

**Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés**

**Az akut végtagi ischaemia-reperfusio  
vizsgálata kísérletes modelleken.  
A végtagi traumás amputátumok  
életképesség megőrzésének lehetőségei.**

**Dr. Szokoly Miklós**

**Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, Budapest**

**Témavezetők:**

**Prof. Dr. Furka István**  
az orvostudomány doktora

**Prof. Dr. Mikó Irén**  
az orvostudomány kandidátusa

**Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum**

**Általános Orvostudományi Kar**

**Sebészeti Műtéttani Tanszék**

**Debrecen**

**2007**

# Tartalomjegyzék

<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	1
<b>Célkitűzések</b> .....	4
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ÉS KLINIKAI HÁTTÉR</b> .....	5
<b>2.1. Az akut végtagi ischaemia-reperfusio pathophysiologiai történései</b> .....	5
2.1.1. Metabolikus változások és szabadgyök-reakciók .....	5
2.1.2. Microcirculációs és haemorheologiai változások .....	7
2.1.3. Morphologiai változások a vázizomban .....	10
<b>2.2. Az akut végtagi ischaemia-reperfusio a traumatológiai gyakorlatban</b> .....	11
2.2.1. Az első ellátás jelentősége .....	11
2.2.2. Az időfaktor jelentősége .....	14
2.2.3. Műtéttechnikai lehetőségek előzményei .....	14
2.2.4. A replantatio kivitelezése a klinikai gyakorlatban .....	15
<b>2.3. Klinikai esetek bemutatása, a kutatómunka szükségességének problémafelvetése</b> ...	18
2.3.1. Esetleírások .....	19
2.3.1.1. Felső végtagi ischaemia-reperfusio esetek .....	19
2.3.1.2. Alsó végtagi ischaemia-reperfusio esetek .....	21
2.3.2. Az időfaktor rövidítése hatékony csontegyesítési eljárással .....	22
<b>3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b> .....	24
<b>3.1. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi kisállat modellen</b> .....	24
3.1.1. Kísérleti állatok .....	24
3.1.2. Műtési protokoll .....	24
3.1.3. Vizsgálómódszerek .....	26
3.1.3.1. Sav-bázis paraméterek meghatározása .....	26
3.1.3.2. Haematocrit és fehérvérsejt szám meghatározása .....	26
<b>3.2. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi nagyállat modellen</b> .....	26
3.2.1. Kísérleti állatok .....	26
3.2.2. Műtési protokoll .....	27
3.2.3. Mintavételek .....	28
3.2.4. Szöveti mikrokeringés mérése .....	29
3.2.5. Szöveti nyomás mérése .....	31
3.2.6. Haemorheologiai vizsgálatok .....	31
3.2.6.1. Vörösvérsejt deformabilitás .....	31
3.2.6.2. Teljes vér és plazma viszkozitás .....	32
3.2.7. Haematologiai vizsgálatok .....	33
3.2.8. Haemostaseologiai – coagulációs vizsgálatok .....	34
3.2.9. Rutin kémiai vizsgálatok .....	34
3.2.10. Szövettani vizsgálatok .....	35
3.3. Adatok rögzítése, archiválása .....	35
3.4. Statisztikai analízis .....	35
<b>4. EREDMÉNYEK</b> .....	36
<b>4.1. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi kisállat modellen</b> .....	36
4.1.1. Haemodinamikai és haematologiai változások .....	36
4.1.2. A pH változásai .....	38
4.1.3. A pCO <sub>2</sub> és pO <sub>2</sub> értékek változása .....	39
<b>4.2. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi nagyállat modellen</b> .....	41
4.2.1. Intraoperatív vizsgálatok és túlélési ráta .....	41
4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás .....	42

