásához a beteg haemodinamikai stabilitását, korát, a haemoperitoneum nagyságát, a lépsérülést és az egyéb sérüléseket is figyelembe kell venni. Természetesen minden esetben mérlegelni kell, hogy melyik ellátási mód a legkedvezőbb a beteg számára [Peitzman és mtsai 2005]. A sérültek állapotának megítélésére a nemzetközileg elfogadott Injury Severity Score, illetve az Abbreviated Injury Scale használata terjedt el széleskörűen. Felnőttek esetében mindenképp a sebészi kezelés mellett szól, ha haemodinamikai instabilitás, 1000 ml-nél nagyobb vérzés, 2 egységnél nagyobb transfusios igény, illetve ha a folyamatos vérzés jeleit észlelik. 14 éven aluli gyermekek esetében kifejezettebben kell törekedni a konzervatív terápiára. Amennyiben mégis sebészi beavatkozás válik szükségessé, a szervmegtartásra mindenképpen gondolni kell, amennyiben a vérzés könnyen uralható és nincs egyéb életet veszélyeztető hasi sérülés [Patient Care Committee of the Society for Surgery of the Alimentary Tract 2005].

Nem szabad figyelmen kívül hagyni a kétszakaszos lépruptura lehetőségét. Korábban a technikai lehetőségek korlátai miatt számos esetben e késői szövődmény formát sok esetben csak későn észlelték, napjainkban az ultrahang diagnosztika az időben történő felismerésében segít. Ugyanis egy jelentéktelennek tartott, sokszor el is felejtett baleset következtében kialakuló kis kiterjedésű subcapsularis haematoma kis capsularis sérüléssel napokig tünetmentes maradhat, azonban az egyre növekvő tokfeszülés, a vérömleny lysis és a növekvő oncoticus nyomás következtében a tok szakadása után masszív vérzés jöhet létre. Hasonlóan késleltetheti a tünetek megjelenését és a súlyos vérvesztést, ha a környező szervek, illetve a nagycephesz ideiglenesen tamponálják a perisplenicus haematomát. A betegek panaszai a kórházi felvétel idején nem feltétlenül utalnak a sérülésre, megnehezítve a felismerést és az ellátást [Allen és mtsai 2002].

A lépmegtartó sebészi eljárások közé tartozik a sutura, a partialis lépresectio és lép autotransplantatio, esetleg a selectiv angioembolisatio is.

A sutura készítésénél figyelembe kell venni, hogy a lép állománya igen törékeny, valamint azt, hogy a tokja igen vékony, szakadékony. Az első lépvarratot feltehetően Zikoff végezte el 1895-ben, majd hosszú ideig viszonylag kisszámú közleményt jelent meg, amely ilyen esetekről számolt be. A technika alkalmazását elősegítette a különböző szövetragasztó anyagok megjelenése, azonban napjainkban az alkalmazási területe kissé beszűkült [Trunkey és mtsai 1997]. A suturát azon esetekben ajánlott alkalmazni, ha jelentős vérvesztés nélkül elvégezhető, a sérült haemostatusa rendezett, az ellátás következtében nem késlekedik az egyéb sérülések ellátása, illetőleg ha nem áll fenn egyéb állapotot rontó kórkép, mint a portalis hypertensio vagy coagulopathia. Az alkalmazott technika leggyakrabban az U-öltés, de szükség szerint bioplasttal, sebészi hálóval vagy a csepléssel is fedhető a sérült terület [Kuzma és mtsa 2008].

Az angiographia során végzett embolisatio szintén sikerrel alkalmazható tompa hasi sérülések következtében kialakult lépsérülések megoldására mind felnőttek, mind gyermekek körében. Bár ennek a módszernek is lehetnek szövődményei, többek között a „coil migratio”, lép abscessus kialakulása, vagy akár a kiterjedt lépinfarctus is, de nem hagyható figyelmen kívül az az előny, hogy ezen beavatkozások után a lépfunkciók megmaradnak, ezért felmerülhet annak is a lehetősége, hogy a postoperatív vakcinálástól el lehet tekinteni [Wahl és mtsai 2004, Maurer és mtsai 2009, Skattum és mtsai 2010].

A súlyosabb fokú sérülés estén is elvégezhető a partialis lép resectio, amelynek traumát követő sikeres alkalmazásáról elsőként Christo számolt be 1962-ben, miután a lép segmentális felépítésének tanulmányozása után ezt megvalósíthatónak találta. A szövetragasztó anyagok és a bioplastok szélesebb körű elterjedése nagymértékben kedvezett a műtéti technika minél kevesebb vérveszteséggel történő kivitelezésének [Trunkey és mtsai 1997].

Újabb műtéttechnikai megoldási lehetőséget jelentett Furka és mtsai -állatkísérletekben megvalósított- módszere, melynek során duplafegyverzetű egyenes tűkkel egymással szemben, egy tovafutó varratsor behelyezését követően végzik el a resectiot. Mivel a vérveszteség minimálisra csökkenthető és speciális felszereltséget nem igényel, a traumás lépsérülések megoldására tökéletesen alkalmas [Furka és mtsai 1988, 1989a].

Bármely műtéti technikát is alkalmazzzák, a kielégítő lépfunkciók megőrzése érdekében, a partialis lépresectio során törekedni kell a teljes lép állomány legalább egy segmentjének megtartására (subtotalis lépresectio) [Trunkey és mtsai 1997, Mikó és mtsai 2005].

Elsőként 1910-ben Von Küttner közölt olyan esetet, ahol ismert hasi traumát követően működőképes lépszövetet talált az autopsia során a hasüregben, azonban Faltin volt az első, aki felvetette, hogy ezek nem járulékos lépek, hanem lép-implantatumok [Garamella és mtsai 1954]. Feltételezve, hogy ez a lépszövet is rendelkezhet bizonyos szintű funkcióval, számos experimentális kutatás indult el a témában.

Már 1912-ben von Stubenrauch lépmasszát ültetett vissza kutyák hasüregébe és vizsgálta az implantatumok életképességét [Garamella és mtsa 1954]. Marine és Manley nyulakon végzett kísérletében a hasfali subcutan fasciába ültetett vissza 2 mm vastagságú harántszeleteket és a későbbiekben szövettani feldolgozást végzett [Manley és mtsa 1917].

Abban, hogy a lép autotransplantatio ér anastomosist nem igényel, már a kezdeti kutatások egységes álláspontot foglaltak el, de a beültetés helye kevésbé volt tisztázott. A kutatók számos beültetési helyet próbáltak ki állatkísérleteikben az évek folyamán, mint a nagycseplesz, subcutan szövetek, vékonybél mesenterium, izomszövet, máj, preperitoneum, vagy a retroperitoneum. A különböző technikák összevetése alapján az intraperitonealis beültetés mutatkozott a legeredményesebbnek és ez biztosította a legjobb funkciót [Marques és mtsai 2002]. Ennek háttérében a v. portae felé történő vénás elvezetés és a nagycseplesz angiogenezist serkentő faktorai is állhatnak [Levy és mtsai 1998, Marques és mtsai 2002].

A klinikai gyakorlatban ennek megfelelően a nagycsepleszből kialakított pouch-ba vagy közvetlenül a nagycsepleszhez öltésekkel rögzített lépdarabokkal történő autotransplantatio terjedt el. 1981-ben számoltak be elsőként traumás lépsérülést szenvedett betegeken végzett lép autotransplantációról, ahol a későbbiekben elvégzett haematologiai vizsgálatok igazolták a lépfunkciók részleges helyreállítását is [Patel és mtsai 1981].

A számos ismert technika és beültetési hely közül az egyik legelfogadottabb technika a „Furka-féle lépkötény” technika, melynek során vékony harántszeleteket ültetnek a nagycseplesz lemezei közé. Ennek köszönhetően, az adhesiók kialakulásának valószínűsége igen csekély a korábbi technikákhoz képest és mindezen túl, a cseplesz kellő vérellátást biztosít a regenerációhoz is [Furka és mtsai 1989a, 1990, Szendrői és mtsai 1993].

A minimálisan invazív technikák és számos új eszköz -Ligasure, argon laser coagulation- fejlődésének köszönhetően, a laparoscopos lehetőség a lép egyéb megbetegedéseinek ellátásában már előtérbe került a nyitott műtétekkel szemben és tompa hasi trauma esetében is

biztonságos és hatékony megoldásnak bizonyult. A vérzéscsillapítás rövid időn belül -a Veres-tű bevezetése után már átlagosan 16 percen belül- megoldható és akár lép autotransplantatio is elvégezhető [Carobbi és mtsai 2010, Petroianu és mtsai 2006]. A társsérülések sem jelenek feltétlen kontraindikációt és a laparoscopos technika akár egy korábbi angioembolisatiót követően fellépő vérzés esetében is sikerrel alkalmazható [Ransom és mtsai 2008, Ransom és mtsa 2009]. A laparoscopos technikával végzett partialis lépresectio -angioembolisatioval vagy anélkül- alkalmazása hasi traumát követően még további vizsgálatokat igényel, de a lép egyéb megbetegedési esetében már elfogadott eljárás [Patrzyk és mtsai 2010].

Szintén további vizsgálatokat igényel a SILS (single incision laparoscopic surgery) és a NOTES (natural orifice transluminal endoscopic surgery) alkalmazhatósága. A SILS technikát már sikerrel alkalmazták egyes jó és rosszindulatú lép megbetegedések esetében [Taragorna és mtsai 2009], a második módszert még csak állatkísérletes modellekben tesztelték [Tagaya és mtsa 2009].

A lépsérülések ellátása kapcsán -a különböző sebészi technikák mellett- a védőoltási protokollok is a figyelem középpontjába kerültek. A bármely okból elvégzett splenectomiák után -ahol a lépmegettartó műtét valamely okból nem volt megvalósítható- a preventív stratégiák a tokos baktériumok elleni védelemre helyezik a hangsúlyt. Valamennyi ajánlás tartalmazza a polyvalens, 23 komponensű polysacharid pneumococcus vakcinát. A Neisseria meningitidis ellen oltások tekintetében már az adott régióban jellemzően előforduló törzsek elleni oltás is javasolt. Szintén ajánlott a Haemophilus influenzae b ellenes (Hib) vakcina adása a korábban nem oltott egyéneknek. Az oltásokat lehetőség szerint két héttel a sürgős műtétek után, egyszerre célszerű beadni. A booster oltásokról szintén megoszlanak a vélemények, de az 5 évenkénti újravakcinálás a pneumococcus és meningococcus esetében számos országban javallt. Az ajánlások egyes országokban kiterjednek az influenza elleni

védőoltásra is. A hosszú távú, akár élethosszig tartó antibiotikum-prophylaxis hatásossága gyermekek esetében igazolt, de felnőttek esetében kevésbé tisztázott. Azonban mindezek ellenére, mivel a fertőzések és az OPSI syndroma lehetősége fennáll a sérültekben egész további életük során, ezért nem szabad a betegek tájékoztatásának és a felvilágosítási programoknak a szerepét alábecsülni, mert a korán felismert tünetek képezhetik az eredményes kezelés kulcsát a lépeltávolítást követő szövődmények megoldásában [Bridgen 2001, Mourtzoukou és mtsai 2008, Patient Care Committee of the Society for Surgery of the Alimentary Tract 2005].

#### **2.4. A lép autotransplantatio kutatási vonatkozásai**

A már korábban említett XX. század elején, 1912-ben Stubenrauch által közölt munka óta -mely az első leírata a lépdarabkák hasüregbe történő visszaültetésének- számos kutatócsoport folytatott experimentalis tudományos munkát a lép autotransplantatio témakörében. Azonban a módszer hatásosságát tekintve az irodalmi adatok igencsak megoszlanak [Pisters és mtsai 1994].

Az autotransplantatio létjogosultságát elfogadók próbálták a legkedvezőbb sebészi technikát megalkotni az autotransplantatio elvégzésére és az ideális beültetési helyet megválasztani. Fontos vizsgálandó kérdésnek tűnt a beültetett lépszövet mennyisége és a fertőzések elleni védelem összefüggésnek bizonyítása. Azonban ez utóbbinak vizsgálatát nagyban nehezíti a tény, hogy nincs olyan egyértelműen elfogadott paraméter, mely a lépfunkciók követésére minden tekintetben alkalmas lenne.

A legkedvezőbb beültetés helyét tisztázó vizsgálataik alapján 1992-ben Iinumia és mtsai az extraperitonealis (intramuscularis) módszert egyértelműen elvetették, a legkedvezőbb eredményeket az omentalis pouch-ba történő beültetés kapcsán tapasztalták. Vizsgálták a különböző mennyiségű beültetett léptömeg okozta különbségeket is, mely során lineáris összefüggést tapasztaltak a beültetett és regenerált léptömeg között, egy bizonyos határig. A

lépfunkciók tekintetében csak akkor tapasztaltak érdemi különbséget a splenectomisált csoporttal összevetve, ha nagycepleszbe az eredeti léptömeg felét visszaültették.

Egy másik munkacsoport szintén leírta a lineáris összefüggést a beültetett és regenerált léptömeg között. A különböző beültetési helyek összevetése során az omentalis csoportban volt egyedül megfigyelhető a szövettani vizsgálatok során mind a vörös, mind a fehér pulpa, míg a mesenterium csoportban mindkét alkotórész regressióját észlelték, az intraperitonealis csoportban a fehér pulpa teljesen hiányzott. Haematologiai vizsgálataik szintén az omentalis beültetési pozíció előnyeit mutatták [Malagó és mtsai 2008].

A lép autotransplantatumok újraereződésének tanulmányozása során Alves és mtsai 1999-ben arra a következtetésre jutott, hogy az ereződés a környező szövet erei felől indul meg új erek benövésével a periféria felől. Vizsgálataikhoz polystyrene microgömböket használtak, melyek már a 3. naptól egyre mélyebben azonosíthatóak voltak a parenchymában, már azelőtt, hogy a lépre jellemző szövettani szerkezet kialakult volna.

Egy új beültetési módszer -a lépdarabok májhoz szövetragasztóval történő rögzítése- tanulmányozása kapcsán Han és mtsai 2010-ben ezzel szemben nem találtak lényeges szövettani különbséget a máj felőli és a szabad felszín között, mely kissé ellentmond az újraereződés környező szövetek felőli centripetális elméletének. A mesenterialis beültetési helyhez képest jobb és gyorsabb szövettani regenerációt észleltek e technika kapcsán. A végző szerkezet differenciáltabb volt, azonban két esetben -száz kísérleti állat vizsgálata során- szövődményként abscessust észleltek.

A lép autotransplantatumok „újjászületésének” egy újabb aspektusát világította meg az a patkányokon végzett komplex kísérletsorozat, mely a lépszövet regenerálódásához az idegi re-innervatio nélkülözhetetlenségét igazolta. Különböző korú donor és recipiens állatokkal dolgoztak, vizsgálataik alapján a re-innervációt a fogadó szervezet életkora által determinálnak találták: a fiatalabb állatokban közel normál állapot volt megfigyelhető

bármely korú donor állatból származó lépszeletke visszaültetése esetén. Ezzel szemben a regenerált végső léptömeg mennyisége a donor korával összefüggő faktornak bizonyult: a fiatalabb állatból származó lép autotransplantatum egy bármely korú recipiensbe történő beültetésekor közel háromszor nagyobb végső tömeget regisztráltak, mint az idősebb állatokból származó transplantatumok esetében [Westermann és mtsai 1999].

Marques és mtsai kísérleti állatokban a korábban is megfigyelt és tanulmányozott necrosis és regeneratio kérdéseit vizsgálták az életkorral és a nemmel összefüggésben. Eredményeik szerint az idősebb állatokban nagyobb a regenerálódott lépszövet mennyisége azonos beültetési tömeg esetén, mint a fiatalabbakban, nemi különbségek nélkül. Ezzel szemben a fiatal állatok között a nőstény egyedekben észleltek nagyobb regenerálódott léptömeget. Az ereződést és a szövettani változásokat is megfigyelték munkájukban. A fehér pulpa hiányát a lép autotransplantatumokban az utánkövetési idő végén a centripetális újraereződéssel magyarázták, de felvetették azt az elméletet is, hogy a vörös és fehér pulpa két teljesen külön szervként kezelendő és ezért eltérő a regeneratio dinamikája. További munkáikban az autotransplantatumok macrophagjainak phagocytotikus aktivitását is vizsgálták. Ezen vizsgálataikban baktérium aggregatumok voltak azonosíthatóak a regenerált lépdarabkák szövettani feldolgozása során, mely a megtartott funkciót jelzi, illetőleg a haemosiderin zárványok a vörösvérsejtek physiologiás destructiójában való részvételről tanúskodnak [Marques és mtsai, 2002, 2003].

A lép autotransplantatumok microvasculaturáját Clayer és kutatócsoportja tanulmányozta, mely során arra a megállapításra jutottak, hogy a lépre jellemző kapillárisálózatot dilatált erek helyettesítik a regenerált szövetben. Ezek a változások az antigén-lymphoid sejt kontakt időt és ennek következtében a phagocytotikus kapacitást is csökkenthetik. A további IgG mediált phagocytosis vizsgálatára irányuló munkáik során a különböző mértékben opsonisált erythrocyták clearance-t vizsgálták különböző mennyiségű léptömeg megtartásával

járó beavatkozások után. Eredményeik alapján a csökkenő antitest titer csökkenő mennyiségű hepatikus felvételt igazolt és emelkedő mennyiségű felvételt a lép esetében. A beültetett léptömeg mennyiségének csökkenésével növekedett a májban történő phagocytosis aránya, azonban léptömeggel korrigálva azonos volt a felvétel valamennyi csoportban. Ha az eredményeket a vörös pulpa aránya és a léptömegből kalkulált index függvényében vizsgálták, igen kifejezett korreláció volt megfigyelhető. A további szövettani feldolgozás során a fehér pulpa és a marginális zóna csökkent mennyiségét és az a. centrale nagyfokú hiányát találták, illetőleg a vörös pulpa szerkezeti abnormalitásait, mely utóbbi magyarázatául szolgálhat a phagocytosisban tapasztalt különbségeknek [Clayer és mtsai 1992, 1994].

Karagülle és munkatársai átfogó haematologiai, immunologiai valamint  $^{99m}\text{Tc}$  jelölt, hővel denaturált vörösvérsejtek használatával- funkcionális scintigraphiás vizsgálatokat végeztek nyulakon kutatásaik során. A legtöbb közölt eredménnyel ellentétben, ők a regenerálódott léptömeg növekedéséről számoltak be. Több esetben mérsékelt és súlyos fokú összenövéseket észleltek a hasüregben a visszaültetett lépszövet és a hasfal, valamint a vékony-, és vastagbelek között a vizsgálati idő végén. Két kísérleti állatban a beültetett lép autotransplantatumok teljes necrosisát írták le, mely állapotot a scintigraphia előre jelezte. Haematologiai vizsgálataik eredményei az irodalomnak megfelelőek voltak: thrombocytosis és leukocytosis a splenectomiát követően, míg az autotransplantált csoport értékei a kontrol csoport értékeit közelítették a postoperatív 6. héten. Az Ig szintekben tapasztalt változások az immunologiai funkciók megőrzésének lehetőségére utalnak. Az IL-1 szintben olyan mértékű növekedés volt észlelhető a lép autotransplantatiót követően a splenectomisált csoporthoz képest, hogy egy esetleges jelző szerep lehetősége is felmerült az eredményeik alapján [Karagülle és mtsai 2007].

Komplex immunologiai (T-lymphocytá szám, lysosym szint, haemolysin titer, pneumococcus clearance) és szövettani analízist végzett nyulakban Tang és munkacsoportja.

A postoperatív 8. héten már jól fejlett szövettani szerkezettel bíró lép autotransplantatumokat figyeltek meg, azonban az a. centralis még az utánkövetési idő végén -a postoperatív 24. héten- is hiányzott. A vizsgált paraméterekben nem találtak szignifikáns különbségeket a splenectomia és a lép autotransplantatio csoportok között, melyek alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a lép autotransplantatumok nem képesek helyettesíteni a normál lépét és igen csekély védelmet nyújtanak az infectiókkal szemben [Tang és mtsai 2003.].