4.2.3. Teljes vér viszkozitás .....	44
4.2.4. Plazma viszkozitás .....	45
4.2.5. Fibrinogén koncentráció.....	46
4.2.6. Haematologiai paraméterek .....	48
4.2.7. A coagulációs faktorok változásai .....	50
4.2.8. Összfehérje- és albumin szint változások.....	53
4.2.9. A kirekesztett végtagban lévő vér tulajdonságai .....	54
4.2.10. Arterio-venosus haematologiai különbségek.....	58
4.2.11. A szövettani vizsgálatok eredményei.....	60
4.2.12. A vizsgált paraméterek változásainak összefoglalása.....	63
<b>5. MEGBESZÉLÉS .....</b>	<b>64</b>
<b>5.1. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi kisállat modellen .....</b>	<b>65</b>
<b>5.2. Végtagi ischaemia-reperfusio vizsgálata laboratóriumi nagyállat modellen.....</b>	<b>68</b>
5.2.1. Az ischaemia-reperfusio hatásai .....	68
5.2.1.1. Haemorheologiai és haematologiai változások.....	70
5.2.1.2. A vér coagulációs paramétereinek változása.....	75
5.2.2. A hűtés általános hatásai .....	76
<b>5.3. A klinikai gyakorlat és a kísérletes modellek eredményeinek összevetése.....</b>	<b>78</b>
<b>5.4. Fontosabb eredmények és következtetések összegzése .....</b>	<b>81</b>
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS / SUMMARY .....</b>	<b>83</b>
<b>7. IRODALOMJEGYZÉK.....</b>	<b>85</b>
7.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke .....	85
7.2. Az értekezés alapjául szolgáló <i>in extenso</i> közlemények és könyvfejezetek .....	93
7.3. Az értekezés témájával összefüggő egyéb <i>in extenso</i> közlemények .....	93
7.4. Egyéb közlemények.....	94
7.5. Egyéb könyvfejezetek .....	94
<b>8. TÁRGYSZAVAK .....</b>	<b>95</b>
<b>9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS .....</b>	<b>96</b>
<b>10. FÜGGELÉK – Az értekezés alapját képező megjelent közlemények másolata .....</b>	<b>98</b>

„... A tisztalelkű igazak nem panaszkodnak a rosszra, hanem erősítik az Igazságot.  
Nem panaszkodnak a hitetlenségre, hanem erősítik a Hitet.  
Nem panaszkodnak a tudatlanságra, hanem fokozzák a Tudást ...”  
(Részlet Maimonides orvosi imájából, Ram Kódex)

## 1. BEVEZETÉS

A növekvő számú üzemi és közlekedési baleset következményeként a sérült végtag megmentése kihívás a sebészcsoporthoz (traumatológusok, kézsebészek, plasztikai sebészek) számára. A mikrosebészeti jártasság és a szükséges technikák ismerete lehetőséget teremt a részlegesen vagy teljesen amputálódott végtagok revascularisációjára, az idegek varratára, a korszerű és folyton fejlődő sebészeti módszerek pedig biztosítják a csontok, izmok, inak, valamint a bőrdefektusok ellátását.

Az alsó végtag amputációja általában súlyos trauma következménye és a replantatio nem kecsegtet jó kilátásokkal. Ennek ellenére – különösen Európában – egyre több végtagmegtartó műtétet végeznek. E műtéti típus mindig is hatalmas feladat az orvostudományt művelők számára. A végtag visszaültetése, ami néhány száz éve csodaszámba ment (1. ábra), az mára valós műtéttechnikai lehetőség – igaz, számtalan nehézséggel és ma is tisztázatlan kérdéssel.



**1. ábra**  
Végtag transplantatio korabeli ábrázolása  
*Szent Kozma és Damján csodatétele.*  
(Festmény Schwabenből 1500 körül, Württembergisches  
Landesmuseum, Stuttgart)

A részlegesen vagy teljesen amputálódott végtagok visszaültetésénél (replantatio), illetve a végtagokon végzett műtéteknél kritikus az ischaemiás időtartam és az érintett izomtömeg mennyisége. Ha az ischaemiás idő több óráig tart, akkor az izomelhalás, a veseelégtelenség, az akut légzési distress szindróma (acute respiratory distress syndrome, ARDS) és más szisztémás hatások nagyobb valószínűséggel alakulhatnak ki.<sup>4, 25, 58, 89, 110, 165</sup>

A reperfúziót követő lokális válasz legtöbbször végtagduzzadásból áll, ami súlyosbíthatja a szöveti károsodást és a szisztémás reakciókat, s ezáltal többszervi elégtelenséget (multiple organ failure, MOF) és halált okozhat. E súlyos szövődmények megakadályozása érdekében sokszor művi amputációt szükséges végezni (2. ábra).<sup>89, 146</sup>

A hűtés fontos eleme lehet a sérült végtag megmentésének, akár a végtagoknak a sérülés helyszínéről való szállítása során, akár a végtagi replantációs műtétek ideje alatt, de nem tisztázott a hypothermia optimális hőfoka és időtartama.<sup>41, 120, 123, 146</sup>

Sok esetben nem egyértelmű, hogy a hűtés valóban előnyt jelent-e? Ha nem, akkor milyen körülmények által okozhat nem kívánt hatásokat?<sup>123, 137, 156</sup>

Az acut ischaemia-reperfusio klinikai megfigyelése és laboratóriumi vizsgálatokkal való követése, a reperfúziós szindróma pathomechanizmusa, a kezelés és a kimenetel vonatkozásában eddig rendelkezésre álló kísérletes és klinikai adatok nagy mennyisége ellenére is még mindig sok tisztázatlan kérdés merül fel, és ennek problematikája a mindennapi klinikai gyakorlatban jelentkezik.

**2. ábra.** A végtag amputatio korabeli ábrázolása  
(Hans von Gerssdorff, *Feldtbuch der Wundartzney*, Strassburg, 1517)



Ezen kérdések megoldása számos újabb kísérletek elvégzésére ösztönöz. Az ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás hatása csak részben ismert mikrokeringési, haemorheológiai és haemostaseológiai szemszögből.<sup>39, 71, 81</sup> Nem teljesen tisztázott a lokális hűtés hatásossága ezen paraméterek változásaira.

Ellentmondásos adatok és tapasztalatok állnak rendelkezésre arra vonatkozóan is, hogy bár a hűtés növeli az ischaemiás toleranciát,<sup>60, 123</sup> de hatására számos keringési paraméter kóros irányba változhat.<sup>11, 29</sup> Bizonyos sebészeti beavatkozásokkal szükségszerűen együttjáró érleszorítások-felengedések, valamint a traumás eredetű érsérülések, érelzáródások ugyancsak speciális kérdéskört jelentenek.

A napi klinikai gyakorlat alapján akár részleges, akár teljes végtag amputatumok esetén, annak műtéti megoldásakor a hűtés valamilyen formája előnyös, vagy hátrányos helyzetet teremt-e? Sem a gyakorlat, sem az irodalom nem ad erre egyértelmű választ, holott, ez a sérült szempontjából döntő.

Lehet-e az ismert, modern laboratóriumi módszerek segítségével prognosztikai következtetéseket levonni? Milyen laboratóriumi paraméterek lehetnek alkalmasak a lokális és szisztémás változások kimutatására, a kimenetel prognosztizálására? Van olyan paraméter ezek között, amely a hűtés kérdésében is támpontot nyújthat?

Lehet-e a gyakorlat számára lehetőleg egyszerű kísérleti módszer, modell felhasználásával elfogadható feleletet adni a részkérdésekre, hogy ezzel is biztonságosabb ellátást tudjunk nyújtani?

A sebészi biztonság növelése érdekében a fenti felvetések megválaszolására állatkísérletes modelleket dolgoztunk ki. Mindenek előtt az egyszerű, jól reprodukálható modell kidolgozása volt az alap, hogy egyes kérdéseket vizsgálni lehessen. Kerestük a releváns fizikai, morfológiai, funkcionális és laboratóriumi paramétereket, melyek alkalmasak lehetnek az adott állapot pontos leírására, az ischaemia-reperfusio okozta elváltozások magyarázatára, hogy azok a klinikai tapasztalatokkal párhuzamba vonhatóak legyenek, s a levont következtetések hasznosuljanak a betegágnál.

Az értekezés célkitűzései a fentiek vonatkozásában többirányúak voltak.