A pneumococcus vaccinatio utáni immunválaszt vizsgálta Leemans és munkacsoportja lépeltávolítást és lép autotransplantatiót követően patkányokon végzett kísérletes modelljében. A kiegészítő szövettani vizsgálatok a postoperatív 12. héten már funkcionáló marginalis zónát írtak le, egyértelműen elkülöníthető vörös és fehér pulpával. Az immunizációt követően magasabb IgM és IgG szinteket regisztráltak a lép autotransplantált csoportban, mint a splenectomisáltban, mely a több szerző által megfigyelt csökkent clearance ellenére lehetőséget ad az immunrendszernek az infectio kivédésére [Leemans és mtsai 1999].

Ugyanez a kutatócsoport klinikai vizsgálatokkal is kiterjesztette kutatásait. Hasi traumát követően splenectomisált és lép autotransplantált betegek között immunológiai vizsgálatot és penumococcus vakcináció utáni IgM és IgG antitest titer méréseket végeztek. Fc receptor scintigraphiával  $^{99m}\text{Tc}$  jelzett, IgG fedett vörösvérsejtek használatával- igazolták a beültetett lépdarabkák regenerálódását. Az utánkövetés során semmilyen infectiós szövődményt nem észleltek. A scintigraphia során meglepő módon a splenectomisált betegek közel felénél ectopiás lépszövetet jelzett. Bár a granulocytá funkciók tesztben nem volt érdemi különbség, a vakcinációt követő immunválasz során az autotransplantált csoportban tapasztalták a legjobb eredményeket. Az ectopiás lépszövettel rendelkező egyének immunválasza a splenectomisált egyénekhez képest jobbnak bizonyult, de nem érte el a kontrol vagy az lép autotransplantált csoport szintjét [Leemans és mtsai 1999].

Szintén klinikai vizsgálatok eredményét közölték Patel és munkatársai, akik tompa hasi traumát követően végezték el a lép autotransplantációt, majd vizsgálták a thrombocytaszámot, a zárványokat, az IgM és C3 szinteket, valamint scintigraphiát is végeztek. Postoperatív szövődményt ők sem észleltek. A beavatkozás nem növelte lényegesen a műteti időt. Az autotransplantált sérülteknél a 4. postoperatív héttől a Howell-Jolly testek hiányát írták le. A többi paraméter esetében a normál tartománynak megfelelő értékeket észleltek. A scintigraphia valamennyi esetben kimutatta a lép autotransplantatumokat [Patel és mtsai 1981].

A DE OEC Sebészeti Műtéttani Tanszéken a lépmege tartást szolgáló sebészi kutatások 1986-ig nyúlnak vissza. Kezdetben keverék kutyákon indultak a vizsgálatok, melynek eredményeként a Furka-féle „lépkötény” technika (Furka’s spleen chip technique) világszerte ismertté válhatott [Furka és mtsai 1989a, 1989b, 1990]. Az eredmények igazolták, hogy a beültetett vékony lépszeletek 4-5 hónap regenerációs időt igényelnek, és mind fény-, mind electronmicroscopos vizsgálatokkal kimutatható volt az eredeti léphez hasonló szövettani szerkezet. Az ultrahangos és scintigraphiás postoperatív vizsgálati módszerek is alkalmazhatónak bizonyultak. A laboratóriumi vizsgálatok igazolták az erythrocyta deformabilitás és a peripheriás phagocytá aktivitás alkalmazhatóságát a lép autotransplantációt követően az esetleges aspleniás-hypospleniás állapotok kialakulásának követésére [Mikó és mtsai 1994].

További vizsgálataik során haematologiai, haemorheologiai és immunologiai vizsgálatok elvégzésével igazolták az autotransplantatio során visszaültetett lépszeletek életképességét. Ugyanis az erythrocyták átlagos térfogata, a thrombocyták száma, a filtrometria módszerével meghatározott vörösvérsejt deformabilitás értékek és a peripheriás phagocytá zimosan függő aktivitása tekintetében az autotransplantált csoport a kontrol csoport értékeit közelítette, míg a splenectomisált csoport magasabb értékeket mutatott, így az eredmények a funkciók részleges

helyreállása is utaltak. A hosszú távú követéses vizsgálatok is ehhez hasonlóan, a lép autotransplantatio kedvező hatásait igazolták [Mikó és mtsai, 2003, 2006].

Az autotransplantációs modell inbred egerekre történő adaptálása megnyitotta a lehetőségét a korábbi általános jellegű vizsgálati protokollok kibővítését az immunológiai vizsgálatokkal. Az egérmodell autotransplantatumainak szövettani vizsgálatai is kötőszövetes tokkal körülvett, lymphoid zónából és vörös pulpából álló parenchymát azonosítottak a kísérleti állatokban [Mikó és mtsai 2001].

Egereken végzett további immunológiai vizsgálataik során, az eddigiek megerősítése mellett, a CD3+ T-sejtek és a CD19+ B-sejtek, a neutrophilok számát, valamint az IgM szinteket tekintve jellegzetes eltérés mutatkozott a lép autotransplantált és a splenectomisált kísérleti állatok között, amelyek ismételten megerősítették, hogy a funkciók részlegesen helyreállíthatók, amelynek immunológiai haszna is van [Sipka és mtsai 2006a, 2006b].

A sikeres eredmények hatására a klinikai gyakorlatban is hamar bevezetésre került a Furka-féle „lépkötény” technika. Az utánkövetéses vizsgálatok során a haematológiai, az IgM és a tuftsin szintbeli változások valamint a képkötő vizsgálatok is igazolták a visszaültetett lépszövetek funkcióját felnőttek és gyermekek esetében is. Bár a további vizsgálatok jelentős különbséget nem tudtak kimutatni a splenectomisált és a lép autotransplantált csoportok között, a tapasztalt különbségek mégis indokoltá teszik a lépmegegyező műtétek alkalmazását az arra alkalmas esetekben, természetesen a szükséges vakcinálási protokollok betartása mellett [Szendrői és mtsai 1993, 1997, Ács és mtsai 2005].

## **2.5. Leukocita antisplenicitási ráta**

A lépfunckiók, illetve az aspleniás-hypospleniás állapotok követése során kitüntetett szerepe van a haemorheológiai mérőmódszereknek, melyek többsége sajnos nem érhető el széles körben, részben azok speciális műszerezettségi igénye miatt. Ezért intenzív

kutatómunka folyik olyan vizsgálómódszerek kifejlesztése iránt, mely a klinikumban is könnyen el tud terjedni. Ezért is kerülhetett a figyelem középpontjába egy új paraméter, a leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) meghatározása, mely experimentális alkalmazásáról, annak lépfunkciókkal való összefüggéséről jelenleg még nincsen szakirodalmi adat.

Elsőként 1970-ben figyelték meg a vörövérsajt-süllyedés vizsgálata kapcsán a leukocyták felfelé történő mozgását [Cutts 1970]. Ekkor még nem került sor a folyamat háttérében álló tényezők azonosítására, de Bogár és munkacsoportja feltételezte, hogy a fehérvérsejtek áramlását nem kizárólag az erythrocyta aggregatumok mozgási sebessége határozza meg. A leukocyták felfelé történő mozgását a vörövérsajt-süllyedés során leukocytá antisedimentációnak nevezték el, és egy óra sedimentációt követően a véroszlop felső és alsó felében található leukocyták arányát pedig leukocytá antisedimentációs rátának (LAR).

Vizsgálataik során igazolódott, hogy a fehérvérsejtek mozgását a fehérvérsejt adherencia, a teljes vér viszkozitás és a haematocrit határozza meg, míg a leukocytaszám, vörövérsajt aggregatio és a fibrinogen szint nincsenek összefüggésben ezzel. A fehérvérsejt subpopulációk közül a granulocyták esetében tapasztalták a legnagyobb arányban az antisedimentációt, amelynek a háttérében az sejtaktiváció során bekövetkező jelentős térfogat növekedés állhat [Bogár és mtsai 1997]. A meghatározás nem igényel különleges tárgyi feltételeket és a legtöbb leukocytá funkcionális vizsgálattal szemben -ahol sejt izolálási lépésekkel kezdődik a vizsgálat- itt a saját környezetükben vizsgálhatjuk a sejtek állapotváltozásait, ami feltételezhetően közelebb áll az in vivo történésekhez.

A munkacsoport a további kutatások során fényt derített arra a tényre is, hogy az antisedimentációs mozgás az első 20 perc során jelentősen eltér az egészséges és a beteg egyének vérmintáiban [Bogár és mtsa 2000]. Egy órás sedimentációt követően, a septicus betegek vérmintáiban a LAR értékét magasabbnak tapasztalták, mint az egészséges egyének

mintáiban mérhető és a kiindulási leukocytá számának nem volt szignifikáns hatása a leukocytá antisedimentációs ráta értékére [Bogár és mtsa 2006a,2006b].

Az intenzív osztályos ellátásra szoruló betegek körében a serum procalcitonin meghatározással összevetve -mely jól ismert jelző paramétere a bacteriaemiának-, a leukocytá antisedimentációs ráta 91 %-os sensitivitással és 75 %-os specificitással jelezte a bacteriaemiát az első lázas periódust követően. Az eredmények korreláltak a procalcitonin értékekkel és az aerob és anaerob haemocultura tenyésztési eredményeivel is [Bogár és mtsai 2006c.].

Korai jelző értékét ezeken túl a nyelőcső-tumoros betegek postoperatív légzési elégtelenségének előfutáraként is igazolták. A post-stroke infectiók esetében is igazolódott ez a jelző szerep, továbbá a LAR emelkedésének a mértéke és a károsodott agy területének a nagysága között is azonosítottak összefüggést, annak ellenére, hogy a fehérvérsejtszám tekintetében nem mutatkoztak meg ezek a különbségek. A transiens ischaemias attack (TIA) is előidézte a LAR emelkedését, de az emelkedés mértéke, mind az időbeli lefutása jellegzetesen különbözött a stroke esetében tapasztaltaktól [Molnár és mtsai 2008].

### 3. CÉLKITŰZÉSEK

Korábbi tanszéki kutatások is igazolták a lépmegetartó műtéti technikák és az aspleniás-hypospleniás állapotok kutatásának aktualitását és ezek kapcsán felmerült az igény a hosszú távú követésre alkalmas inbred, nagy laboratóriumi állatokon folytatott vizsgálatokra. Ez a homogén állatokon végzett modell lehetővé tette egy szélesebb spektrumú komplex vizsgálati protokoll beállítását, amelynek segítségével a késői szövődmények és hatások is eredményesen vizsgálhatóak, így a klinikum számára értékes információkkal szolgálhatnak.

Ezért munkánk során célul tűztük ki komplex vizsgálatok keretében a lépfunkciók követésére használható vizsgálati eljárások alkalmazhatóságának, jelző értékének meghatározását és összehasonlítását beagle kutyákon végzett lépmegetartó műtéti beavatkozásokat követően az alábbiak szerint:

**1./** A lép autotransplantatumok filtrációs funkciójának kimutatása haemorheológiai mérőmódszerekkel, ehhez két módszer, a filtrometria és az ektacytometria alkalmazhatóságának tisztázása, a kapott eredmények összehasonlításával.

**2./** A leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) állatkísérletes modellben való alkalmazhatóságának vizsgálata. Alkalmazható-e az esetlegesen kialakulható aspleniás-hypospleniás állapotok követésére különböző típusú lépmegetartó műtéteket követően?

**3./** A lép autotransplantatumok életképességének kimutatása párhuzamosan elvégzett diagnosticus laparoscopia és a colloid scintigraphia alkalmazhatóságának vizsgálatával.

**4./** A további kutatásokhoz egy újabb képalkotó eljárás beállításának tervezése a klinikumban már alkalmazott lép-specifikus scintigraphia protokolljának adaptálásával a lép autotransplantatumok életképességének időszakos kontrollálására.

**5./** Eredményeink megerősítése céljából a postoperatív utánvizsgálati időszak végén szövettani feldolgozás a lép autotransplantatumok életképességének igazolására.

## 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4.1. Kísérleti állatok, anesthesia

Kísérleteinket két periódusban, 2005 és 2006 (I. fázis), valamint 2006 és 2008 (II. fázis) között összesen 31 beagle kutyán végeztük el. A kutatás elvégzéséhez rendelkezünk a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottság engedélyével (engedélyszám: 12/2003., 7/2006., 34/2007., DE MÁB). Az állatokat egyedi ketrechen tartottuk, biztosítva az állat igényei szerinti szabad mozgást. Az állatok standard tápot kaptak és biztosítottuk a vízhez való szabad hozzáférést.

A műtéteket ketamin és xylazin (SBH Ketamin, Produlab Pharma B.V., The Netherlands, 10 mg/ttkg; Primazin, Alfasan International B.V., The Netherlands, 1mg/ttkg) intramuscularis alkalmazásával, narcosisban végeztük.

Az utánkövetési idő végén a macroscopos vizsgálatokat és a microscopos mintavételeket követően az állatokat narcosisban -kálium-chlorid oldat (2 mmol/ttkg) intracardialis adásával- extermináltuk. Kivéve 3 állatot, melyeket életben tartottunk a lép autotransplantatumok funkciójának tovább követésére, egy újabb mérési methodika illetve képalkotó eljárás bevezethetősége miatt.

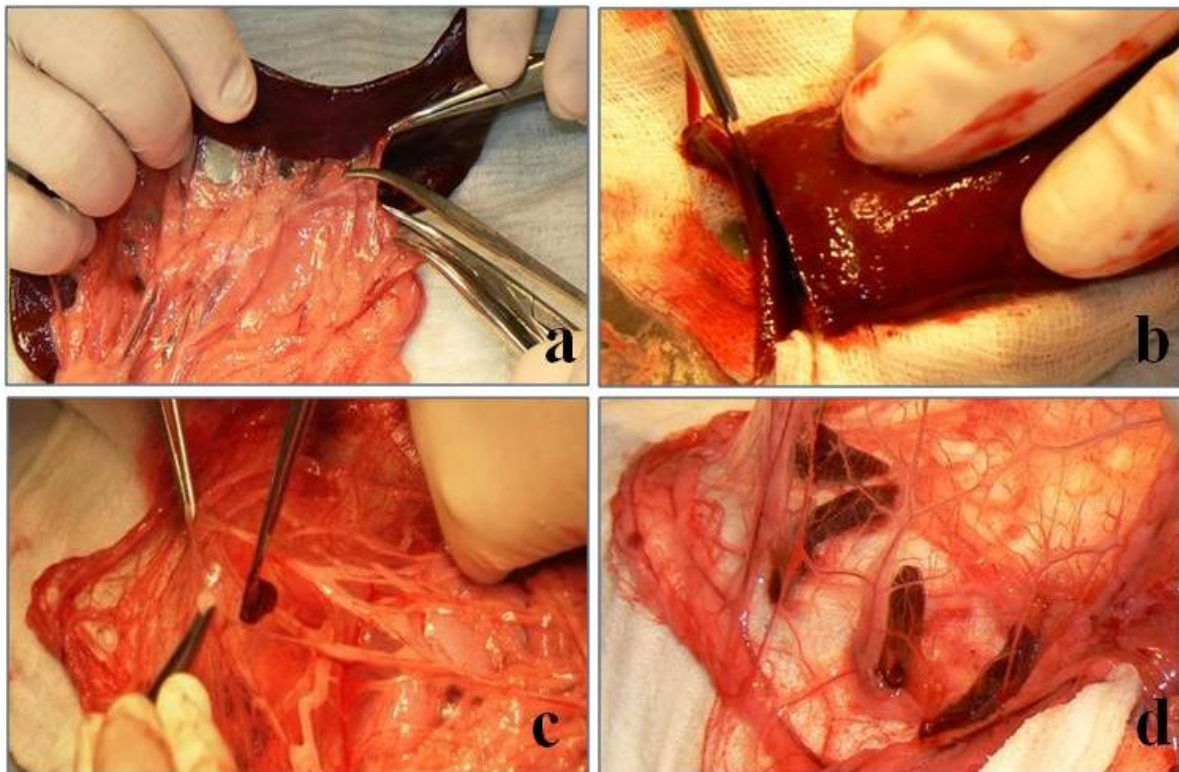
### 4.2. Műtéti csoportok, műtéti technika

A kísérletbe bevont állatokat két egymást követő periódusban operáltuk meg a hosszú utánkövetési idő illetve az egyedi állattartás szabályainak betartása miatt.

Az *I. kísérleti periódus* során 15 beagle kutyát ( $9,98 \pm 1,67$  kg) vontunk be a vizsgálatainkba, ( $n=3-3$ ), a *II. kísérleti periódus* során további 16 beagle kutyán ( $9,41 \pm 1,49$  kg) folytattuk vizsgálatainkat ( $n=4-4$ ), az alábbi műtéti csoportokban a jelzett műtéti technikákat alkalmazva:

1. *csoport*: ép kontrol (ÉP) - műtétes beavatkozás nem történt.
2. *csoport*: áloperált kontrol (ÁL) - median laparotomia után a hasfal két rétegű zárása történt.
3. *csoport*: splenectomia (SE) - felső-középső median laparotomiát követően a teljes lép eltávolításra került, majd a hasfalat két rétegben zártuk.
4. *csoport*: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével (AU5) - a splenectomia csoporttal azonos módon történő lépeltávolítást követően 5 lépszeletke került beültetésre a nagycseplesz kettőzetébe a Furka-féle „lépkötény” módszere szerint, majd a hasfalat két rétegben zártuk.
5. *csoport*: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével (AU10) - az előző csoportnál jelzett műtéti technika szerint.

Megjegyzés: az I. kísérleti fázis ép állatainak értékei szolgáltak a II. kísérleti fázisban is az egyes postoperatív időszakok értékeinek, mint egy központi adatbázisként.



**1. ábra:**

**A Furka-féle „lépkötény” technikával készített lép autotransplantatio lépései  
5 lép szeletke beültetésével (AU5)**

- a./ splenectomia végzése, b./ lépszeletkék nyerése,  
c./ az első lépszelet nagycseplesz közé helyezése, d./ az utolsó lép szelet behelyezését a csepleszen  
ejtett nyílás zárása követi

A Furka-féle „lépkötény” eljárás lényege (1. ábra): az eltávolított lép ép állományából igen vékony teljes keresztmetszetű lépszeletek (vastagság: 0,5 mm, hossz: 12-20 mm, szélesség: 8-16 mm) készítése után azoknak a nagycseplesz lemezei közé -érdús területre-, külön rögzítés nélküli visszahelyezése, majd a csepleszen ejtett nyílás zárása [Furka és mtsai 1990]. A splenectomia során az erek lekötéséhez valamint a nagycsepleszen ejtett kis nyílás zárásához 3/0-ás nem felszívódó bevonatos polyestert (Ethibond, Ethicon, Inc., Németország) használtunk. A hasfalzárás során a peritoneum és az izomréteg egyeztetéséhez 1/0-ás nem felszívódó polyamid (Ethilon, Ethicon, Inc., Németország), a bőr zárásához 3/0-ás felszívódó polyglactin (Coated Vicryl, Ethicon, Inc., Németország) fonalakat használtunk.

#### **4.3. A prae- és postoperatív vizsgálatok protokollja**

Az utánvizsgálati protokoll kialakításakor a korábbi évtizedek alatt beállított komplex mintát alkalmaztuk (I. kísérleti periódus), természetesen a hagyományos mérőmódszerek mellett a rendelkezésre álló újabb rheologiai mérési methodikák bevezetésével (II. kísérleti fázis).

Valamennyi kísérleti állat esetében a műtéteket megelőző napon történtek az alapértékként szolgáló vérmintavételek, majd a beavatkozást követően egy héttel és az első év során havi rendszerességgel a kontrol vizsgálatok mintavételei. A II. kísérleti fázisban a második postoperatív év során a vérmintavételek csak kéthavonta történtek.

A vérmintákból komplex haematologiai, haemorheologiai vizsgálatokat végeztünk el kiegészítve a coagulációs paraméterek meghatározásával az aspleniás-hypospleniás és normál állapot összehasonlítása érdekében, a lép autotransplantatumok funkciójának követésére.

Az első postoperatív év végén lett esedékes a kísérleti állatok kötelező vakcinálása, és ekkor a szokásos évenkénti oltási protokollnak megfelelően inaktivált veszettség vírust tartalmazó Rabigen Mono (Virbac S.A.) illetve élő, attenuált kutya szopornyica vírust, élő,

attenuált kutya adenovírust, élő, attenuált kutya parainfluenza vírust, élő, attenuált kutya parvovírust tartalmazó Vanguard Plus5 (Pfizer Animal Health S.A) vakcinákkal immunizáltuk az I. és II. kísérleti fázis állatait. Ezt megelőzően és ezt követően egy héttel vérvételeket végeztünk, a kiváltott immunválasz mértékének az összehasonlítása céljából.