## CÉLKITŰZÉSEK

1. Az ischaemia-reperfusio pathophysiologiai történéseinek idevonatkozó rövid irodalmi áttekintését követően *a traumás végtag sérülések* kapcsán a *klinikai tapasztalataink összegzése*, néhány reprezentatív esettel, több kérdést felvetve.
2. Ennek alapján *állatkísérletes műtéti modellek* kidolgozása az ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás hatásainak vizsgálatára.
3. *Laboratóriumi kisállaton* kidolgozott *műtéti modellen* két órás *végtagi ischaemiát* követő *reperfusio* korai szakaszában elemezni a létrejövő hemodinamikai és sav-bázis változásokat, a lehetséges arterio-venosus különbségek tekintetében is.
4. *Laboratóriumi nagyállaton* létrehozott *műtéti modellen* három órás *végtagi ischaemia* és az azt követő *reperfusio* mikrokeringési-, morfológiai vizsgálata, a *szisztémás vérből* folytatott laboratóriumi (haematológiai, haemorheológiai, haemostaseológiai, rutin biokémiai) vizsgálatokkal, a folyamatokat jellemző paraméterek meghatározása céljából.
5. A nagyállat modellen a *hűtés hatásosságának* vizsgálata az előző pontban jelzett paraméterek szisztémás vérből történő meghatározásával, valamint a *kirekesztett végtagban* lévő ún. *lokális vér* tulajdonságainak elemzésével.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ÉS KLINIKAI HÁTTÉR

A különböző eredetű érelzáródások (pathológiás vagy traumás occlusio, laesio, részleges vagy teljes végtagi amputatio, illetve az erek sebészeti beavatkozások során történő szükségszerű és időleges lefogása) az érintett szövetek/szervek ischaemiás jellegű károsodását idézhetik elő.<sup>139</sup> Paradox módon az ischaemiás szövet keringésének újraindulása, azaz reperfüsiója további károsodásokhoz vezethet, amelyek időnként súlyosabbak lehetnek az ischaemia alatt létrejöttéknél. Ez a jelenség *ischaemia-reperfüsiós (I/R)* történések illetve károsodások néven ismert. Bywaters és Beall (1941),<sup>25</sup> valamint Haimovici (1960)<sup>58</sup> vizsgálatai alapján tudott tény, hogy az ischaemiát elszenvedett végtagok reperfüsiója nem csak az érintett szövetekben okoz károsodást, hanem a távolabbi szervekben is.<sup>159, 165</sup>

A végtagi ischaemiát követő reperfüsiós szindrómának két fő komponense van: az egyik a helyi reakció, a végtag megduzzadása, ami tovább fokozhatja a szövetsérülést, a másik a szisztémás reakció, ami többszervi elégtelenséghez (multiple organ failure, MOF) vezethet.

### 2.1. AZ ACUT VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO PATHOPHYSIOLOGIAI TÖRTÉNÉSEI

#### 2.1.1. Metabolikus változások és szabadgyök-reakciók

Az ischaemia és a reperfüsió alatt komplex változások alakulnak ki mind a helyi, mind a szisztémás metabolikus állapotban, az endothel funkcióban, a vér összetételében, a sav-bázis egyensúlyban. Ezek a hatások gyulladásszerű és szabadgyök-képződéshez vezető folyamatokat indítanak el.<sup>4, 53, 110</sup> A gyulladásszerű és metabolikus folyamatok mellett az ischaemia-reperfüsiós károsodás pathomechanizmusában fontos szerepet játszanak a fehérvérsejtek, a trombocyták, a vörösvérsejtek, a leukocytá-endothelium- és a trombocytá-endothelium interakciók, az érpermeabilitás változásai és a génexpressziós eltérések.<sup>26, 27, 37, 53, 78, 99, 100, 105, 110</sup> A complement rendszerben is változások jönnek létre a fenti folyamatokkal összefüggésben.<sup>9, 10</sup> Ezek nagy része a reaktív oxigén intermedierek, a szabadgyök-reakciók direkt vagy indirekt károsító

hatásaira vezethető vissza.<sup>32, 45, 110, 128</sup> A legfontosabb reaktív oxigén intermedierek közé tartozik a szuperoxid anion, a hidrogén-peroxid és a hidroxil-gyök.

A sejt hypoxiája kulcs-szignál, amely a különböző transzkripciós regulátorok aktivációjához vezet, mint például a nukleáris faktor-kappaB (NF- $\kappa$ B), aktivátor protein-1 (AP-1) és több mitogén aktivált protein-kináz (MAPK) útvonal. Az ischaemia során az enzimaktivitásokban, a mitochondriális funkcióban, a cytoskeletalis struktúrában, az ion-transzportban változások jönnek létre, amelyeket a reperfusio során felszabaduló szabadgyökök fellobbanthatnak.<sup>47, 88, 128, 151</sup>

Az ischaemia elsődleges támadáspontja az oxidatív foszforiláció megzavarása a sejtekben. Az intracelluláris ATP szint csökkenése az ATP-dependens folyamatok csökkentése által a sejtek anyagcseréjének globális depresszióját okozza. A kation-gradiens fenntartása energiafüggő folyamat, így a hypoxia a sejtekben kalcium beáramláshoz vezet, és ez aktiválhatja a kalmodulin által regulált proteolitikus enzimeket. Ezeknek szerepe lehet a xantin-dehidrogenáz enzim oxidáz formává való irreverzibilis átalakulásában. Hypoxia során az ATP defoszforilálódik, ami az AMP-szintet nagymértékben növeli a sejtekben. Az AMP ezután tovább bomlik adenzinná, inozinná és végül hipoxantinná, mely szubsztrátja a xantin-oxidáz (XO) enzimnek. A másik szubsztrát az oxigén, amely nagyrészt a reperfusiókor kerül az ischaemiás szövetbe, és szuperoxid képződést indukál.<sup>33, 55, 97</sup> A xantin-oxidáz egyike a legjelentősebb szuperoxid és hidrogén-peroxid forrásoknak.

Hypoxia hatására a légzőláncban is keletkezhet szuperoxid anion, miközben a mitochondrium membránjában elhelyezkedő elektrontranszport-lánc tagjai (NAD, FAD, koenzim Q, citokróm b) redukálódnak.<sup>45</sup> A felszabaduló szabadgyökök tovább aktiválják a redox-szenzitív transzkripciós faktorokat (pl. NF- $\kappa$ B) és elindíthatják az interleukin-1 $\beta$ , a tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) és más gyulladáshoz vezető mediátorok felszabadulását. Az

ischaemia-reperfusio során keletkezett szuperoxid tovább reagálhat az endotheliumhoz kapcsolt nitrogén-oxiddal peroxinitritet képezve, amely toxikus.<sup>110</sup>

Az ATP-dependens iontranszporterek funkciójának csökkenése az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció emelkedéséhez, ezen keresztül pedig a foszfolipázok, proteázok, endonukleázok aktivizálódásához vezet, ami necrosis vagy apoptosis beindítása révén a sejt, illetve a szövetek pusztulását okozza.<sup>4, 110</sup> A foszfolipázok működése során felszabaduló lipidmediátoroknak és az emelkedett intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációnak feltehetően szerepe van a gyulladásos folyamatok, valamint a thrombocyta aggregatio és aktiváció korai beindításában.

Az ischaemia során az ATP kínálat és igény közötti egyensúlybomlás helyreállítása döntő fontosságú lehet a károsodás mértékének korlátozásában. Az amputatum védelmét célzó hűtésnek kiemelkedő szerepe van az alapanyagcsere, és ezáltal az ATP igény csökkentésében. Az alacsonyabb hőmérséklet az anyagcserefolyamatok lassítása révén segít az ATP prezervációban.

A hűtés hatásai ugyanakkor ellentmondásosak, optimuma nem tisztázott az általa okozott nemkívánatos strukturális és funkcionális változások összefüggésében.<sup>41, 120, 123, 137</sup>

### **2.1.2. Microcirculációs és haemorheologiai változások**

Az ischaemia-reperfusió károsodás a microcirculatio területén vasospasmussal, az endothelium duzzadásával, fokozott capillaris permeabilitással, interstitialis oedema kialakulásával, subsequentialis thrombus formációval: összességében a „*slow-reflow*”, illetve a „*no-reflow*” jelenséggel jellemezhető.<sup>2, 3, 20, 99, 100, 114</sup>

Az endothel sejtek pusztulásával thrombogen felület jelenik meg az érpályában, továbbá az endothélből felszabaduló thrombocyta aktiváló faktor (platelet activating factor, PAF) hatására thrombocyta aggregáció és aktiváció következik be, in situ thrombus-képződéssel.<sup>124</sup>

A leukocyták az endothelhez történő adhaesiója a capillarisok szintjén leukostasist eredményez a mikrokeringés gátlásával.