Ezen időpontokban, a korábban bemutatott vizsgálati protokollt kiegészítettük a leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) vizsgálatával is.

Az I. fázis kísérleti állatai egy részénél az első postoperatív év végén colloid scintigraphiás vizsgálatokkal azonosítottuk a lép autotransplantatumokat. A 3 túlélő kísérleti állaton a postoperatív 5. évben megkíséreltünk beállítani egy új lép-specifikus scintigraphiás módszert.

Az utánkövetési idő végén (I. kísérleti fázisban a postoperatív 12. hónap; a II. kísérleti fázisban a postoperatív 24. hónap) diagnosticus laparoscopiát végeztünk a visszaültetett lép autotransplantatumok életképességének a tisztázására. Ezt követően sok került sor szövettani mintavételre is, az exterminalás után.

#### **4.3.1. Laboratóriumi vizsgálatok**

Laboratóriumi vizsgálatainkhoz a szükséges vérvételeket egy éjszakai éhezést követően a reggeli órákban végeztük el, minimális strangulatio alkalmazásával a v. cephalicából, a haemorheologiai alapelvek betartása mellett, zárt rendszerben [Baskurt és mtsai 2009]. A minták feldolgozását kontrollált hőmérsékleten ( $22\pm 1$  °C), a lehető legrövidebb időn belül -maximum 2 órán belül- elvégeztük.

##### **4.3.1.1. Haematologiai paraméterek meghatározása**

A haematologiai paraméterek meghatározása 1,5M K<sub>3</sub>-EDTA-val (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintákból történt a Coulter-elv alapján

működő Sysmex F-800 microcell counter (TOA Medical Electronics Co., Japán) használatával.

Ezen apertúra-impedancia elv alapján mérve a 2-3 fl és a 12-30 fl méret közé eső sejteket thrombocytának, a 25-75 fl és 200-250 fl méret közé esőket erythrocytának számolja a készülék. Detektálja a sejtek méretét is, majd ennek eloszlásából eloszlási görbéket kalkulál. Az erythrocyták számolásakor a kumulatív impulzusmagasság módszerével direkt módon méri a haematocritot. A fehérvérsejtek számolása az erythrocyták lysalasa után, az előbbiekhöz hasonló elven történik, az alsó határ 30-60 fl, a felső határ fix 300 fl, az ezen méret közé sejteket számolja a készülék fehérvérsejtnak. A kvalitatív vérkép meghatározása is a sejtméret alapján történik: a kis sejtek a lymphocyták, a közepes méretűek a monocyták/eosinophylek/basophylek, a nagy sejtek a neutrophilek. A haemoglobin meghatározására a készülék a hemiglobin cianid módszert használja. Az átlagos sejt térfogatot, az átlagos sejtenkénti haemoglobin tartalmat és koncentrációt a készülék nem közvetlenül méri, hanem a korábban mért paramétereiből kalkulálja.

#### **4.3.1.2. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata**

A haemorheologiai paraméterek közül jelenlegi munkánk során a vörösvérsejt deformabilitást határoztuk meg két módszer segítségével valamint alkalmaztuk illetve kalkuláltuk a leukocyta antisedimentációs rátát.

##### **4.3.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás mérése**

Mindkét kísérleti fázis során a megadott vérvételekhez kapcsolódóan elvégeztük a vörösvérsejt deformabilitás meghatározását a filtrometria módszerével, azonban az ektacytometria módszer alkalmazására csak a II. kísérleti fázis postoperatív 20. hónapjától volt lehetőségünk, mivel ekkor történt meg a méréshez szükséges készülék beszerzése Tanszékünkön.

###### **4.3.1.2.1.1. Filtrometria**

A filtrometriás mérésekhez 143 IU Na-heparinnal (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintát használtunk.

A méréseket Carat-FT1 filtrometer (Carat Ltd, Magyarország) segítségével végeztük el, amely a St. George's filtrációs elven működik [Dormándy és mtsai 1985].

A vérmintákat előkészítésük során elsőként 2500 g mellett centrifugáltuk, majd a plazmát és a buffy coat-ot eltávolítottuk. Ezt követően a kapott szuszpenziót kétszer mostuk foszfát pufferben (osmolaritás:  $295 \pm 5$  mOsm/kg; pH: 7,4). Az utolsó mosást követően a sejt szuszpenziót 1:1 arányban hígítottuk foszfát pufferrel és meghatároztuk a haematocrit értéket, majd elvégeztük a további hígítást 5% haematocritra. Az elkészített szuszpenziót állandó (4 vízcm) nyomás mellett áramoltattuk egy 5  $\mu$ m pórusnagyságú polycarbonat filteren (Nucleopore<sup>®</sup>, Whatman Inc., Anglia) keresztül.

A folyadékoszlop haladási sebességét 4 pár fényforrás fotodetektor jeléből számítja ki a csatolt számítógép és meghatározza a kezdeti relatív filtrációs rátát (initial relative filtration rate, IRFR), majd ebből -az alábbi képlet alkalmazásával  $RCTT = ((IRFR^{-1} - 1) / Htc) + 1$ , ahol a Htc a sejt szuszpenzió haematocritja- a relatív sejt tranzit időt (relative cell transit time, RCTT).

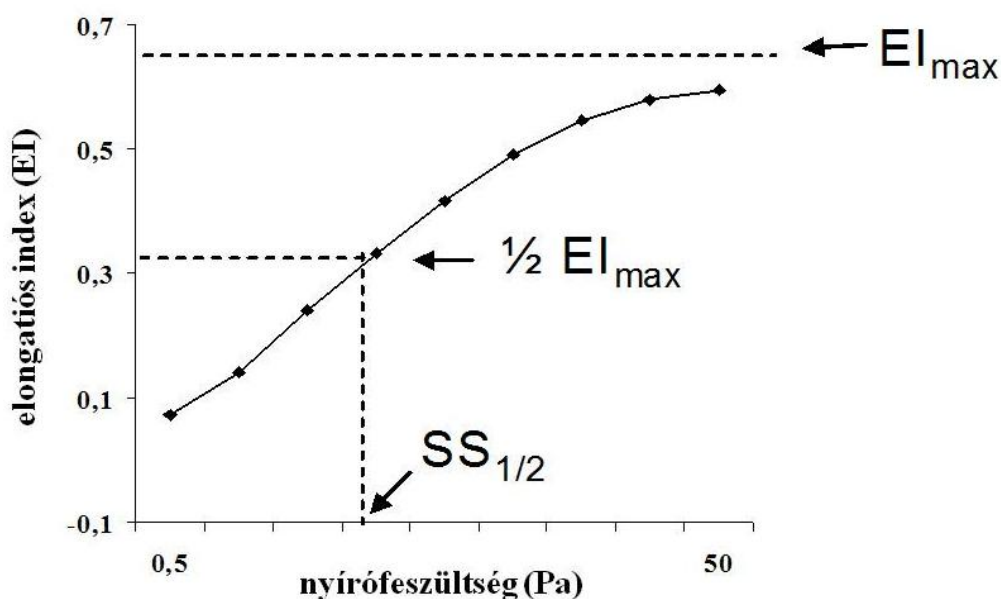
#### 4.3.1.2.1.2. Ektacytometria

A vörösvérsejt deformabilitás ektacytometria módszerével történő meghatározása során 1,5M K<sub>3</sub>-EDTA-val (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintákat használtunk. A mérések nem igényeltek a filtrometriánál bemutatotthoz hasonló minta előkészítést, a meghatározás közvetlenül a teljes vérmintából történik. A mérések során RheoScan D-200 slit-flow ektacytometert (Sewon Meditech Inc., Dél-Korea) használtuk.

A készülék a laser-diffractio technikáját kombinálja a slit-flow rheometriával (rés-áramlás). A mérések során a készülék a sejtek elnyújthatóságát vizsgálja csökkenő nyírófeszültség függvényében, amely egy jellegzetes profilt mutat [Shin és mtsai 2005].

A mérések során a vérminta közel százszoros hígításban magas viszkozitású isotoniás közegben (360 kDa polyvinylpyrrolidon oldat, viszkozitás: 20 mPa.s, pH: 7,4) egy adott nagyságú kapillárison áramlik át meghatározott nyírófeszültség (0,5-20 Pa) mellett. A kapillárison áthaladó mintában lévő vörösvérsejtek reversibilis alakváltozása során a sejtekre merőlegesen vetülő laser szóródásából kapott diffraktogramból a csatolt számítógép -a  $EI = (H - Sz)/(H + Sz)$  képlet alapján, ahol „H” a deformált sejtek hossza és „Sz” a szélessége- kiszámítja a vörösvérsejtek elongációs indexét (EI), adott nyírófeszültség mellett (SS, [Pa]).

Az eredmények egyszerűbb összehasonlítása céljából az értékelés során a Lineweaver-Burke analízis ( $1/EI = SS_{1/2} / EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$ ) segítségével (2. ábra) megadjuk a kalkulált maximális elongációs indexet ( $EI_{max}$ ) és az ennek feléhez tartozó nyírófeszültséget ( $SS_{1/2}$ ) [Baskurt és mtsa 2004].



2. ábra:  
Lineweaver-Burke analízis

EI<sub>max</sub>: maximális elongációs index, SS<sub>1/2</sub>: maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség

#### 4.3.1.2.2. Leukocytá antisedimentációs ráta meghatározása

A leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) meghatározását 0,109M Na-citráttal (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintákból határoztuk meg. Egy óra sedimentációt követően a véroszlop felső és alsó részét óvatosan szeparáltuk és az almintákból külön-külön meghatároztuk a fehérvérsejtszámot, Sysmex F-800 microcell counter használatával. A leukocytá antisedimentációs ráta meghatározását a Bogár-féle képlet segítségével végeztük el:  $LAR = 100 \times (F - A) / (F + A)$ , ahol „F” a felső almintában mért és „A” az alsó almintában mért fehérvérsejtszám [Bogár és mtsai 1997].

#### 4.3.2. Képkötő vizsgálatok

A scintigraphiás vizsgálatokat a műtéttekhez hasonlóan narcosisban, ketamin és xylazin (SBH Ketamin, Produlab Pharma B.V., The Netherlands, 10 mg/ttkg; Primazin, Alfasan International B.V., The Netherlands, 1mg/ttkg) intramuscularis alkalmazásával végeztük el.

#### 4.3.2.1. Colloid scintigraphia

A kísérleti állatoknak narcosisban 80-110 MBq aktivitású  $^{99m}\text{Tc}$ -mal jelölt Na-fyticum (Fyton, Izotóp Intézet Kft., Magyarország) került beadásra a v. cephalicán keresztül. 20 perc elteltével SPECT begyűjtést kezdtünk gamma kamerával (Cardio-C, Mediso Kft., Magyarország) "step and shoot" módban, 3 fokonként. A begyűjtés paraméterei: 64 vetület 180 fokos íven, 20 s/kép, 64\*64-es mátrix, 6,02 mm/pixel. A rekonstrukció a készülékek gyári programcsomagjával készült, szűrt visszavetítéssel. A kísérleti állatok háton fekvő helyzetben voltak a vizsgálat alatt. A beadott colloidot a reticuloendothelialis sejtek phagocytálják, így az aktivitásfokozódás a májban és a lép régiójában volt várható [Galuska 2000, Szilágyi 2002]. A felvételek megjelenítése „browser view” módban látható, a kiválasztott pontoknak megfelelően a transaxialis, sagittalis és coronalis síkokban. A vizsgálatokat a DE OEC Nukleáris Medicina Intézetben végeztük.

#### 4.3.2.2. Lép-specifikus scintigraphia

Az eljárás alapja a humán lép-specifikus scintigraphia, módosítva a beagle kutyákhoz esetében szükséges változtatásokkal [Berry és mtsai 1995]. A vörösvérsejtek jelzése a DE OEC Nukleáris Medicina Intézetben történt.

A vizsgálatokhoz 143 IU Na-heparinnal (BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintát (8-10 ml) használtunk. Elsőként a vérmintákat 700 g mellett 10 percig centrifugáltuk, majd a plazmát eltávolítottuk. A sejt szuszpenzióhoz Sn-pirofoszfátot (Pyroscint, Medi-Radiopharma Kft., Magyarország) adagoltunk úgy, hogy a szuszpenzió minden 1 ml-hez 0,012  $\text{Sn}^{2+}$  iont tartalmazó oldatot adjunk. Ezt egy 10 perces szobahőmérsékleten ( $22\pm 1$  °C) történő inkubálás követte, majd fiziologiás sóoldattal (0,9% NaCl) kétszer mostuk. A mosott vörösvérsejt szuszpenzióhoz 1 ml 370-555 mBq aktivitású  $\text{TcO}_4^-$  oldatot adunk, majd 10 percig szobahőmérsékleten történő inkubálás következett. Ezután egy 10 percig tartó 50 °C vízfürdőben történt a sejtek denaturálása. Fiziologiás sóoldatos mosást (700 g, 10 perc) követően a szuszpenziót eredeti térfogatára egészítettük ki fiziologiás sóoldattal, majd a v. cephalicán keresztül a kísérleti állatba juttattuk.

A leképezések (SPECT) narcosisban történtek a kísérleti állatok bal oldali fektetésével, kétdetektoros gamma-kamerával (AnyScanSC, Mediso Kft, Magyarország), 5 fokonként (a detektorok beállítása 180°), a vörösvérsejt szuszpenzió beadást követően 30 perc múlva. A

begyűjtés paraméterei: 64 vetület 360 fokos íven, 128\*128-as mártix, 3,25 mm/pixel. A rekonstrukció a készülék gyári programcsomagjával készült. A felvételek megjelenítése a kiválasztott pontoknak megfelelően a transaxialis, sagittalis és coronalis síkokban történt.

#### **4.3.3. Laparoscopos vizsgálatok**

Az I. kutatási fázis kísérleti állatai egy részénél a postoperatív 12. hónapban, a II. kutatási fázis kísérleti állatai egy részénél a postoperatív 24. hónapban narcosisban diagnosztikus laparoscopiát végeztünk. Ennek során alkalmunk nyílt megtekinteni az 1 illetve 2 év alatt kialakult hasi situst, identifikálhattuk a lép autotransplantatumokat és megfigyelhettük az esetleges összenövéseket.

Tekintettel a műtéteket esetlegesen követő adhaesiókra és a kutyák gótikusan ívelt bordaívére, a xyphoprocessus alatt vezettük be a Veres-tűt. A pneumoperitoneum kialakítása után 10 mm-es porton vezettünk be az optikát. Amennyiben szükséges volt, a medioclavicularis vonalban egy 5 mm-es segéd porton keresztül egy fogót vezettünk be. A beavatkozás alatt 13 Hgmm-es hasúri CO<sub>2</sub> nyomást tartottunk. Valamennyi elvégzett laparoscopia során video rögzítés és foto dokumentáció történt.

#### **4.3.4. Morphologiai vizsgálatok**

Morphologiai vizsgálataink során elvégeztük a splenectomia alkalmával eltávolított lép mintáinak és az I. fázis kísérleti állatai esetében a vizsgálat befejezését követően a postoperatív 12. hónapban, míg a II. fázis kísérleti állatai esetén a postoperatív 24. hónapban az eltávolított lép autotransplantatumok összehasonlító szövettani vizsgálatát.

A szövetminták 4%-os formalin fixálását követően felszálló alkohol soros víztelenítés, majd paraffin beágyazás következett. Ezután 3-5 µm vastagságú metszeteket készítettünk, amelyeken haematoxylin-eosin festést végeztünk a minták fénymikroszkópos szövettani vizsgálatához.

#### **4.3.5. Statisztikai analízis**

Laboratóriumi utánvizsgálatainknál az erythrocyta deformabilitás vizsgálata során kapott eredményeket átlag ± S.D. formátumban jelenítettük meg. A statisztikai analízis során Mann-Whitney rank sum tesztet és one-way ANOVA on ranks tesztet (Dunn's method) alkalmaztunk csoportokon belüli és azok közötti összehasonlításra.

A leukocya antisedimentációs ráta meghatározása során a kapott eredményeket átlag  $\pm$  S.E. formájában mutatjuk be. A kis esetszámba való tekintettel, tájékozódó jellegű összehasonlításra Mann-Whitney rank sum tesztet végeztünk.

Az eltéréseket minden esetben  $p < 0,05$  esetében tekintettük szignifikánsnak.

## **5. EREDMÉNYEK**

### **5.1. A laboratóriumi vizsgálatok eredményei**

#### **5.1.1. Haematologiai paraméterek**

A tervezett postoperatív vizsgálati protokoll részeként megtörténtek a haematologiai vizsgálatok, azonban ezek önálló részletes elemzését nem kívánjuk bemutatni.

A vörösvérsejtek jellemzésére használt paraméterek a deformabilitásnál, a fehérvérsejt vonatkozású paraméterek a LAR eredményeknél, azokkal való összefüggéseikben kerülnek prezentálásra.

Általánosságban elmondható, hogy a vizsgálatok eredményeinek elemzése során nem észleltünk olyan eltérést, mely valamely állat kapcsán szövödmény kialakulására utalt volna, vagy egy állat vizsgálatokból való kizását indikálta volna.

#### **5.1.2. Haemorheologiai paraméterek**

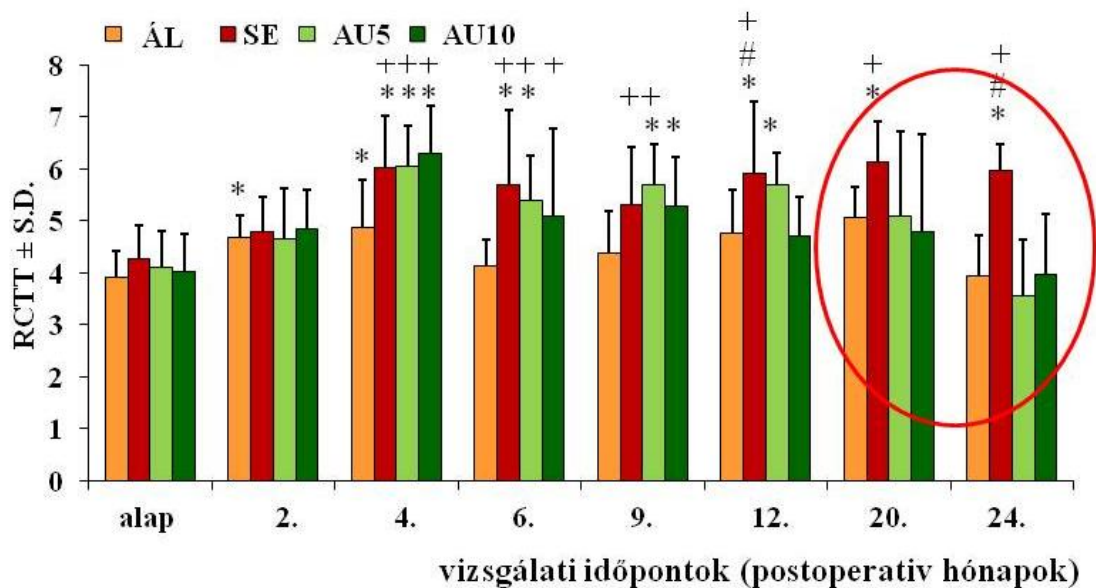
##### **5.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás**

A vörösvérsejt deformabilitás vizsgálata során, a két kutatási fázis összesített eredményeit mutatjuk be. A filtrometriás vizsgálatainkat a postoperatív 2., 4., 6., 9., 12., 20. és 24. hónapok vonatkozásában, az ektacytometriás vizsgálati eredményeinket csak a postoperatív 20. és 24. hónap tekintetében elemeztük, mivel ekkor történt meg az ektacytometer beszerzése.

Az ektacytometria ép kontrol csoport adatai a Tanszékünk adatbázisából származnak, amely valamennyi beérkező beagle kutya (n=12) esetében kötelezően elvégzendő alap haematologiai és haemorheologiai vizsgálatok eredményeiből készültek.

##### **5.1.2.1.1. Filtrometria mérési eredmények**

A 3. ábra a relatív sejt tranzit idő (RCTT) változását mutatja az idő függvényében.



**3. ábra:**

**A relatív sejt tranzit idő (RCTT) változása az idő függvényében**

$p < 0,05$  \* vs. alap, + vs. Ál, # vs. AU5 és AU10

ÁL: áloperált kontrol SE: splenectomia

AU5: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével

AU10: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével

Az alapértékek valamennyi csoportban hasonlóak voltak, ehhez képest a 2. postoperatív hónapban a relatív sejt tranzit idő (RCTT) értékek egy enyhén emelkedett, de közel azonos értéket mutattak valamennyi műtéti csoportban.

A postoperatív 4. hónapban a relatív sejt tranzit idő (RCTT) az áloperált kontrol csoportban nem változott érdemben a korábbi hónapokhoz képest, azonban a lép autotransplantatio és splenectomia csoportokban jelentős emelkedést észleltünk, amely változások szignifikánsak voltak az áloperált csoport értékéhez és az alapértékhez képest is.

A postoperatív 6. hónapban az áloperált kontrol csoportban mért relatív sejt tranzit idő (RCTT) értéke az alapérték szintjére csökkent. A splenectomia csoport esetében alig változott a korábban megfigyelt magas érték, a lép autotransplantatio csoportok kapcsán egy jelentősebb relatív sejt tranzit idő (RCTT) mérséklődést tapasztaltunk, amely a 10 lépszeletke beültetésével autotransplantált csoport esetében a legkifejezettebb. Így ezen csoportok értékei alacsonyabbak voltak, mint a splenectomia csoport értékei.

A postoperatív 9. hónapban az áloperált kontrol csoport esetében nem volt jelentősebb változás, a splenectomia csoportban csökkenést láthattunk a korábbi értékekhez képest. Az autotransplantatio csoportokban enyhe emelkedés volt megfigyelhető, így a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport relatív sejt tranzit idő (RCTT) értéke közel azonos volt, az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értéke kissé meg is haladta a splenectomia csoport értékét.

A postoperatív 12. hónapban az áloperált kontrol csoport esetén egy enyhe, a splenectomia csoport kapcsán egy jelentősebb szignifikáns emelkedést észleltünk. Az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értéke bár nem változott, de alacsonyabb maradt, mint a splenectomia csoport értéke. A 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értéke jelentősebb csökkenést mutatott az előző mérési időpontban észlelt értékekhez képest és az áloperált kontrol csoport szintjére mérséklődött.

A postoperatív 20. hónapban az áloperált kontrol csoport értéke nem változott jelentősen és a splenectomia csoport esetében az alapértékekhez képest szignifikánsan magasabb relatív sejt tranzit idő (RCTT) értéket mérhettünk. A lép autotransplantatio csoportok értékei továbbra is az áloperált kontrol csoport szintjéhez közeli értékeket mutattak.

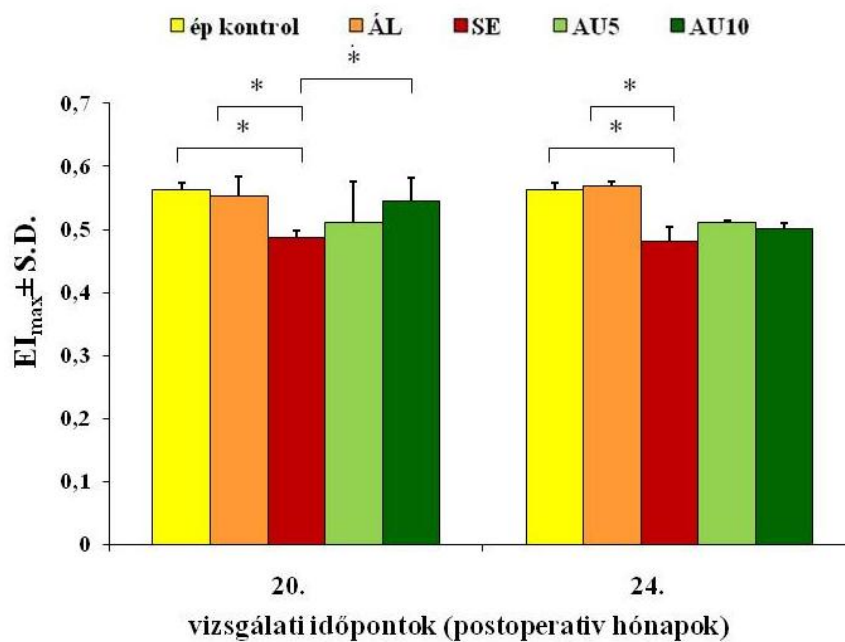
A postoperatív 24. hónapban ezen eltérések még kifejezettebbé váltak. A splenectomia csoport értéke továbbra sem változtak az előző hónapokhoz képest jelentősen, míg a lép autotransplantatio és az áloperált kontrol csoport esetében egy további mérséklődés volt megfigyelhető. Ezen utóbbi három csoport értékei így továbbra is közel azonosak maradtak, ellentétben a splenectomia csoport igen magas relatív sejt tranzit idő (RCTT) értékével.

A filtrometriás méréseink eredményeiről *összességében* elmondható, hogy a splenectomia csoportban folyamatosan egy magas relatív sejt tranzit idő (RCTT) értéket láthattunk, amíg a lép autotransplantatio csoportok kapcsán egy csökkenő tendenciát figyelhettünk meg enyhe fluktuációval. Látható volt továbbá, hogy a lép autotransplantatio csoportok értékei az

áloperált kontrol csoport értékeit közelítik a postoperatív 6. hónaptól kezdődően, melynek eredményeként a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értékei a postoperatív 12. hónaptól, az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értékei a postoperatív 20. hónaptól el is érik azt. A postoperatív 12. hónaptól már igen kifejezett szignifikáns különbség látható a splenectomia és a lép autotransplantatio csoportok között, mely utóbbiak az áloperált csoport értékeivel azonos alacsony értékeket mutatnak, szemben a splenectomia csoport igen magas értékeivel.

#### 5.1.2.1.2. Ektacytometria mérési eredmények

Az ektacytometriás méréseink eredményeit a 4. és 5. ábra tartalmazza.



4. ábra:

**A maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) változása az idő függvényében**

$p < 0,05$  \* vs. alap

ÁL: áloperált kontrol SE: splenectomia

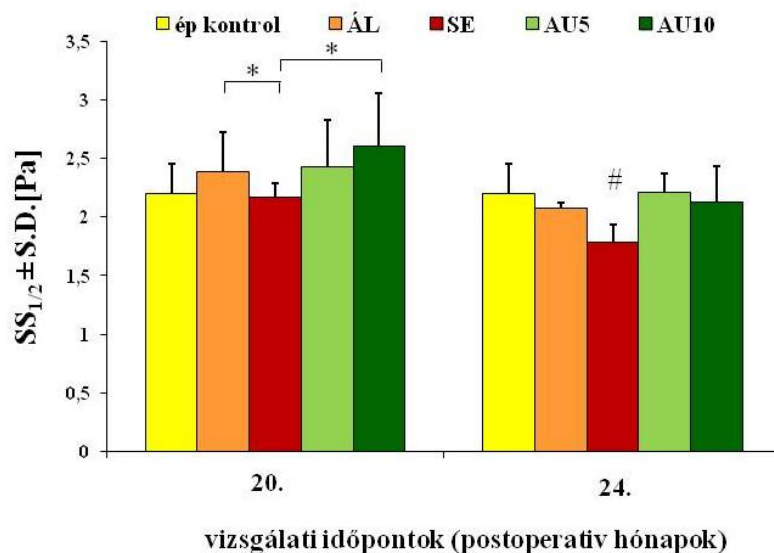
AU5: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével

AU10: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével

A postoperatív 20. és 24. hónapokban az elongációs index-nyírófeszültség görbék profilja a splenectomia csoportokban a szokásostól eltérő és a lép autotransplantatio csoportokétól is különböző lefutást mutatott. Bár a görbe meredeksége enyhén magasabb volt a splenectomia

csoportban, mint a lép autotransplantatio csoportokban, de 5-6 Pa nyírófeszültség felett mégis megközelítette, vagy akár el is maradt ezekhez a csoportokhoz képest. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index mindkét mérési időpontban szignifikánsan alacsonyabb volt, mind a splenectomia, mind a lép autotransplantatio csoportokban az áloperált csoporthoz képest (postoperatív 20. hó:  $\bar{A}L$ :  $0,319 \pm 0,02$ , SE:  $0,288 \pm 0,01$ ; AU5:  $0,287 \pm 0,02$ ; AU10:  $0,27 \pm 0,02$ ; postoperatív 24. hó:  $\bar{A}L$ :  $0,346 \pm 0,01$ ; SE:  $0,307 \pm 0,01$ ; AU5:  $0,302 \pm 0,01$ ; AU10:  $0,301 \pm 0,02$ ).

A kalkulált maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) mindkét mérési időpontban a splenectomia csoportban volt a legalacsonyabb. Ez a különbség szignifikánsnak mutatkozott az ép kontrol, valamint az áloperált kontrol csoportok értékeihez képest, illetve a postoperatív 20. hónapban a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoporthoz képest is. Az áloperált kontrol csoport értékei közel azonosak voltak az ép kontrol csoport értékeivel, a lép autotransplantatio csoport értékei ennél valamelyest alacsonyabbak voltak, de a splenectomia csoport értékénél magasabbnak bizonyultak.



**5. ábra:**

**A maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$ ) változása az idő függvényében**

$p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. összes csoport

ÁL: áloperált kontrol SE: splenectomia

AU5: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével

AU10: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével

A kalkulált maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$ ) értékek esetében is hasonló képet láthatunk a két vizsgálati időpontunkban. A legalacsonyabb értéket a splenectomia csoport kapcsán mérhettük minden esetben, ez a különbség szignifikáns az ép kontrol és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoporthoz képest a postoperatív 20. hónapban, illetve mindkét lép autotransplantatio csoporthoz képest a postoperatív 24. hónapban. A kontrol csoportok és a lép autotransplantatio csoportok közel azonos értékeket mutattak a mérések során mindkét időpontban.

### **5.1.2.2. Leukocytá antisedimentációs ráta**

Mivel a leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) állatkísérletes modellben történő meghatározásáról irodalmi adatok nem álltak rendelkezésünkre, a normál érték meghatározása érdekében a vizsgálatot elvégeztük a Tanszéken a vizsgálatok idejében tartott 10 egészséges beagle kutyán ( $12,1 \pm 1,243$  kg), illetőleg az eredményeinket a fehérvérsejtszám változásának megfigyelésével együttesen értékeltük ki.

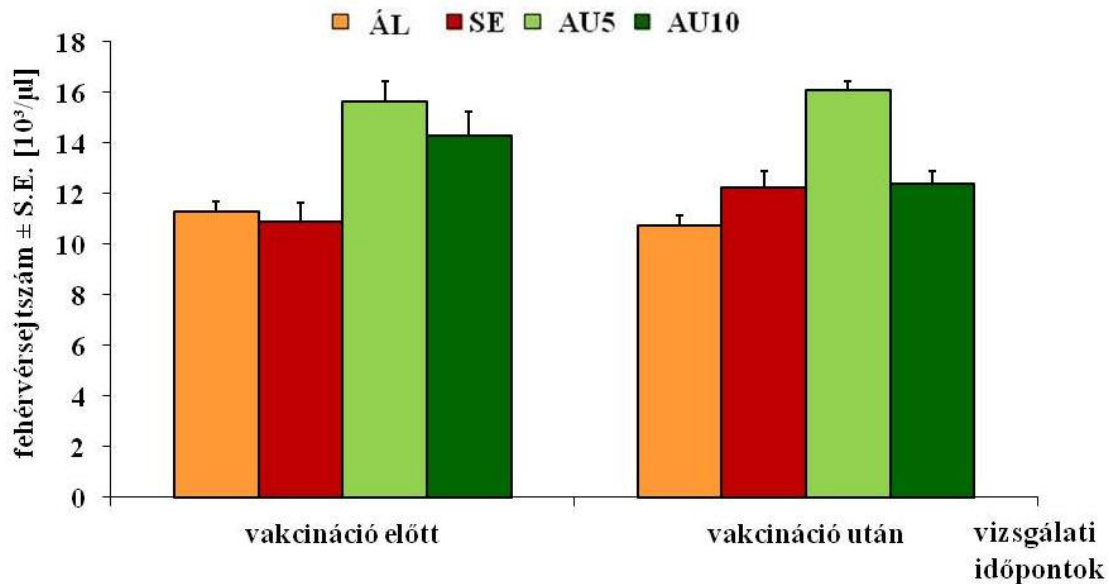
Az egészséges kontrol csoportban a leukocytá antisedimentációs ráta értéke  $-3,8\%$  és  $10,3\%$  között változott (átlagosan:  $3,11 \pm 1,18\%$ ), miközben a fehérvérsejtszám tekintetében  $8,0$  és  $16,8 \times 10^3/\mu\text{l}$  (átlagosan:  $12,04 \pm 0,56 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) közötti értékeket regisztráltunk.

A 6. ábrán láthatóak a fehérvérsejtszám értékek a vakcináció előtt és azt követően 1 hét múlva a különböző kísérleti csoportokban.

A postoperatív 1. év végén a vakcinációt megelőzően a fehérvérsejtszám a splenectomia csoportban ( $10,9 \pm 0,74 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) közel azonos volt az áloperált kontrol csoportéhoz képest ( $11,27 \pm 0,4 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). A lép autotransplantatio csoportokban ennél magasabb, de a normál határon belüli értékeket észleltünk (AU5:  $15,63 \pm 0,78 \times 10^3/\mu\text{l}$ ; AU10:  $14,27 \pm 0,98 \times 10^3/\mu\text{l}$ ).

Vakcinációt követően az áloperált kontrol csoport ( $10,74 \pm 0,41 \times 10^3/\mu\text{l}$ ) és az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értéke nem változott jelentősen

( $16,08 \pm 0,34 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ). A splenectomia és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport esetében (SE:  $12,23 \pm 0,66 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ; AU10:  $12,41 \pm 0,48 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ) egy enyhe csökkenést figyelhettünk meg a vakcináció előtti állapothoz képest.



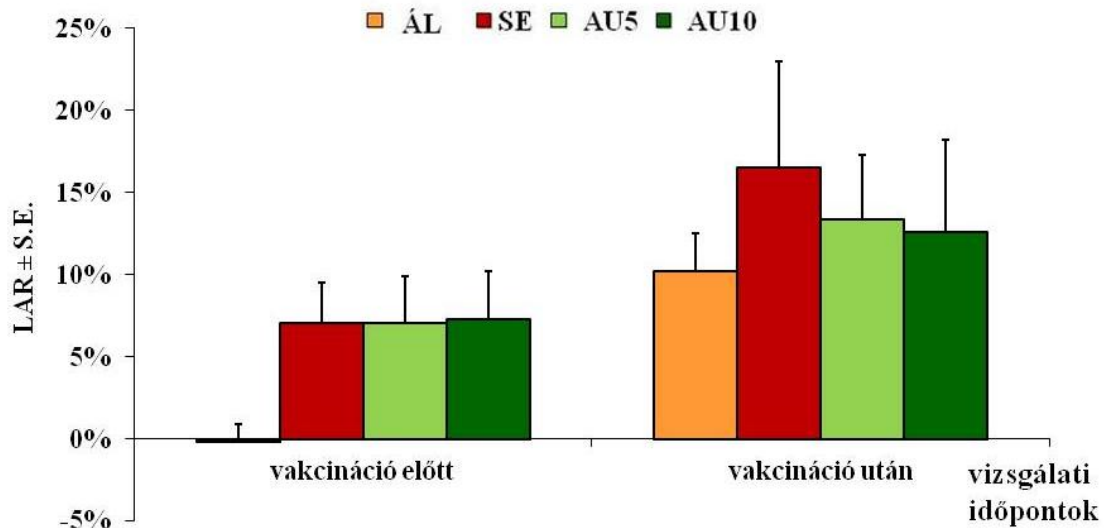
**6. ábra:**  
**A fehérvérsejtszám változása az idő függvényében**  
 ÁL: áloperált kontrol SE: splenectomia  
 AU5: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével  
 AU10: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével

A 7. ábrán látható a leukocytá antisedimentációs ráta értékeinek változása a vakcinációt megelőzően és azt követően.

A vakcinációt megelőző mérés kapcsán a legalacsonyabb értéket az áloperált kontrol csoportban mértük ( $-0,21 \pm 1,09\%$ ), a többi csoport ennél magasabb, közel azonos értéket mutatott (SE:  $7,06 \pm 2,43\%$ ; AU5:  $7,05 \pm 2,85\%$ ; AU10:  $7,31 \pm 2,93\%$ ). Valamennyi érték az ép kontrol csoportban tapasztalt határokon belül található.

A vakcinációt követően, valamennyi csoportban a leukocytá antisedimentációs ráta emelkedését láhattuk, azonban ez a változás nem azonos mértékű volt a különböző csoportok esetében. A splenectomia csoport kapcsán mérhettük a legmagasabb értéket ( $16,56 \pm 6,4\%$ ) és itt volt legnagyobb a változás is vakcináció előtti értékhez képest, annak ellenére, hogy a

fehérvérsejtszám tekintetében nem tapasztaltunk ilyen mértékű változást. Az autotransplantatio csoportokban a növekedés nem volt ilyen kifejezett, de szintén emelkedés volt megfigyelhető a vakcináció előtti állapothoz képest (AU5: 13,34±3,95%; AU10: 12,62±5,62%).



**7. ábra:**

**A leukocita antisedimentációs ráta (LAR) változása az idő függvényében**

ÁL: áloperált kontrol SE: splenectomia

AU5: lép autotransplantatio 5 lépszeletke visszaültetésével

AU10: lép autotransplantatio 10 lépszeletke visszaültetésével

## 5.2. A képkötő vizsgálatok eredményei

### 5.2.1. Colloid scintigraphia

A vizsgálat egy áloperált, illetve egy-egy 5 és 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állat esetében került elvégzésre az I. fázis kísérleti állatai közül, a postoperatív 12. hónapban.

Az áloperált kontrol állat (kísérleti állat jelzése: ÁL-3 [99]) felvételén (8. ábra) látható, hogy mindhárom síkban készült metszeten a legnagyobb aktivitást a máj mutatta.

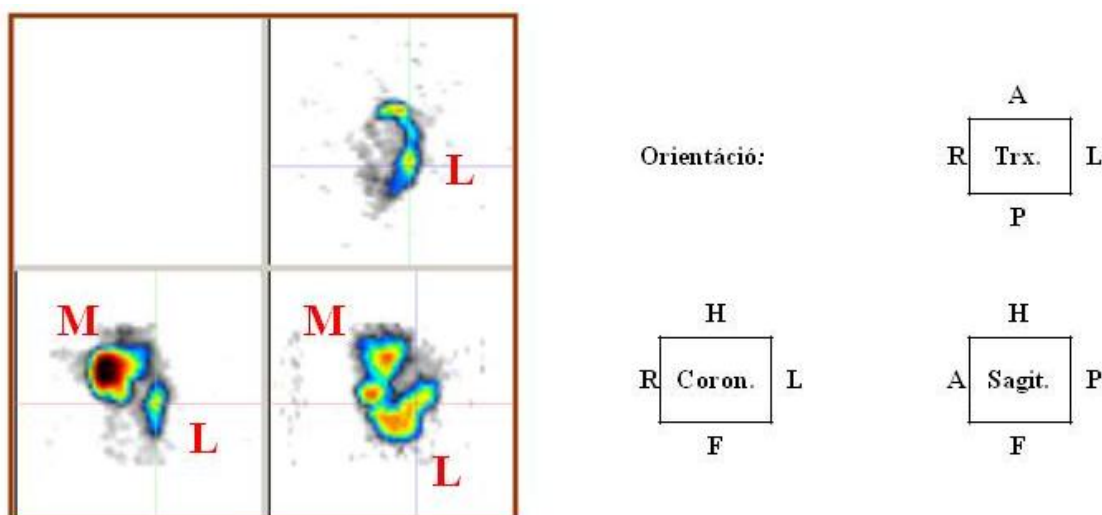
A lép valamennyi síkban készült metszeten, a szokványos helyen, kis aktivitással ábrázolódt.



8. ábra:

Áloperált kontrol állat colloid scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel a 12. postoperatív hónapban (I. fázis, kísérleti állat jelzése ÁL-3 [99])

A 9. ábrán válogatott felvételeken kívánjuk bemutatni a máj és a lép régiójában megfigyelt aktivitásokat.