Az oxigén szabadgyökök hatása a vörösvérsejtek membránjának peroxidációja miatt azok deformabilitását csökkenti, ami szintén növeli a vér viszkozitását.

Az endothel direkt- és leukocytamediált károsodása, valamint a gyulladás mediátorai a capillarisek permeabilitásának fokozódását vonják maguk után.<sup>4, 34, 40, 63, 110</sup>

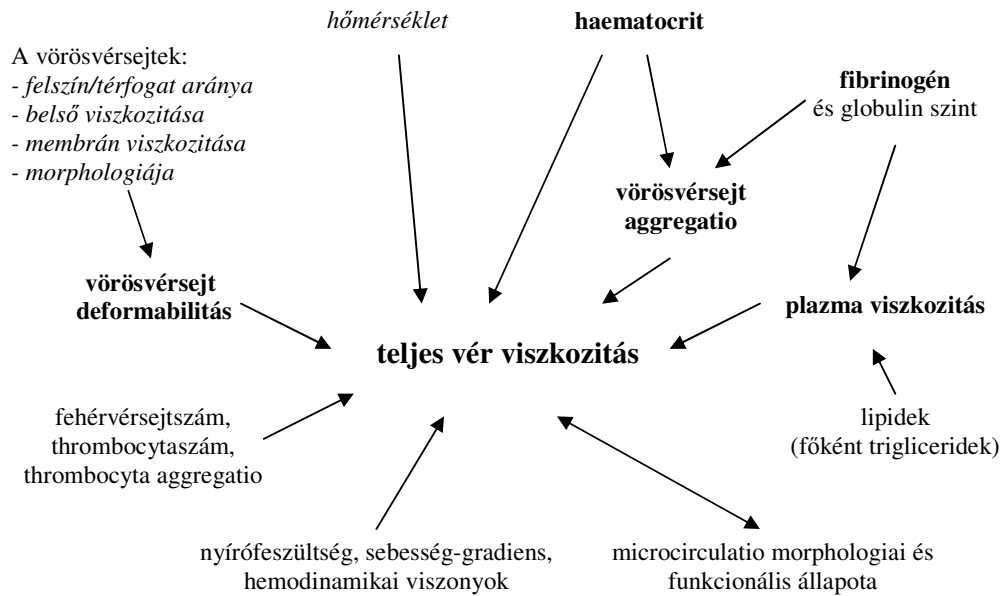
Mindezek a változások folyadék kiáramlást eredményeznek az interstitium felé, a lumenen belül haemoconcentrációval és stasissal, interstitialis oedemával, valamint a kiserek összenyomatásával.

Mіндеzen folyamatok szintén az ún. „no reflow” jelenséget eredményezik, ami az ischaemia-reperfúziós károsodás legsúlyosabb komponense és a therápia sikerességét befolyásoló egyik legfontosabb tényező. A súlyos oedema a revascularisált végtagot compartment syndroma formájában később is súlyos veszélybe sodorhatja az erek kompressziója révén.<sup>5, 6, 7, 89, 158</sup>

A capillarisek permeabilitásának, elsősorban lipidmediátorok hatására bekövetkező növekedése is elősegíti a leukocyták adhaesióját. Ezek hatására egyre több leukocyta halmozódik fel és aktiválódik a sérülés helyén, ami roncsolhatja az ép szöveteket is, tovább súlyosbítva az ischaemia-reperfúziós károsodást és fenntartva a gyulladásos kaskád folyamatok „circulus vitiosus”-át.<sup>16, 40, 48, 75, 80</sup> Mindezek mellett nagy jelentőségűek a haemorheológiai faktorok (teljes vér és plazma viszkozitás, vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio) lokális, majd szisztémás változásai és hatásai.<sup>12, 39, 79, 111, 112, 115</sup>