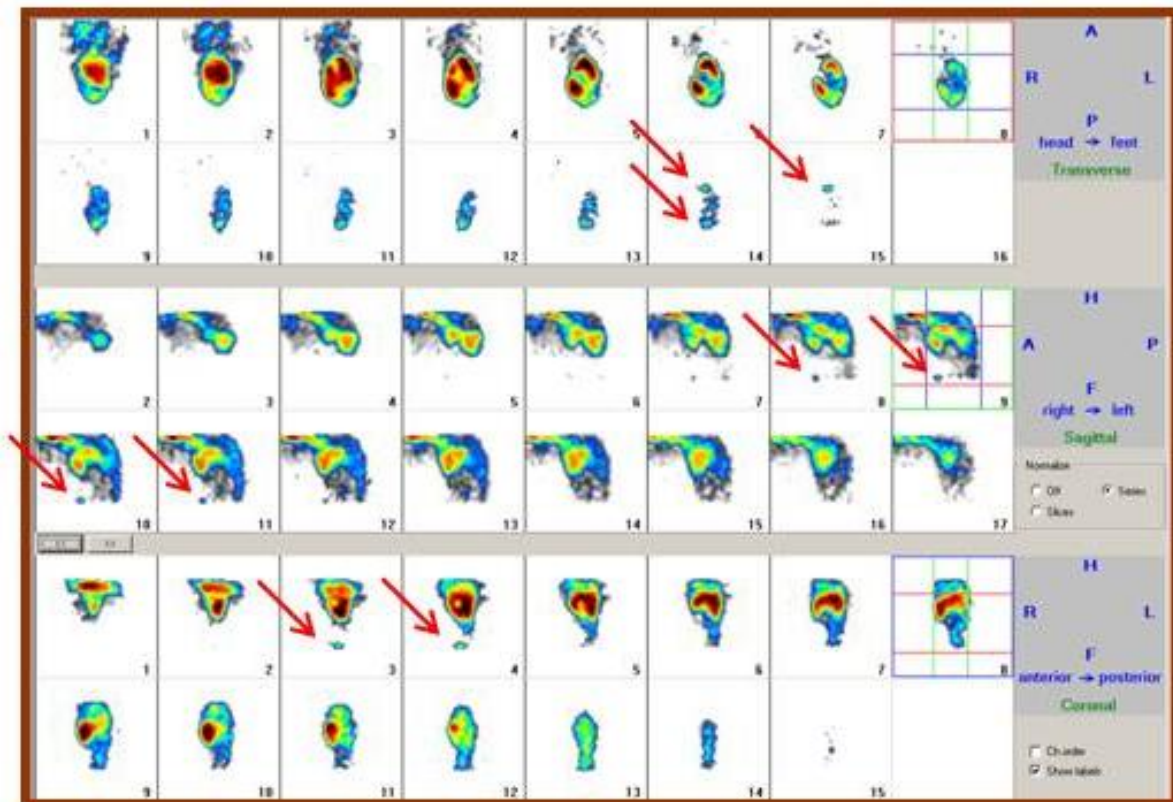


9. ábra:

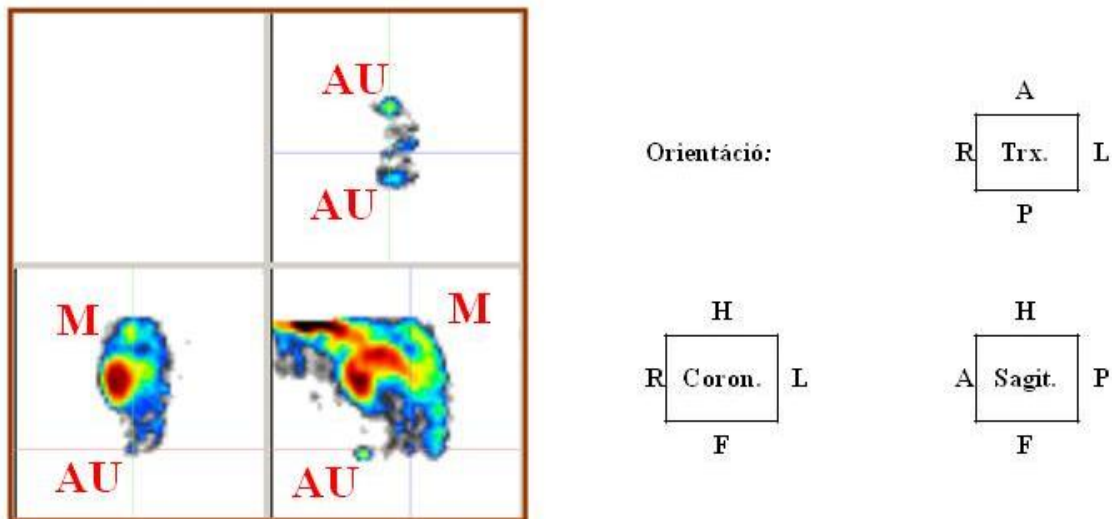
Áloperált kontrol állat colloid scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel a 12. postoperatív hónapban, válogatott metszetekkel bemutatva  
M: máj, L: lép (I. fázis, kísérleti állat jelzése ÁL-3 [99])

Azon állat esetében, ahol a lép autotransplantációt követően 5 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU5-3 [110]), a scintigraphiás vizsgálat során a transzplantatumok nem mutattak aktivitást, csak a máj állománya.

Azon állat esetében, ahol a lép autotransplantációt követően 10 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU10-2 [128]), a scintigraphiás vizsgálat során a legnagyobb aktivitást valamennyi síkban készült metszeten szintén a máj mutatta. A cseplesz régiójában pontszerű dúsulások voltak azonosíthatóak, amelyek feltételezhetően a beültetett lépdarabkák reticuloendothelialis sejtjeinek phagocytá működését jelezték. A 10. ábra a teljes scintigraphiás felvételt, az 11. ábra a válogatott metszeteket mutat be, ahol egyértelműen megfigyelhetőek a lép autotranszplantatumoknak véleményezett dúsulások.



**10. ábra:**  
**Tíz lépszeletke visszahelyezésével autotranszplantált állat colloid scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel a 12. postoperatív hónapban**  
 (I. fázis, kísérleti állat jelzése AU10-2 [128])  
 A lép autotranszplantatumokra nyíl mutat.



**11. ábra:**

**Tíz lépszellet visszahelyezésével autotransplantált állat kolloid scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel a 12. postoperatív hónapban, válogatott metszeteken bemutatva**  
M: máj, AU: lép autotransplantatum (I. fázis, kísérleti állat jelzése AU10-2 [128])

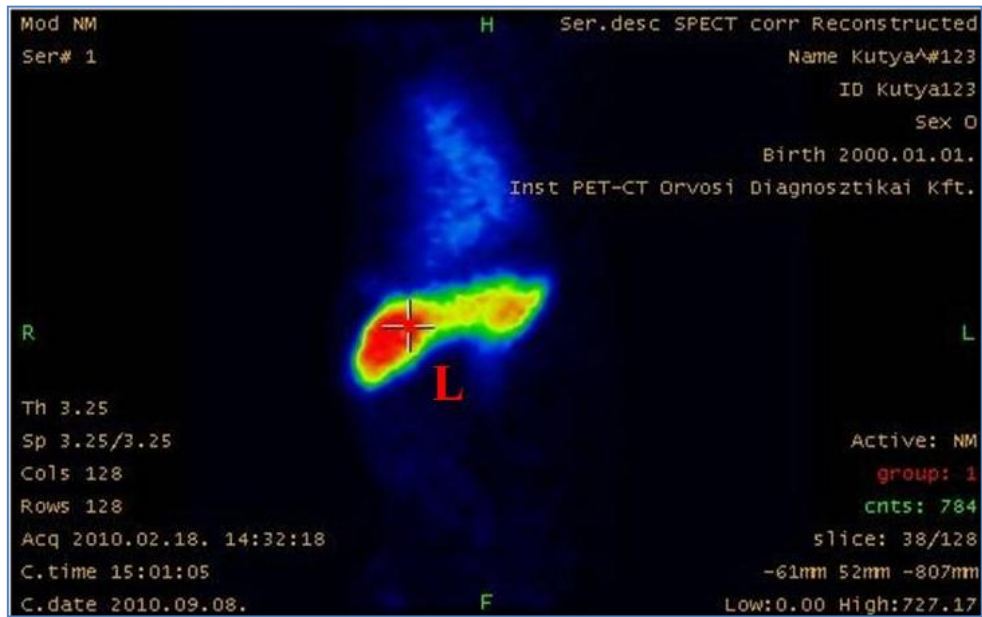
### 5.2.2. Lép-specifikus scintigraphia

A vizsgálat itt is egy áloperált, illetve egy-egy 5 és 10 lépszelletke visszaültetésével autotransplantált állat esetében került elvégzésre, az I. fázis már korábban jelzett túlélő állatain a postoperatív 56. hónapban. Az autotransplantált kísérleti állatok azonosak voltak a colloid scintigraphia vizsgálati eredményeiben bemutatott kísérleti állatokkal.

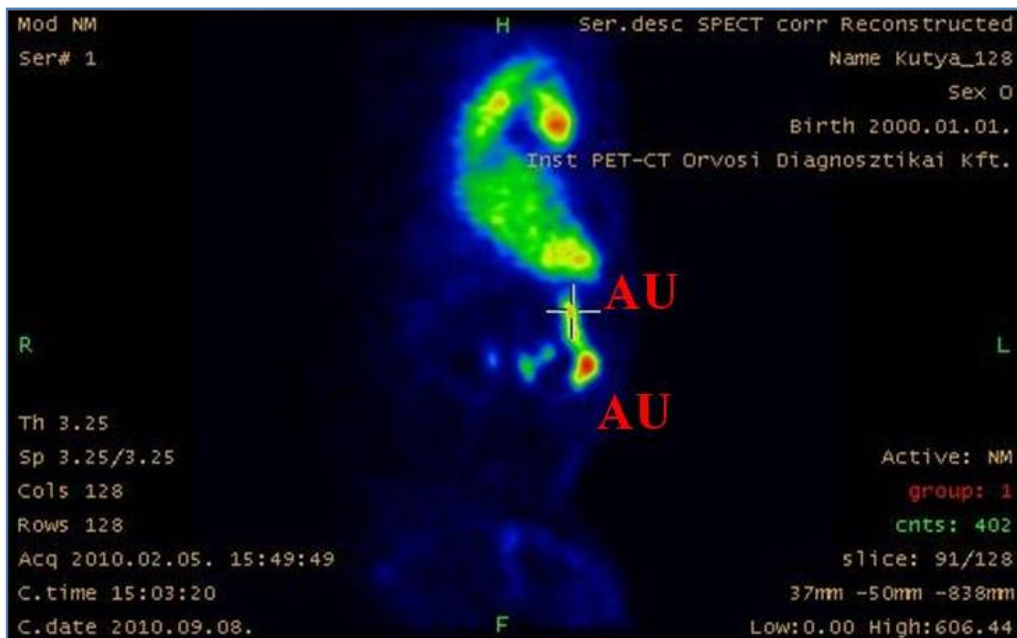
A áloperált állat esetében (kísérleti állat jelzése: ÁL-2 [123]) a felvételeken a legnagyobb aktivitást a lép mutatja, amely a szokványos helyen ábrázolódott. (12. ábra)

Azon állatnál, ahol az autotransplantációt követően 5 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU5-3 [110]) a felvételeken nem sikerült azonosítani a lépszeltekeknek megfelelő aktivitást, dúsulás a mellkasi szervek és nagyerek régiójában volt megfigyelhető.

Azon állat esetében, ahol az autotransplantációt követően 10 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU10-2 [128]), egyrészt a mellkasi régióban figyelhető meg egy összefüggő, nagy aktivitású terület -az áloperált állathoz hasonlóan-, azonban a cseplesz régiójában is jól körülhatárolható dúsulásokat találtunk, melyek megbízhatóan jelzik a lép autotransplantatumok működését. (13. ábra)



**12. ábra:**  
**Áloperált kontrol állat lép-specifikus scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel az 56. postoperatív hónapban**  
 L: lép (I. fázis, kísérleti állat jelzése ÁL-2 [123])



**13. ábra:**  
**Tíz lépszeletke visszahelyezésével autotransplantált állat lép-specifikus scintigraphiás vizsgálata során készült felvétel az 56. postoperatív hónapban**  
 AU: lép autotransplantatum (I. fázis, kísérleti állat jelzése AU10-2 [128])

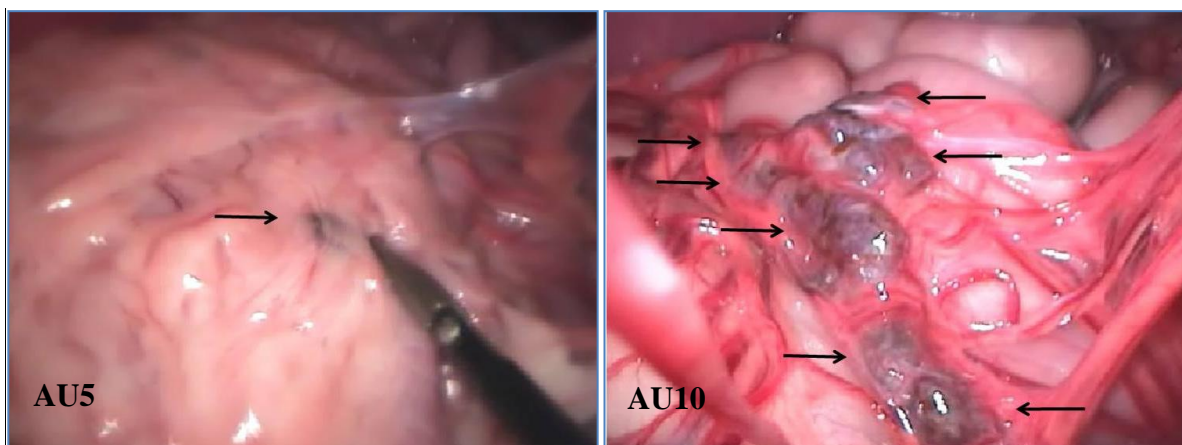
### 5.3. A laparoscopos vizsgálatok eredményei

Az I. fázis során a postoperatív 12. hónapban azon három kísérleti állat esetében -áloperált, 5 és 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált- végeztünk diagnosticus laparoscopiát, melyeken a colloid scintigraphia vizsgálat is történt.

Az áloperált kontroll állatnál (kísérleti állat jelzése: ÁL-3 [99]) elvégzett diagnosztikus laparoscopia során jól látható volt az átlagos nagyságú lép, a megszokott anatómiai helyzetben.

Azon állat esetében, ahol az autotransplantatio során 5 lépszeletke került beültetésre (kísérleti állat jelzése: AU5-3 [110]) a diagnosticus laparoscopia során egy lépszeletke volt fellelhető a nagyceplesz lemezei között. A hasüregben számottevő adhaesiót nem találtunk (14. ábra).

Ahol az autotransplantati során 10 lépszeletke került beültetésre (kísérleti állat jelzése: AU10-2 [128]) a diagnosticus laparoscopia során a beültetett lép autotransplantatumok közül valamennyi megtalálható volt. A felvételeken megfigyeltük az egyes transplantatumok vérellátást is. A hasüregben számottevő adhaesiót ez esetben sem találtunk (14. ábra).



**14. ábra:**

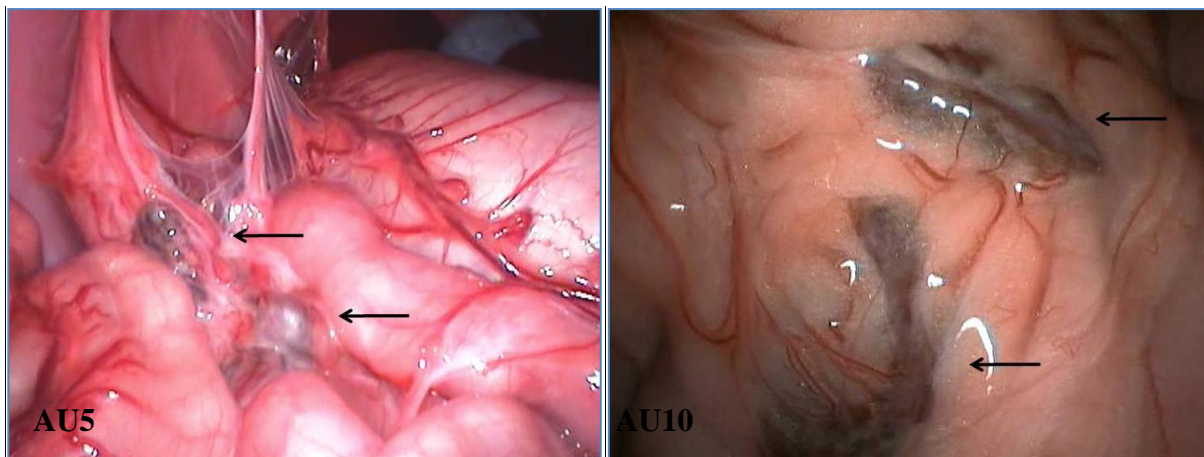
**Öt (AU5) és 10 lépszeletke (AU10) visszahelyezésével autotransplantált állat esetében a 12. postoperatív hónapban végzett diagnosticus laparoscopia során készült felvétel (I. fázis, kísérleti állatok jelzése: AU5-3 [110], AU10-2 [128])**

A lép autotransplantatumokra nyíl mutat.

A II. fázis során a postoperatív 24. hónapban került sor a diagnosticus laparoscopiára az autotransplantatio csoportok valamennyi, illetőleg az áloperált kontrol és splenectomia csoport 2-2 kísérleti állatán. A eredményeink bemutatása céljából az autotransplantált csoport 1-1 kísérleti állatán végzett beavatkozás során készült felvételekből kiemelt képeket mutatjuk be.

Az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált (kísérleti állat jelzése: AU5-1 [41]) kísérleti állat esetében 4 lépszeletke volt azonosítható a nagycepleszben, érellátásuk fejlettnek mutatkozott. Az autotransplantatumok közelében borsónyi splenosis azonosítható. A hasüregben minimális adhaesiót tapasztaltunk (15. ábra).

A 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált (kísérleti állat jelzése: AU10-3 [31]) kísérleti állaton végzett beavatkozás során valamennyi lép autotransplantatum azonosítható volt, fészek-szerű elrendeződést mutatva. A hasüregben nem volt tapasztalható számottevő adhaesio (15. ábra).



**15. ábra:**

**Öt (AU5) és 10 lépszeletke (AU10) visszahelyezésével autotransplantált állat esetében a 24. postoperatív hónapban végzett diagnosticus laparoscopia során készült felvétel (II. fázis, kísérleti állatok jelzése AU5-1 [41], AU10-3 [31])  
A lép autotransplantatumokra nyíl mutat.**

A többi kísérleti állatokon elvégzett diagnosticus laparoscopia során, egy esetet kivéve, valamennyi lép autotransplantatum azonosítható volt és egy esetben sem találtunk számottevő

adhaesiót. Az II. táblázatban látható a II. fázis egyes kísérleti állatai esetében azonosított lép autotransplantatumok száma és főbb jellemzőik.

Az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatok közül, a bemutatott esetet leszámítva valamennyi beavatkozás során sikerült látótérbe hozni valamennyi beültetett lépszeletkét. Ezek többségében jól fejletteknek látszottak, egyedül egy kísérleti állat kapcsán (kísérleti állat jelzése: AU5-3 [40]) észleltünk 2 atrophizálnak tűnő autotransplantatumot, melyek környezetében egy feltűnően jól fejlett lépszeletke is megfigyelhető volt.

**II. táblázat:** A II. fázis kísérleti állataiban a diagnosticus laparoscopia során azonosított lép autotransplantatumok száma és jellemzőik

<b>kísérleti állat jelzése</b>	<b>lép autotransplantatumok száma (db)</b>
AU5-1 [41]	4 (1 splenosis)
AU5-2 [38]	5 (3 conglomeratumban van együtt)
AU5-3 [40]	5 (1 jól fejlett, 2 atrophizált)
AU5-4 [39]	5 (jól regenerált mind)

<b>kísérleti állat jelzése</b>	<b>lép autotransplantatumok száma (db)</b>
AU10-1 [33]	10 (koszorúban, jól regeneráltak)
AU10-2 [35]	10 (1 splenosis, jól ereztettek)
AU10-3 [31]	10 („fészek”-szerű, jól fejlettek)
AU10-4 [32]	8 (atrophizáltak)

A 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatok között összességében 3 esetben valamennyi lépszeletke azonosítható volt, igen fejlett érellátással. Egy kísérleti állat kapcsán (kísérleti állat jelzése: AU10-4 [32]) csak 8 autotransplantatum volt megtalálható, melyek kissé hypophizálnak látszódtak.

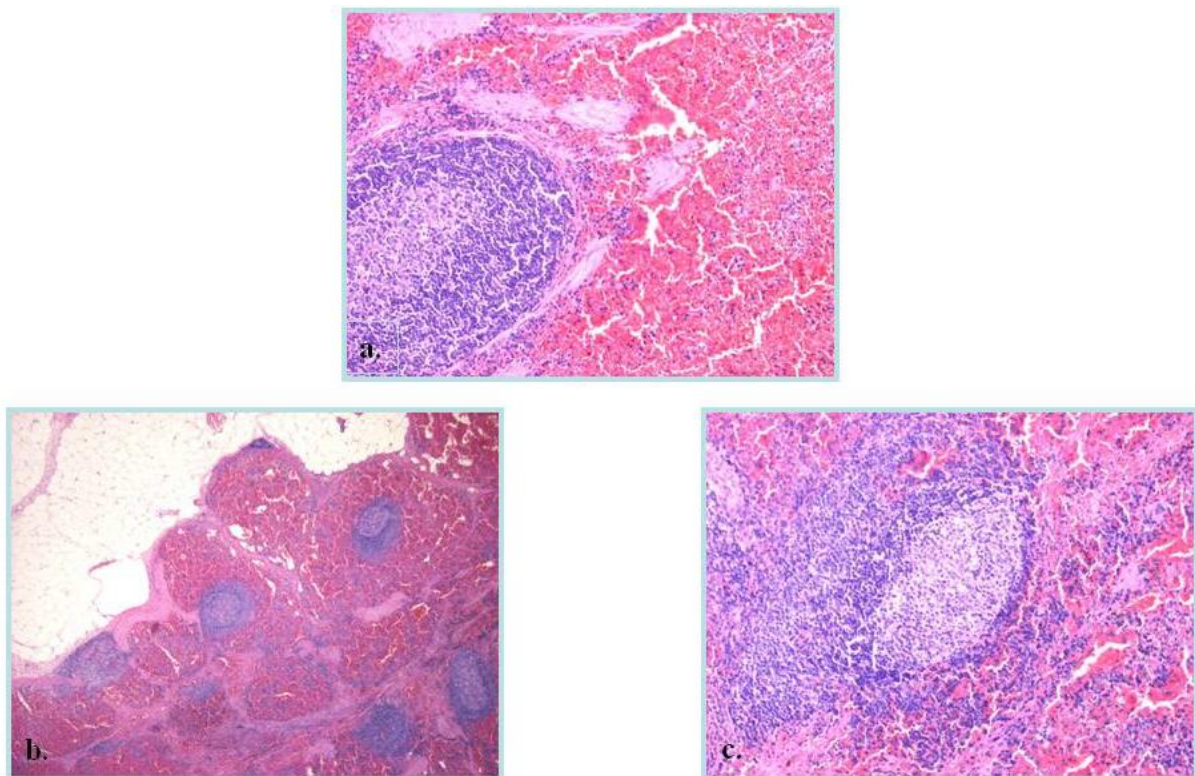
Splenosis mindkét autotransplantált csoportban egy-egy kísérleti állat esetében volt megfigyelhető (kísérleti állatok jelzései: AU5-1 [41], AU10-2 [35]).

#### 5.4. A morfológiai vizsgálatok eredményei

Az I. fázis kísérleti állatainak esetében a splenectomia során eltávolított lép mintákat, majd a 12 hónapos utánkövetési idő végén a lép autotransplantátumokat is szövettanilag feldolgoztuk. Eredményeinket az AU10-3 [109] jelzésű kísérleti állat kapcsán szemléltetjük.

Látható a normál lép szövettani képe szabályos follicularis és trabecularis szerkezettel (16.a. ábra). A transplantátumból készített metszeteken már 40X nagyításon is jól fejlett folliculusokat, bevezetett vörös pulpát és kissé rendezetlen trabecularis állományt láthatunk (16.b. ábra). A nagyobb nagyítással készült felvételen szintén ehhez hasonló kép látható (16.c. ábra).

Valamennyi kísérleti állat esetében készült értékelés ehhez hasonló képet mutatott. Azaz megállapítható, hogy a regenerálódott „kis lépek” szövettani szerkezete az ép léphez hasonló.



**16. ábra:**

**Az eltávolított lépből illetve postoperatív 12. hónapban, a követési idő végén eltávolított transplantátumokból készített szövettani minták haematoxylin-eosin festéssel:**

**a.** ép lépállomány (200X), **b.** lép autotransplantátum (40X), **c.** lép autotransplantátum (200X)  
(I. fázis, kísérleti állat jelzése AU10-3 [109])

## 6. MEGBESZÉLÉS, ÚJ EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

### 6.1. Megbeszélés

A korszerű chemo-, és immunprofilaxis ellenére a traumás lépsérülések sebészi megoldásaként felmerülő lépeltávolítás lehetséges szövődményei -mint a postsplenectomiás sepsis, az OPSI syndroma, DIC, thromboembolia- napjainkban is komoly problémát jelenthetnek, melyek megelőzésében a lépmeztartó eljárások igen fontosak lehetnek.

A lép autotransplantatio -mint egyik lépmeztartó mütéti módszer- hatásosságát tekintve a szakirodalom nem képvisel egységes álláspontot, de abban mindenképpen egyetértenek, hogy súlyos szövődmények csak azért nem fordulnak elő nagy arányban, mert a traumás lépsérüléseket követően igen gyakran megfigyelt splenosis képes, hacsak részben is megőrizni a lépfunckiókat [Pisters és mtsa 1994, Khosravi és mtsai 2004, Young és mtsai 2004].

Jelen munkában -kapcsolódva a DE OEC Sebészeti Mütéttani Tanszéken folyó több mint 20 éves lépsebészeti kutatási programhoz- hosszú távú követésre is alkalmas, inbred, nagy laboratóriumi állatokon végeztük vizsgálatainkat. [Mikó és mtsai 2007]. Ez a beltenyészett, homogén állatcsoport lehetővé tette, egy megvalósított újabb kísérletsorozatban saját kutatási feltételeink, illetve kiszélesedett kollaborációs lehetőségeink révén egy olyan komplex vizsgálati protokoll beállítását, amelynek segítségével a splenectomiát illetve lép autotransplantatiót követő/követhető aspleniás-hyospleniás állapotok esetleges késői szövődményei és ezen megváltozott állapotok okozta hatások is eredményesen vizsgálhatóvá válhattak.

Az aspleniás-hyospleniás állapotoknak jelentős haemorheologiai vonatkozásai vannak. Ezek a változások a filtrációs funckiók teljes vagy részleges elvesztésére vezethetőek vissza, de jelezhetik a különböző szövődmények, mint a fertőzések, sepsis, disseminált intravasculáros coagulatio (DIC) vagy egyéb thromboemboliás események megjelenését.

A splenectomiát követő változások már korábbról is ismertek, közöttük a vér összetételére vonatkozóak is, melyek során a teljes vér viszkozitása jelenősen emelkedettnek mutatkozott lépeltávolítást követően [Robertson és mtsai 1981]. A különbségek nem voltak visszavezethetőek teljes mértékben a plasma viszkozitás és a fibrinogén szintek változására, azonban a vörösvérsejt deformabilitás jelentős különbségeket mutatott a lépeltávolított és az egészséges populáció között. A lép filtrációs funkciójának elvesztésére utalt az a megfigyelés is, hogy splenectomiát követően megnövekedett a keringő vérben az abnormális erythrocyták száma. Ezek a normáltól eltérő formák lehetnek különböző alakbeli eltérések, adódhatnak a felszín térfogat arány megváltozásából, de megjelenhetnek öreg és rigid vörösvérsejtek, valamint inclusiákat (Howell-Jolly testek, Heinz-testek, sideroid granulomok) tartalmazó sejtek [Crosby 1977, Robertson és mtsai 1981, William és mtsa 1990].

Tanszékünkön a korábbi keverék állatokon és inbred egereken kialakított modellek alkalmazásával az erythrocyta deformabilitásban bekövetkező jelentős változások már ismertté váltak. A laboratóriumi vizsgálataink utaltak az erythrocyta deformabilitás jelző szerepére az aspleniás-hypospleniás állapotok követése során, a haematologiai és haemostasis paraméterek, valamint az általános klinikai állapot figyelembe vétele mellett [Mikó és mtsai 2007].

A korábbi eredmények arra utaltak, hogy az autotransplantált lépszeletek hozzávetőleg 4-6 hónapot igényelnek a regenerációhoz, és ezt követően is egy periodicitás volt megfigyelhető a működésük vonatkozásában keverék kutyák esetében [Mikó és mtsai 1994, 2007]. Inbred egerek esetében szintén rosszabb deformabilitás volt tapasztalható splenectomiát követően a kontrol csoportokhoz viszonyítva, miközben az autotransplantatio csoportban irregularis periodicitással a deformabilitás javulása volt észlelhető. Ezek az eredmények megerősítették és összhangban voltak azzal a korábbi megállapítással, hogy a lép autotransplantatio a

filtrációs funkció részleges helyreállítására alkalmas lehet, és egy funkcionális periodicitást mutat [Furka és mtsai 1990, Mikó és mtsai 2007].

A másik lehetséges magyarázata a splenectomiát követő haemorheologiai változásoknak az esetleges postoperatív szövődmények megjelenésének a lehetősége, amelyek közül a legrettegettebb továbbra is az OPSI syndroma [King és mtsai 1952, Trunkey és mtsai 1997, Hansen és mtsai 2001, Waghorn 2001].

A sepsist követő jellegzetes haemorheologiai változások jól ismertek, ezért felmerült ezen paraméterek jelző szerepe egy septicus folyamat esetében az aspleniás-hypospleniás betegek körében. A sepsis önmagában is átrendezi a normál microkeringési viszonyokat, amely változásokban szerepe lehet a rigid vörösvérsejteknek is. Ez a folyamat további micro-rheologiai változásokhoz vezethet. A haemodinamikai változások, szív és érrendszeri hatások, a disseminált intravasculáris coagulatio (DIC), localis szöveti változások és neutrophil leukocytákkal megerősített útvonalak mind hozzájárulhatnak az erythrocyta deformabilitás további romlásához és a növekvő vörösvérsejt aggregációhoz a gyulladásos válasz és a sepsis során [Hurd és mtsai 1988, Baskurt és mtsai 1998, Sordia és mtsai 2006, Moutzouri és mtsai 2007].

A jelen értekezésben bemutatott eredményeink igazolták, hogy a vörösvérsejt deformabilitás szignifikánsan rosszabb még 2 évvel a splenectomia után is, szemben a lép autotransplantációt követő állapottal. Bár a lép autotransplantátumok működésében egy irregularis periodicitás megfigyelhető volt, de az a változásokat összességében értékelve belátható, hogy lép autotransplantációt követő állapotok vörösvérsejt deformabilitás tekintetében közelítik a normál státust, mely a filtrációs funkciók legalább részleges megőrzéséről tanúskodnak. A változások és az azon belül tapasztalt ingadozások hátterében két fő ok állhat: elsőként az általános változások a filtrációs funkció változásában, amelyek ideiglenesen megváltoztathatják a rigid és normáltól eltérő vörösvérsejtek számát a keringő vérben, illetve másrészt a különböző szövődmények lehetőségei folyamányaként, úgy mint

sepsis, fertőzések, disseminált intravasculáris coagulatio (DIC) és thromboemboliás komplikációk, melyek a vér micro-rheológiai paramétereinek a módosulásához vezethetnek.

A vizsgálatok során két módszert, a filtrometriát és az ektacytometriát párhuzamosan alkalmaztuk sikerrel hypothesisünk igazolására. A két különböző methodika egymást erősítve nyújtott további információkat az aspleniás-hypospleniás állapotokban kialakult haemorheológiai viszonyokról.

Érdemes még megjegyezni, hogy míg a filtrometria módszerének alkalmazása során eredményként kapott dimenzió nélküli paraméterek összehasonlításával viszonylag egyértelmű összehasonlítás végezhető el, addig a slit-flow ektacytometria során görbék kell összevetnünk. Az elongációs index - nyírófeszültség görbe értékelését nagy mértékben meghatározza a görbe lefutása, a vizsgált nyírófeszültség-tartomány és maga az alkalmazott görbe analízis is. Bár jelen munkában a Lineaweaver-Burke analízist alkalmaztuk a görbék összehasonlítása érdekében, de természetesen más módszerek is alkalmasak lehetnek az értékelésre és a különböző módszerekkel akár a görbék közötti kisebb eltérések is könnyebben összevethetőek lehetnek [Baskurt és mtsai 2009].

A fent említett haemorheológiai változásokon túl, a lépeltávolításnak jelentős és jellegzetes hatása van az immunrendszerre is [Stiehm és mtsai 1997, Hansen és mtsai 2001, Cadili és mtsai 2008]. A korábbi Tanszékünkön folytatott kutatások során kapott eredményeink az irodalmi adatokkal egyértelműen utaltak arra, hogy a lép autotransplantatio ezt a kedvezőtlen változást javítani képes -erre utal IgM szintek korrelálása-, azonban a számos vizsgálati lehetőség közül nem sikerült egyértelműen meghatározni azt a paramétert, amely a lép immunológiai funkciójának monitorizálására egyértelműen megfelelő lehet. [Timens és mtsai 1992, Clayer és mtsai 1994, Leemans és mtsai 1999, Marques és mtsai 2003, Mikó és mtsai 2003, Ács és mtsai 2005, Sipka és mtsai 2006a, Karagülle és mtsai 2007, Mikó és mtsai 2007].

A leukocytá antisedimentációs ráta egy funkcionális leukocytá teszt, amely a gravitáció hatására lezajló sedimentatio során megadja a véroszlopban felfelé haladó leukocyták számát. Meghatározásával a keringő vérben lévő aktivált leukocyták arányáról és a könnyű és nehéz polymorphonuclearis leukocyták megoszlásáról nyerhetünk információt. A véroszlop felső és az alsó részéből származó alminták leukocytá számának a függvényében az értéke lehet pozitív vagy negatív is [Bogár és mtsai 1997, 2000, 2002, 2006a].

Mivel a leukocytá antisedimentációs rátát sikerrel alkalmazták már több klinikai kórképben, felmerült az a kérdés, hogy állatkísérletekben is eredményesen használható-e, illetőleg ezen belül is az aspleniás-hypospleniás állapotokban egy lehetséges jelző szerep gondolata vetődött fel [Bogár és mtsai 2006b, 2006c, Molnár és mtsai 2008]. A módszer további előnyeként még fontos megemlíteni, hogy a meghatározáshoz semmilyen speciális technikai felszereltség nem szükséges, amely az elterjedését nagymértékben elősegítheti.

Mivel korábbi kutatási eredményekből ismert, hogy a lép autotransplantatumok 4-6 hónapot igényelnek a regenerációhoz, a postoperatív 1 év végén a folyamat már feltétezetően lezajlott [Furka és mtsai 1990, Mikó és mtsai 2007]. Így azt vártuk, hogy az ekkor történő vakcinálást követő immunválasz mértéke a különböző csoportokban eltérőnek bizonyulhat, amely változásokkal összhangban a leukocytá antisedimentációs ráta eltérő mértékű változását is feltételeztük.

Korábról ismert klinikai vonatkozásokban, hogy a leukocytá antisedimentációs ráta emelkedése korrelált a sejtaktivációt követő fokozott leukocytá adherenciával, a polymorphonuclearis leukocyták megnövekedett sejt térfogatával és magasabb vacuolum tartalmával. Számos egyéb, a fehérvérsejteket vizsgáló módszer különböző sejtszeparálási lépésekkel kezdődik, amelyek jelentősen módosíthatják a sejtek tulajdonságait. Ezzel szemben az általunk alkalmazott módszer nem igényelt ilyen lépéseket. A leukocytá antisedimentációs ráta nem függ a fehérvérsejt számtól, viszont a haematocrittól, a

vörösvérsejt süllyedéstől és a leukocyták bizonyos jellemzőitől (adherencia, sejt méret, alak, aggregatio) és a plasma viscositástól igen. [Bogár és mtsai 2000, 2002, 2006a].

A jelen értekezés alapjául szolgáló eredményeinkben a leukocyta antisedimentációs ráta különböző mértékű változása volt megfigyelhető a különböző kísérleti csoportokban a vakcinációt követően. A legnagyobb mértékű növekedés a splenectomisált csoportban volt megfigyelhető, annak ellenére, hogy a fehérvérsejtszámban nem tapasztaltunk ilyen mértékű változást. Összevetve az áloperált kontrol és lép autotransplantatio csoportokban tapasztalt változásokkal, a leukocyta antisedimentációs ráta alkalmasnak tűnt az aspleniás-hypospleniás állapotok okozta eltérő immunválasz vizsgálatára. Természetesen továbbiakban a kutatásba bevont állatok számának növelése és kiegészítő vizsgálatok is szükségesek a jelen munkában bemutatott különbségek és az ezek háttérében álló tényezők pontosabb analízise érdekében.

Mint korábbi tanszéki kutatásokban, úgy a szakirodalomban is ismert a scintigraphia alkalmazása a lép vagy a lép autotransplantatumok életképességének vizsgálatára [Mikó és mtsai 1994, 2007, Leemans és mtsai 1999, Szilágyi 2002, Karagülle és mtsai 2007]. A képalkotó vizsgálatok előnye lehet, hogy számos esetben szélesebb körben biztosított hozzáférhetősége, mint a korábban bemutatott haemorheologiai paraméterek meghatározásának lehetősége.

A colloid scintigraphia során az áloperált állatban egyértelműen azonosítható volt a lép és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állat esetében is azonosíthatóak voltak a nagyceplesz régiójában pontszerű dúsulások, melyek a lép autotransplantatumoknak megfelelőhetnek. Azonban a környező szervek és a retroperitoneum gazdag érellátása miatt a lép autotransplantatumokban várt halmozás nem volt minden esetben azonosítható. Az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált kísérleti állatban nem sikerült azonosítani a beültetett lépszeleteket. Ennek háttérében az előbb említett összevetüléseket feltételeztük, de kapott eredmény további magyarázatoként felmerült az is, hogy ezen állat a vizsgálat idején

átmeneti hypospleniás állapotban volt és ezért nem láthattunk aktivitást a cseplesz régiójában. Nem hagyható figyelmen kívül azonban az sem, hogy egy ilyen a kis méretű célszerv esetében a vizsgálómódszer felbontása is limitáló tényezőként szerepelhet.

Shu Chien és munkacsoportja normál és az alacsony koncentrációjú glutáraldehiddel rigiddé tett, különböző izotópokkal jelölt vörösvérsejtek viselkedését tanulmányozta a keringésben. Ennek során a normál sejtekhez képest -amelyek szinte konstans maradt-, a rigid sejtek gyors keringésből való eliminációját tapasztalták. A további vizsgálataik azt mutatták, hogy ezen rigiddé tett jelölt vörösvérsejtek a lépben mutatnak leginkább halmozódást [Simchon és mtsai 1987]. Ezért munkánk során a klinikumban is használt lép-specifikus scintigraphia módszerét adaptáltuk beagle kutyákra, hogy az említett közleményhez hasonló tényezők vizsgálatával a funkcionális képalkotó vizsgálatok párhuzamos alkalmazhatóságát tisztázzuk az aspleniás-hypospleniás állapotok jelzésére a lép filtrációs funkciójának követése során.

A vizsgálatokat ugyanazon kísérleti állatokon végeztük el, amelyeken korábban a colloid scintigraphiát, a vizsgáló módszerek jobb összehasonlíthatósága érdekében. Az eredményeink alapján a hasi régióban nem volt látható olyan halmozás, mely az autotransplantatumok azonosítását gátolta volna. Az áloperált kontrol állatban a lép ezúttal is tökéletesen azonosítható volt, és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatban valamennyi beültetett lépszeletke egyértelműen identifikálható volt. Az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatban ezúttal sem tudtuk kimutatni a visszaültetett lépszeletkét, mely a hypofunctora is utalhatott a vizsgálat idejében. A halmozások specifikussága egyértelműen a megtartott filtrációs funkció mellett szól.

Más munkacsoport is megfigyelt a scintigraphia során a lép autotransplantatumok és a környező szervek illetve a retroperitoneum gazdag érellátása következtében kialakult összevetülésből fakadó problémákat. Ezek egy része a lép-specifikus scintigraphia

módszerével kiküszöbölhető lehet, mivel ez utóbbi módszer egy sokkal specifikusabb és ezáltal pontosabb vizsgálatot tesz lehetővé. Azonban a lép-specifikus scintigraphia nem tudja teljes mértékben helyettesíteni a colloid scintigraphiát a rutin vizsgálatok során, mivel elvégzése komplex előkészítést igényel, mely által a vizsgálat hosszadalmasabb, mint a hagyományos colloid scintigraphia [Resende és mtsa 2003].

A bemutatott eredményeinkben az öt lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatban egyik scintigraphiás módszerrel sem tudtunk azonosítani funkcionáló lép autotransplantatumot. Mivel a diagnosticus laparoscopia szintén csak egy lépdarabkát tudott azonosítani, nem a képkötő módszerünk hibájának tulajdonítjuk az eredményeinket, hanem a beültetett lépdarabkák hypofunctiojának illetve atrophijájának következményeként értelmeztük azokat. Azonban ismerve a lép autotransplantatumok működésében tapasztalható periodicitást, ezt a jelenséget nem tekintjük végleges állapotnak és egy későbbi időpontban lépszeletek funkcionálását is feltételezzük [Mikó és mtsai 2007].

A diagnosticus laparoscopia során számottevő adhaesio nem volt tapasztalható, mely a lép autotransplantatio módszer szövődménymentességére utal. Más beültetési módszereknél gyakran megfigyelték mérsékelt vagy akár súlyos fokú adhaesio kialakulását, de ilyen mértékű összenövést egy esetben sem találtunk a kísérleti állatokban [Karagülle és mtsai 2007].

Humán vonatkozásban a nagycepleszhez öltésekkel rögzített lépszeletekkel végzett autotransplantatio esetében, az asepticus necrosis mellett a súlyos fokú adhaesio okozta vékonybél elzáródást is leírtak [Tzoracoleftherakis és mtsai 1991].

Azonban a „Furka-féle” lépkötény technikával, melyet munkánk során használtunk, nem volt hasonló szövődmény az utánkövetési idő alatt és a macroscopos vizsgálataink sem utaltak erre.

A lép autotransplantatumok döntő többsége azonosítható volt a vizsgálatok során,

abscessust egy alkalommal sem találtunk. A lép autotransplantatumok „újjászületésének” folyamatát több munkacsoport tanulmányozta, mely során egy kezdeti necrosist követően, már a postoperatív 3. naptól fokozatos érbenövés figyelhető meg és ennek megfelelően egy centripetális regeneratio következtében alakulnak ki a „kis lépek”. Bár a beültetett lépdarabkák mérete és a regenerált tömeg között lineáris összefüggést figyeltek meg, ezeket a lépéseket is ismerve könnyen belátható, hogy természetesen van egy felső határ a beültetett lépdarabkák méretének tekintetében, amely már nem a regenerationak, hanem a necrosis következtében többek között egy steril seroma kialakulásának is kedvezhet. Mivel a lép speciális felépítése elengedhetetlen a funkciók megőrzése szempontjából, nem javasolt a túlságosan kicsi, vagy homogenizált formában történő beültetés sem, mivel ez esetben kevésbé organizált szerkezet várható a regeneratio során [Inuma és mtsai 1992, Alves és mtsai 1999, Leemans és mtsai 1999, Tang és mtsai 2003, Han és mtsai 2010, Braga és mtsai, 2012].

Az utánkövetési idő végén hiányzó lépszeletkék feltehetően a beültetést követően necrotizáltak, ezért nem voltak megfigyelhetőek vizsgálataink során. A regenerált lépdarabkák azonban szövettani szerkezet vonatkozásában az ép léphez hasonlóak, mely megfigyelésünket más munkacsoportok eredményei is alátámasztják [Clayer és mtsai 1994, Marques és mtsai 2002, 2003, Tang és mtsai 2003]. A vörös pulpa speciális szerkezete és az itt található különleges véráramlási viszonyok nélkülözhetetlenek a lépfunkciók szempontjából, melyek eredményeink alapján nagyrészt megőrizhetőnek bizonyultak az alkalmazott lép autotransplantatio módszerével. Ez szintén a visszaültetett darabkák életképességére és regenerációjára utal. A döntő többségében sikeres visszaültetések alapján nem a beültetési technika vagy a lépszeletkék méretének megválasztása feltételezhető a necrosis, illetve a regeneratio hiányának okaként. A végleges necrosisok és a lép autotransplantatumok hiányának magyarázatként szolgálhat az a folyamat, mely során a

perioperatív shock következtében a nagycsepleszben a vérellátás deprimálódik, így a regenerációhoz szükséges érbenövés nem tud időben megindulni [Karagülle és mtsai 2007].

A szövettani metszeteken mind a fehér, mint a vörös pulpa megfigyelhető, mely egyéb jól jelzi az omentalis beültetési pozíció előnyeit [Malagó és mtsai 2008]. A kissé rendezetlenebb szerkezet mások által is megfigyelt jelenség [Marques és mtsai 2003]. Ez a kissé megváltozott szerkezet és az érellátásból fakadó limitáló tényezők lehetnek azok, melyek következtében a lépfunkciók bizonyos mértékű csökkenése figyelhető meg egyes esetekben [Clayer és mtsai 1992, 1994].

Szükséges még megjegyezni, hogy bár jelen munkánkban az öt lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoportban nem találtuk meg valamennyi lépszeletkét, a korábbi Tanszéki kísérletes munkákban nem tapasztaltuk azt, hogy a beültetett lép autotransplantatumok száma és az életképességük egyértelműen összefüggene. Bár a szakirodalomban ismeretes a beültetett léptömeg és a regenerált léptömeg közötti linearitás, de arra utaló adatot, hogy a kevesebb léptömeg esetén nagyobb a valószínűsége a lépszeletkének felszívódásának, nem találtunk [Marques és mtsai 2012]. A II kísérleti fázis kísérleti állataiban sem volt megfigyelhető ilyen jellegű tendencia. Ezek fényében az észlelt esetet a korábban leírt perioperatív shock okozta vérellátási zavarnak tulajdonítottuk.

Természetesen a továbbiakban munkánk folytatásaként tervezzük az állatszám bővítésével a vizsgálati sort különböző mértékű lép resectiók hatásosságának vizsgálatával kibővíteni, és így -az általunk bevezetett vizsgálmódszerek alkalmazásával- reményeink szerint lehetőségünk nyílik az esetleges összefüggések pontosabb vizsgálatára is.

## **6.2. Új eredmények és azok gyakorlati alkalmazhatósága**

1./ A haemorheologiai mérőmódszerek közül mind a filtrometria, mind a slit-flow ektacytometria módszerét sikerrel alkalmaztuk a lép autotransplantatumok filtrációs funkciójának követésére. Az ektacytometriát munkacsoportunk alkalmazta először a lépfunkciók követésére. A két mérőmódszer párhuzamosan igazolta, hogy a lép autotransplantatio részlegesen helyreállíthatja a lépeltávolítás következtében kiesett filtrációs lép funkciót.

2./ Eredményeink alapján elmondható, hogy a leukocytá antisedimentációs ráta (LAR) meghatározható és eredményesen alkalmazható állatkísérletes modellekben is. Jelző értékű kiegészítő paraméter lehet az aspleniás-hypospleniás állapotok jellemzésére az általános haemorheologiai vizsgálatok mellett. Hasonló jellegű megállapítással az irodalomban még nem találkoztunk.

3./ A diagnosticus laparoscopia igazolta a lép autotransplantatumok életképességét, alátámasztotta a colloid scintigraphia módszerének eredményeit is.

4./ A további kutatások végzéséhez elsőként állítottuk be a lép-specifikus scintigraphia módszerét állatkísérletes modellben, mely segítségével pontosabban kimutatható a funkcionáló lépszövet helye és meghatározható mennyisége is.

5./ A postoperatív utánvizsgálati időszak végén szövettani feldolgozás során a lép autotransplantatumok életképesnek bizonyultak, szövettanilag a regenerálódott „kis lépek” szerkezete az éphez volt hasonló.

## 7. ÖSSZEFOGLALÁS

A korszerű chemo-, és immunprofilaxis ellenére a traumás lépsérülések sebészi megoldásaként felmerülő lépeltávolítás lehetséges szövődményei napjainkban is komoly problémát jelenthetnek, melyek megelőzésében a lépmeztartó eljárások igen fontosak lehetnek.

A munkánk során használt homogén állatcsoport lehetővé tette egy olyan komplex vizsgálati protokoll beállítását, amelynek segítségével a splenectomiát illetve lép autotransplantációt követő/követhető aspleniás-hyospleniás állapotok esetleges késői szövődményei és ezen megváltozott állapotok okozta hatások is eredményesen vizsgálhatóvá válhattak.

Eredményeink igazolták, hogy a vörösvérsejt deformabilitás szignifikánsan rosszabb még 2 évvel a splenectomia után is, szemben a lép autotransplantációt követő állapottal. A vizsgálatok során két módszert, a filtrometriát és az ektacytometriát párhuzamosan alkalmaztunk eredményesen a különbségek azonosítására.

A leukocita antisedimentációs ráta különböző mértékű változása volt megfigyelhető a különböző kísérleti csoportokban a vakcinációt követően, így ez a vizsgálat alkalmasnak tűnt az aspleniás-hyospleniás állapotok okozta eltérő immunválasz vizsgálatára.

A colloid scintigraphia során az autotransplantált állatban azonosíthatóak voltak a nagy-cseplés régiójában pontszerű dúsulások, melyek a lép autotransplantatumoknak megfelelőek.

A lép-specifikus scintigraphia módszerét sikerrel adaptáltuk beagle kutyákra, az autotransplantált állatban a beültetett lépszeletkének egyértelműen azonosíthatóak voltak és a halmozások specifikussága egyértelműen a megtartott filtrációs funkció mellett szólt.

A diagnosticus laparoscopia során számottevő adhaesio vagy abscessus nem volt észlelhető, a lép autotransplantatumok döntő többsége azonosítható volt.

A regenerált lépdarabok szövettani szerkezet vonatkozásában az ép léphez hasonlóak.

## SUMMARY

Despite of the modern chemo- and immunoprophylaxis, the possible complications of splenectomy are still a great problem. Spleen preserving methods play an important role in preventing these complications.

This inbred canine model has allowed us to set a complex investigative protocol, which helps to examine the asplenic-hyposplenic states with the related changes and the possible late complications too.

Our results re-confirmed that red blood cell deformability was significantly impaired after splenectomy even 2 years after surgery, opposite with the states after spleen autotransplantation. The measurements were obtained efficiently by filtrometry and ektacytometry in parallel.

We found that after vaccination LAR increased variously in the different experimental groups. The results suggest that LAR can be applicable for the investigation of the immune response after vaccination in asplenic-hyposplenic states.

In the autotransplanted animal the colloid scintigraphy showed activity in the region of the greater omentum, which could be defined as spleen autotransplants.

The human spleen-specific scintigraphy method was successfully adopted in our beagle canine model. In the autotransplanted animal, the replanted spleen chips were identified clearly, confirming the phagocytic function of the autotransplants.

During diagnostic laparoscopy no considerable adhesions and no abscess were found, most of the spleen autotransplants were observed.

The histological structure of the regenerated spleen autotransplant was similar to the intact spleen's structure.

## 8. IRODALOMJEGYZÉK

### 8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Sulyok Z. Hasi sebészet, Lép. in: Gaál Cs. ed. Sebészet. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest. 2002. pp. 788-800.
2. Krstic R.V.: Illustrated Encyclopedia of Human Histology. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1984. pp. 388-389.
3. Antal M., Liposits Zs., Oláh I., Réthelyi M., Sétáló Gy.: Keringési szervek, Nyirokrendszer, Peripheriás nyirokszervek, Lép. in: Réthelyi M. ed. Funkcionális anatómia. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest. 2002. pp. 899-904.
4. Neiman R.S.: Pathology of the Spleen. in: Hiatt J.R., Phillips E.H., Morgenstern L. eds. Surgical Diseases of the Spleen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Milan, Paris, Santa Clara, Singapore, Tokyo. 1997. pp. 25-52.
5. Stiehm E.R., Wakim M.: The Spleen in Infection and Immunity. in: Hiatt J.R., Phillips E.H., Morgenstern L. eds. Surgical Diseases of the Spleen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Milan, Paris, Santa Clara, Singapore, Tokyo. 1997. pp. 53-59.
6. Hansen K., Singer D.B.: Asplenic-hyposplenic overwhelming sepsis: Postsplenectomy sepsis revisited. *Pediatr Dev Pathol* 2001.4.105–121.
7. Morris D.H., Bullock F.D.: The importance of the spleen in resistance to infection. *Ann Surg* 1919.70.513-521.
8. King H., Schumacker H.B.: Splenic studies. I. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann Surg* 1952.136.239-242.
9. Littmann I., Barda L.: Műtétek a lépen. in: Littmann I., Berentey Gy. ed. Sebészeti műtéttan. Medicina, Budapest. 1988. pp. 565-572.
10. Cadili A., deGara C.: Complications of splenectomy. *Am J Med* 2008.121.371-375.
11. Akan A.A., Sengül N., Simşek S., Demirer S.: The effects of splenectomy and splenic autotransplantation on plasma lipids. *J Invest Surg*. 2008.21.369-372.
12. Smith C.H., Erlandson M., Schulman I., Stern G.: Hazard of severe infections in splenectomized infants and children. *Am J Med* 1957.22.390-404.
13. Holdsworth R.J., Irving A.D., Cuschieri A.: Postsplenectomy sepsis and its mortality rate: actual versus perceived risks. *Br J Surg* 1991.78.1031-1038.
14. Aygencel G., Dizbay M., Turkoglu M.A., Tunccan OG.: Cases of OPSI syndrome still candidate for medical ICU. *Braz J Infect Dis*. 2008.12.549-551.
15. Waghorn D.J.: Overwhelming infection in a splenic patients: current best practice preventive measures are not being followed. *J Clin Pathol* 2001.54.214-218.
16. Kyaw M.H., Holmes E.M., Toolis F., Wayne B., Chalmers J., Jones I.G., Campbell H.: Evaluation of severe infection and survival after splenectomy. *Am J Med* 2006.119.276.e1-7.
17. Timens W., Leemans R.: Splenic autotransplantation and the immune system. Adequate testing required for evaluation of effect. *Ann Surg* 1992.215.256–260.
18. Trunkey D.D., Hulka F., Mullins R.J.: Splenic trauma. in: Hiatt J.R., Phillips E.H., Morgenstern L. eds. Surgical Diseases of the Spleen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hong Kong, London, Milan, Paris, Santa Clara, Singapore, Tokyo. 1997. pp. 233-261.
19. Rizzo M., Margo G., Castlado P.: OPSI (overwhelming postsplenectomy infection) syndrome: a case report. *Forensic Sci Int* 2004.146 Suppl.S.55-56.

20. Crary S.E., Buchanan G.R.: Vascular complications after splenectomy for hematologic disorders. *Blood* 2009.114.861-868.
21. Robinette C.D., Fraumeni J.F. Jr.: Splenectomy and subsequent mortality in veterans of the 1939-45 war. *Lancet* 1977.2.127-129.
22. Robertson D.A.F., Simpson F.G., Losowsky M.S.: Blood viscosity after splenectomy. *Br Med J* 1981.283.573-575.
23. Simões F.C., Marques R.G., Diestel C.F., Caetano C.E., Dinis A.P., Horst N.L., Nogueira Neto J.F., Portela M.C.: Lipidic profile among rats submitted to total splenectomy isolated or combined with splenic autotransplant. *Acta Cir Bras* 2007.Suppl 1.46-51.
24. Gauer J.M., Gerber-Paulet S., Seiler C., Schweizer W.P.: Twenty years of splenic preservation in trauma: lower early infection rate than in splenectomy. *World J Surg* 2008.32.2730-2735.
25. Harbrecht B.G.: Is anything new is adult splenic trauma? *Am J Surg* 2005.190.273-278.
26. Leenen L.P.: Abdominal trauma: from operative to nonoperative management. *Injury* 2009.40.S62-68.
27. Rutledge R., Thomason M., Oller D., Meredith W., Moylan J., Clancy T., Cunningham P., Baker C.: The spectrum of abdominal injuries associated with the use of seat belts. *J Trauma* 1991.31.820-825; 825-826.
28. Kaseje N., Agarwal S., Burch M., Glantz A., Emhoff T., Burke P., Hirsch E.: Short-term outcomes of splenectomy avoidance in trauma patients. *Am J Surg* 2008.196.213-217.
29. Moore E.E., Cogbill T.H., Jurkovich G.J., Shackford S.R., Malagoni M.A. Champion H.R.: Organ Injury Scaling: Spleen and Liver (1994 revision). *J Trauma* 1995.3.323-324.
30. Peitzman A.B., Harbrecht B.G., Rivera L., Heil B., Eastern Association for the Surgery of Trauma Multiinstitutional Trials Workgroup: Failure of observation of blunt splenic injury in adults: variability in practice and adverse consequences. *J Am Coll Surg* 2005.201.179-187.
31. Patient Care Committee of The Society for Surgery of the Alimentary Tract. Surgical Treatment of Injuries and Diseases of the Spleen. *J Gastrointest Surg* 2005.9.453-454.
32. Allen T.L., Greenlee R.R., Price R.R.: Delayed splenic rupture presenting as unstable angina pectoris: case report and review of the literature. *J Emerg Med* 2002.23.165-169.
33. Kuzma J, Atua V. Conservative management of splenic injury in the tropics. *Trop Doct* 2008.38.210-213.
34. Wahl W.L., Ahrns K.S., Chen S., Hemmila M.R., Rowe S.A., Arbabi S.: Blunt splenic injury: operation versus angiographic embolization. *Surgery* 2004.136.891-899.
35. Maurer S.V., Denys A., Lutz N.: Successful embolization of a delayed splenic rupture following trauma in a child. *J Pediatr Surg* 2009.44.E1-4.
36. Skattum J., Titze T.L., Dormagen J.B., Aaberge I.S., Bechensteen A.G., Gaarder P.I., Gaarder C., Heier H.E., Næss P.A.: Preserved splenic function after angioembolisation of high grade injury. *Injury*. 2012.43.62-66.
37. Furka I., Mikó I., Papp L.: Eine neue Methode zur Resektion der Milz bei Hunden. *Acta Chir Austriaca* 1988.20.23-24.
38. Furka I., Mikó I., Papp L., Mikó T.: Salvaging the spleen by experimental resection or organtransplantation. in: Jubileuszowy Zjazd Towarzystwa Chirurgów Polskich, Vol. 2., Krakow. 1989a. pp. 453-456.
39. Furka I., Mikó I., Serfőző J., Frenzl I., Hauch M.: Autotransplantation of the spleen. in: Second World Week of Professional Updating in Surgery and in Surgical and Oncological Disciplines of the University of Milan, Lecture Book Vol. II., Milan Ed. Monduzzi. Bologna. pp. 1990. 767-769.

40. Szendrői T., Hajdú Z., Mikó I., Bagyó J., Bokk A., Barnák G., Furka I.: Lép autotransplantatio Orv Hetil 1993.134.125-128.
41. Mikó I., Serfőző J., Kappelmayer J., Sipka S., Furka A., Imre S., Galuska L., Kovács J., Bráth E., Pető K., Német N., Furka I.: Megmenthető-e a sérült lép? 20 év kutatási eredményei. *Magy Seb* 2005.58.69-73.
42. Garamella J.J., Hay L.J.: Autotransplantation of spleen:spleenosis; case report and preliminary report of an experimental study in revascularization of the heart. *Ann Surg* 1954.140.107-112.
43. Manley O.T., Marine D.: The transplantation of splenic tissue into the subcutaneous fascia of the abdomen in rabbits. *J Exp Med* 1917.25.619-627.
44. Marques R.G., Petroianu A., Coelho J.M., Portela M.C.: Regeneration of splenic autotransplants. *Ann Hematol* 2002.81.622-626.
45. Levy Y., Mikó I., Hauck M., Mathesz K., Furka I., Orda R.: Effect of omental angiogenic lipid factor on revascularization of autotransplanted spleen in dogs. *Eur Surg Res* 1998.30.138-143.
46. Patel J., Williams J.S., Shmigel B., Hinshaw J.R.: Preservation of splenic function by autotransplantation of traumatized spleen in man. *Surgery* 1981.90.683-688.
47. Carobbi A., Romagnani F., Antonelli G., Bianchini M.: Laparoscopic splenectomy for severe blunt trauma: initial experience of ten consecutive cases with a fast hemostatic technique. *Surg Endosc* 2010.24.1325-1330.
48. Petroianu A., Cabezas-Andrade M.A., Neto R.B.: Laparoscopic splenic autotransplantation. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2006.16.259-262.
49. Ransom K.J., Kavic M.S.: Laparoscopic splenectomy following embolization for blunt trauma. *JSLs* 2008.12.202-205.
50. Ransom K.J., Kavic M.S.: Laparoscopic splenectomy for blunt trauma: a safe operation following embolization. *Surg Endosc* 2009.23.352-355.
51. Patrzyk M., Glitsch A., Hoene A., von Bernstorff W., Heidecke C.D.: Laparoscopic partial splenectomy using a detachable clamp with and without partial splenic embolisation. *Langenbecks Arch Surg.* 2011.396.397-402.
52. Targarona E.M., Balague C., Martinez C., Pallares L., Estalella L., Trias M.: Single-port access: a feasible alternative to conventional laparoscopic splenectomy. *Surg Innov* 2009.16.348-352.
53. Tagaya N., Kubota K.: NOTES: approach to the liver and spleen. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009.16.283-287.
54. Brigden M.L.: Detection, education and management of the asplenic or hyposplenic patient. *Am Fam Physician* 2001.63.499-506, 508.
55. Mourtzoukou E.G., Pappas G., Peppas G., Falagas M.E.: Vaccination of asplenic or hyposplenic adults. *Br J Surg* 2008.95.273-280.
56. Pisters P.W., Pachter H.L.: Autologous splenic transplantation for splenic trauma. *Ann Surg* 1994.219.225-235.
57. Iinuma H., Okinaga K., Sato S., Tomioka M., Matsumoto K.: Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. *J Surg Res* 1992.53.109-116.
58. Malagó R., Reis N.S., Araújo M.R., Andreollo N.A.: Late histological aspects of spleen autologous transplantation in rats. *Acta Cir Bras* 2008.23.274-281.
59. Alves H.J., Viana G., Magalhães M.M., Arantes R.M., Coelho P.M., Cunha-Melo J.R.: Kinetics of neovascularisation of splenic autotransplants in mice. *J Anat* 1999.195.387-392.
60. Han B., Meng B., Cui G., Wu Z., Yu L., Zhu H., Ma H., Shi J., Lv Y.: Regeneration of splenic autotransplants attached on liver by a tissue adhesive. *Transplant Proc* 2010.42.1944-1948.

61. Westermann J., Michel S., Lopez-Kostka S., Bode U., Rothkötter H.J., Bette M., Weihe E., Straub R.H., Pabst R.: Regeneration of implanted splenic tissue in the rat: re-innervation is host age-dependent and necessary for tissue development. *J Neuroimmunol* 1998.88.67-76.
62. Marques R.G., Petroianu Y., Coelho J.M.: Bacterial phagocytosis by macrophage of autogenous splenic implant. *Braz J Biol* 2003.63.491-495.
63. Clayer M.T., Drew P.A., Leong A.S., Jamieson G.G.: The vascular supply of splenic autotransplants. *J Surg Res* 1992.53.475-484.
64. Clayer M.T., Drew P.A., Leong A.S., Jamieson G.G.: IgG-mediated phagocytosis in regenerated splenic tissue. *Clin Exp Immunol* 1994.97.242-247.
65. Karagülle E., Hoşçoşkun Z., Kutlu A.K., Kaya M., Baydar S.: The effectiveness of splenic autotransplantation: an experimental study. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2007.13.13-19
66. Tang W.H., Wu F.L., Huang M.K., Friess H.: Splenic tissue autotransplantation in rabbits: no restoration of host defense. *Langenbecks Arch Surg* 2003.387.379-385.
67. Leemans R., Harms G., Rijkers G.T., Timens W.: Spleen autotransplantation provides restoration of functional splenic lymphoid compartments and improves the humoral immune response to pneumococcal polysaccharide vaccine. *Clin Exp Immunol* 1999.17.596-604.
68. Leemans R., Manson W., Snijder J.A., Smit J.W., Klasen H.J., The T.H., Timens W.: Immune response capacity after human splenic autotransplantation: restoration of response to individual pneumococcal vaccine subtypes. *Ann Surg* 1999.229.279-285.
69. Furka I., Mikó I., Tasoly E.: Heterotopicszeszkaja autotranszplantacija szelezenki v ekszperimente. [Heterotopic spleen autotransplantation in experiment.] *Hirurgija* 1989b.9.125-127.
70. Mikó I., Furka I., Serföző J., Joós Gy., Telek B., Matesz K., Hauck M., Békési L., Ignáth T.: Comparative Study of Haematological and Micro-Morphological Results in Long-Surviving Spleen Autotransplants. in: *Chirurgische Forschung*, ed: S. Uranüs, Zuckschwerdt Verlag, München – Bern – Wien – New York 1994. pp 50-55.
71. Mikó I., Bráth .E., Németh N., Tóth F.F., Sipka S., Kovács J., Sipka S. Jr., Facht J., Furka A., Furka I., Zhong R.: Hematological, hemorheological, immunological, and morphological studies of spleen autotransplantation in mice: preliminary results. *Microsurgery* 2003.23.483-488.
72. Mikó I., Németh N., Sipka S. Jr., Bráth E., Pető K., Gulyás A., Furka I., Zhong R.: Hemorheological follow-up after splenectomy and spleen autotransplantation in mice. *Microsurgery* 2006.26.38-42.
73. Mikó I., Bráth E., Furka I., Kovács J., Kelvin D., Zhong R.: Spleen autotransplantation in mice: a novel experimental model for immunology study. *Microsurgery* 2001.21.140-142.
74. Sipka S. Jr., Bráth E., Tóth F.F., Aleksza M., Kulcsár A., Fábíán Á., Baráth S., Balogh P., Sipka S., Furka I., Mikó I.: Cellular and serological changes in the peripheral blood of splenectomized and spleen autotransplanted mice. *Transpl Immunol* 2006a.16.99-104.
75. Sipka S. Jr., Bráth E., Tóth F.F., Fábíán Á., Krizsán C., Baráth S., Sipka .S, Németh N., Bálint A., Furka I., Mikó I.: Distribution of peripheral blood cells in mice after splenectomy or autotransplantation. *Microsurgery* 2006b.26.43-49.
76. Szendrői T., Mikó I. Hajdú Z., Ács G., Kathy S., Furka I., Szabó L.: Splenic autotransplantation after abdominal trauma in childhood. Clinical and experimental data. *Acta Chir Hung* 1997.36.349-351.

77. Ács G., Furka I., Mikó I., Szendrői T., Hajdú Z., Sipka S. Jr., Baráth S., Aleksza M., Csípő I., Baló E., Bálint A., Fekete K.: Splenectomizált és lép autotransplantált betegek összehasonlító haematologiai és immunologiai vizsgálatai. *Magy Seb* 2005.58.74-79.
78. Cutts J.H.: Cell separation. *Methods in Hematology*. Academic Press, New York. 1970. pp. 39-69.
79. Bogár L., Horváth J.A., Tekeres M.: Leukocyták mozgása vörösvértest-süllyedés folyamán. *Orv Hetil.* 1997.138.861-865.
80. Bogár L., Tekeres M.: Leukocyte flotation during gravity sedimentation of the whole blood. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000.22.29-33.
81. Bogár L., Tarsoly P.: Gravity sedimentation of leukocytes is partially independent from erythrocyte sedimentation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006a.34.439-445.
82. Bogár L., Molnár Z., Kenyeres P., Tarsoly P.: Sedimentation characteristics of leucocytes can predict bacteraemia in critical care patients. *J Clin Pathol* 2006b.59.523-525.
83. Bogár L., Molnár Z., Tarsoly P., Kenyeres P., Márton S.: Serum procalcitonin level and leukocyte antisedimentation rate as early predictors of respiratory dysfunction after oesophageal tumour resection. *Crit Care* 2006c.10.R110.
84. Molnár T., Péterfalvi Á., Szereday L., Pusch G., Szapary L., Komoly S., Bogár L., Illés Z.: Deficient leukocyte antisedimentation is related to post-stroke infections and outcome. *J Clin Pathol* 2008.61.1209-1213.
85. Baskurt O.K., Boynard M., Cokelet G.C., Connes P., Cooke B.M., Forconi S., Liao F., Hardeman M.R., Jung F., Meiselman H.J., Nash G., Németh N., Neu B., Sandhagen B., Shin S., Thurston G., Wautier J.L.: International expert panel for standardization of hemorheological methods. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009.42.75-97.
86. Dormándy J., Flute P., Mátrai A., Bogár L., Mikita J.: The new St.George's blood filtrometer. *Clin Hemorheol Microcirc* 1985.211.975-983.
87. Shin S., Ku Y, Park M.S., Suh J.S.: Slit-flow ektacytometry: laser diffraction in a slit rheometer. *Cytometry B Clin Cytom* 2005.65.6-13.
88. Baskurt O.K., Meiselman H.J.: Analysing shear stress- elongation index curves: Comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004.31.23-30.
89. Galuska L.: Spleen inferior to the liver: an unusual developmental disorder. *Clin Nucl Med* 2000.25.944-945.
90. Szilágyi I. A gastrointestinalis rendszer. in: Szilágyi I. ed. A nukleáris medicina tankönyve. B+V lap- és Könyvkiadó Kft., Budapest. 2002. pp. 95-107.
91. Berry C.R., Kuperus J.H., Malone D.: Splenic sequestration scintigraphy in the dog: a comparison of denaturing techniques. *Veterinary Radiology & Scintigraphy* 2005.36.57-63.
92. Khosravi M.R., Margulies D.R., Alsabeh R., Nissen N., Phillips E.H., Morgenstern L.: Consider the diagnosis of splenosis for soft tissue masses long after any splenic injury. *Am Surg* 2004.70.967-970.
93. Young J.T., Jaibaji M.M., Vandermolten R.J.: Splenosis: a remote consequence of traumatic splenectomy. *Am Coll Surg* 2004.199.500-501.
94. Mikó I., Bráth E., Németh N., Furka A., Sipka S. Jr., Petó K, Serfőző J., Kovács J., Imre S., Benkő I., Galuska L., Sipka S., Ács G., Furka I.: Spleen autotransplantation. Morphological and functional follow-up after spleen autotransplantation in mice: a research summary. *Microsurgery* 2007.27.312-316.
95. Crosby W.H.: Splenic remodeling of red cell surfaces. *Blood* 1977.50.643-645.

96. William B.M., Corazza G.R.: Hyposplenism: a comprehensive review. Part I: basic concepts and causes. *Hematology* 2007.12.1-13.
97. Hurd T.C., Dasmahapatra K.S., Rush B.F. Jr., Machiedo G.W.: Red blood cell deformability in human and experimental sepsis. *Arch Surg* 1988.123.217-220.
98. Baskurt O.K., Gelmont D., Meiselman H.J.: Red blood cell deformability in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998.157.421-427.
99. Sordia T., Tatarishvili J., Mchedlishvili G.: Hemorheological disorders in the microcirculation during septic shock in rats. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006.35.223-226.
100. Moutzouri A.G., Skoutelis A.T., Gogos C.A., Missirlis Y.F., Athanassiou G.M.: Red blood cell deformability in patients with sepsis: a marker for prognosis and monitoring of severity. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007.36.291-299.
101. Baskurt O.K., Hardeman M.R., Uyuklu M., Ulker P., Cengiz M., Németh N., Shin S, Alexy T., Meiselman H.J.: Parameterization of red blood cell elongation index--shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest* 2009.69.777-788.
102. Simchon S., Jan K.M., Chien S.: Influence of reduced red cell deformability on regional blood flow. *Am J Physiol* 1987.253.898-903.
103. Resende V., Petroianu A.: Functions of the splenic remnant after subtotal splenectomy for treatment of severe splenic injuries. *Am J Surg* 2003.185.311-315.
104. Braga A.A., Malagó R., Anacleto T.P., Silva C.R., Andreollo N.A., Fernandes F.L.: Histological aspects of autologous transplantation of different fragments of the spleen in rats. *Acta Cir Bras*. 2012.27.880-884.
105. Tzoracoleftherakis E., Alivizatos V., Kalfarentzos F., Androulakis J.: Complications of splenic tissue reimplantation. *Ann R Coll Surg Engl* 1991.73.83-86..
106. Marques R.G., Caetano C.E., Diestel C.F., Lima E., Portela M.C., Oliveira A.V., Oliveira M.B., Bernardo-Filho M.: Critical mass of splenic autotransplant needed for the development of phagocytic activity in rats. *Clin Exp Immunol* 2012.170.77-85.

## 8.2. Saját közlemények jegyzéke



DEBRECENI EGYETEM EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR  
KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA

Iktatószám: DEENKÉTK/29/2014.  
Tételszám:  
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Sajtos Erika

Neptun kód: NWC8GS

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

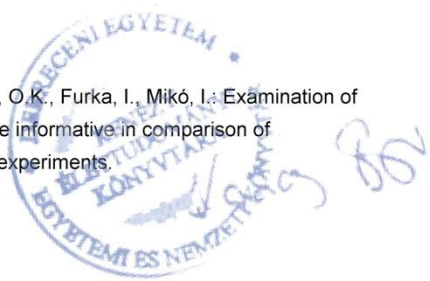
### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Sajtos, E.**, Bálint, A., Bráth, E., Németh, N., Pető, K., Kovács, J., Galuska, L., Varga, J., Fodor, Z., Furka, I., Mikó, I.: Long-term following-up of viability of spleen autotransplants in the Beagle canine model.  
*Acta Cir. Bras.* 27 (2), 95-101, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502012000200001>  
IF:0.626
2. **Sajtos, E.**, Németh, N., Kiss, F., Bráth, E., Pető, K., Hevér, T., Mátyás, L., Furka, I., Mikó, I.: Application of leukocyte antisedimentation rate calculation in investigation of spleen salvaging experimental surgical techniques.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 45 (2-4), 289-294, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1308>  
IF:2.838
3. Mikó, I., Németh, N., **Sajtos, E.**, Bráth, E., Pető, K., Furka, A., Szabó, G., Kiss, F., Imre, S., Furka, I.: Splenic function and red blood cell deformability: The beneficial effects of spleen autotransplantation in animal experiments.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 45 (2-4), 281-288, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1307>  
IF:2.838



**További Közlemények**

4. Németh, N., Kiss, F., Hevér, T., Bráth, E., **Sajtos, E.**, Furka, I., Mikó, I.: Hemorheological consequences of hind limb ischemia-reperfusion differs in normal and gonadectomized male and female rats.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 50 (3), 197-211, 2012.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2011-1427>
5. Bráth, E., Németh, N., Kiss, F., **Sajtos, E.**, Hevér, T., Mátyás, L., Tóth, L., Mikó, I., Furka, I.: Changes of local and systemic hemorheological properties in intestinal ischemia-reperfusion injury in the rat model.  
*Microsurgery.* 30 (4), 321-326, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/micr.20707>  
IF:1.555
6. Hevér, T., Németh, N., Bráth, E., Tóth, L., Kiss, F., **Sajtos, E.**, Mátyás, L., Szaszko, J., Drimba, L., Peitl, B., Csiki, Z., Mikó, I., Furka, I.: Morphological, hemodynamical and hemorheological changes of mature artificial saphenous arterio-venous shunts in the rat model.  
*Microsurgery.* 30 (8), 649-656, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/micr.20784>  
IF:1.555
7. Hevér, T., Kiss, F., **Sajtos, E.**, Mátyás, L., Németh, N.: Are there arterio-venous differences of blood micro-rheological variables in laboratory rats?  
*Korea-Aust. Rheol. J.* 22 (1), 59-64, 2010.  
IF:0.948
8. Kiss, F., **Sajtos, E.**, Hevér, T., Németh, N.: The power of slit-flow ektacytometry measurements for testing normal and heat treated red blood cells using various viscosity media in laboratory animals.  
*Korea-Aust. Rheol. J.* 22 (1), 81-86, 2010.  
IF:0.948
9. Kiss, F., Németh, N., **Sajtos, E.**, Bráth, E., Petó, K., Baskurt, O.K., Furka, I., Mikó, I.: Examination of aggregation of various red blood cell populations can be informative in comparison of splenectomy and spleen autotransplantation in animal experiments.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 45 (2-4), 273-280, 2010.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1304>  
IF:2.838



10. Kiss, F., **Sajtos, E.**, Mátyás, L., Magyar, Z., Furka, I., Mikó, I., Németh, N.: Testing red blood cell deformability of laboratory animals by slit-flow ektacytometry in various viscosity media: Inter-species and gender differences.  
*Korea-Aust. Rheol. J.* 22 (2), 113-118, 2010.  
IF:0.948
11. Németh, N., Baskurt, O.K., Meiselman, H.J., Kiss, F., Uyuklu, M., Hevér, T., **Sajtos, E.**, Kenyeres, P., Tóth, K., Furka, I., Mikó, I.: Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations: Inter-species differences and the effects of duration and temperature.  
*Korea-Aust. Rheol. J.* 21 (2), 127-133, 2009.  
IF:0.965

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 16.059**

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
6.302**

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudánymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2014.02.13



## 9. TÁRGYSZAVAK/KEYWORDS

lép, lépeltávolítás, lép autotransplantatio, vörösvérsejt deformabilitás-filtrometria-  
ektacytometria, colloid scintigraphia, lép-specifikus scintigraphia, diagnosticus laparoscopia

spleen, splenectomy, spleen autotransplantation, erythrocyte deformability-filtrometry-  
ektacytometry, colloid scintigraphy, spleen-specific scintigraphy, diagnostic laparoscopy

## 10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőimnek *Dr. Furka István* professzor úrnak, *Dr. Mikó Irén* professzornőnek, a Sebészeti Műtéttani Tanszék korábbi tanszékvezetőjének, hogy lehetővé tették számomra, hogy csatlakozhassak a Tanszéken folyó sokrétű tudományos munkához. Köszönet a már egyetemi éveim alatt elkezdődött szakmai irányításukért, bizalmukért és soha nem szűnő támogatásukért, mely nélkül jelen munka nem születhetett volna meg.

Köszönöm *Dr. Németh Norbert* egyetemi docens úrnak, jelenlegi tanszékvezetőnek a kutatómunkám végzéséhez nyújtott szakmai és emberi támogatását, a laboratóriumi vizsgálatok elsajátításához és eredmények megjelenítéséhez nyújtott segítségét.

Köszönöm a Tanszék valamennyi munkatársának, hogy segítette munkámat. *Dr. Pető Katalin* adjunktusnőnek, *Dr. Bráth Endrének* -a tanszék korábbi tanársegédének- a kutatóműtétekben való részvételét, *Dr. Kiss Ferenc* tanársegéd úrnak, *Dr. Hevér Tímeának* és *Dr. Mátyás Lilinek* -egykori Ph.D. hallgatótársaimnak-, a postoperatív vizsgálatok végzése során nyújtott segítőkész munkájukat. *Gulyás Adriennek* és *Matúz Krisztinának* a laboratóriumi vizsgálatok elvégzéséhez nyújtott segítséget, *Ványolos Erzsébetnek* a műtétek alatti műtősnői tevékenységet, *Dr. Bálint Anitának* a TDK társ témavezetői tevékenységet és *Füzesi Róbertnek* a technikai segítségért. Köszönöm továbbá *Dr. Furka Andrea* adjunktusnőnek a kutatóműtétekben és a reoperációt igénylő vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségét.

Köszönöm *Prof. Dr. Matesz Klára* professzornőnek - a DE OEC Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet munkatársának- a szövettani feldolgozáshoz, és *Dr. Kovács Judit* osztályvezető főorvosnőnek -a DE OEC Pathologia Intézet korábbi munkatársának- a szövettani értékeléshez nyújtott szakmai segítségét.

Köszönöm *Prof. Dr. Galuska László*, a DE OEC Nukleáris Medicina Intézet korábbi tanszékvezető professzorának, hogy hozzájárult ahhoz, hogy a képalkotó vizsgálatokat

elvégezhesük és szakmai tanácsaival segítette azt. Köszönöm *Dr. Varga József* egyetemi docens úrnak, az intézet jelenlegi igazgatójának és *Dr. Fodor Zoltánnak* a kollaboráció során munkájukat, mely nélkül a scintigraphiás vizsgálatok nem valósulhattak volna meg.

Végezetük köszönöm Családomnak és Barátaimnak támogató szeretetüket és türelmüket, amivel a hosszú évek alatt mindvégig mellettem voltak, támogattak.

## 11. FÜGGELÉK