A vér fő rheológiai paraméterét, a teljes vér viszkozitást számos paraméter és tényező határozza meg, beleértve fizikai tényezőket (hőmérséklet, sebesség-gradiens, nyírófeszültség), morfológiai jellemzőket (érrendszer állapota), funkcionális paramétereket (hemodinamika, folyadék eloszlás), valamint a vörösvérsejt deformabilitást és aggregációt, a haematocritot, a plazma viszkozitást és a fibrinogén koncentrációt (3. ábra).<sup>18, 150</sup> Az ischaemia-reperfúzió számos ponton érintheti ezt a rendszert is: a stasissal, a hemodinamikai viszonyok

megváltoztatásával, a haemostasis változások és acut fázisreakciók útján,<sup>12, 18, 83, 112</sup> továbbá a microhaemorheologiai paraméterek -mint a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio- közvetlenül érintettek lehetnek a szabadgyök-reakciókban.<sup>13, 111, 117, 166</sup> A fehérvérsejtek rheologiai tulajdonságai (deformálhatóság) is változnak az ischaemia-reperfusio során.<sup>24</sup>



**3. ábra**  
A teljes vér viszkozitást meghatározó faktorok és tényezők<sup>18, 112</sup>

Az emberi vörösvérsejtek rendkívül érzékenyek a szabadgyök károsodásokkal szemben, hiszen folyamatosan magas oxigénkoncentrációnak vannak kitéve, membránjuk sok, a peroxidációra hajlamos többszörösen telítetlen zsírsavat tartalmaz, ezen kívül gazdagok vasban, ami a szabadgyök-reakciók egyik katalizátora.<sup>13, 117</sup>

A vörösvérsejtekben oxidatív stressz hatására károsodhatnak a haemoglobin molekulák (methaemoglobin-, haemichrom-, Heinz-test képződés), a membránlipidek (lipidperoxidáció, adduct-formáció) és a proteinek (cytoskeletalis változások, ion-pumpa

inaktiváció, szulfhidril-csoportok oxidációja).<sup>45, 117</sup> A sejtek így rigidebbé válhatnak, membránviszkozitásuk növekedhet, volumenük változhat. Ezt kiegészítik a metabolikus változásokból adódó hatások, döntően a sejtek környezetének osmolaritása és pH-változása.<sup>23, 157</sup>

A vörösvérsejtek oxidatív stressz hatására kialakuló lipidperoxidációja kimutatható lipid fluorescens technikákkal és a vörösvérsejtek szuperoxid-dizmutáz aktivitásának mérésével.<sup>74</sup> A sejtek rigiditásának fokozódásával passzív deformálhatóságuk csökken, ami megnehezíti vagy megakadályozza a szervezet microcapillarisaiban való átjutásukat. A vörösvérsejt deformabilitás változása különböző technikákkal, például filtrációs<sup>38</sup> vagy ektacytometriás<sup>61</sup> módszerekkel mutatható ki.

### **2.1.3. Morphologiai változások a vázizomban**

A vázizomzat a többi szövethez képest viszonylag hosszú ideig tolerálja az ischaemiát, a károsodás sokáig reverzibilis marad.<sup>41, 110</sup> Kísérletes adatok szerint ez az időtartam körülbelül 3 óra, ezen idő után már szignifikánsan magasabb az elhalt sejtek aránya. Mintegy 5 óra ischaemia után már a capillarisek 50 %-ának elzáródását és a funkcionális restitúció hiányát írták le, viszont hűtéssel ez az idő akár 24 órára is növelhető.<sup>109, 119, 146, 161</sup>

Ugyanakkor a vázizomzatban lévő erek endotheliumának károsodása (mely rövidebb ischaemiás periódus alatt is kifejlődik) nagymértékben fokozza a változásokat.<sup>103, 142</sup> Az ischaemia-reperfusio folyamatában további jelentős tényezőként szerepelnek a gyulladáshoz vezető kaszkádfolyamatok által okozott lokális és szisztémás reakciók, valamint a szövetkárosodás.<sup>32, 36, 57, 126, 152, 165</sup> Utóbbi a mitochondriumok duzzadásától kezdve, a lamina basalis, a sarcolemma és a mitochondrium-membrán fragmentációján keresztül és a neuromuscularis junctio ultrastrukturális elváltozásain át egészen a necrosisig terjed. A szövetkárosodás mértéke függ az ischaemia és a reperfusio időtartamától.<sup>110, 126, 140, 149, 154, 155</sup>

A vázizomban kialakuló változások, a mikrokeringési folyamatok és gyulladásoz reakciók az izmok kontrakcióz erejének gyengülésében is megnyilvánulnak.<sup>66, 160</sup> A gyors és lassú izomrostokra vonatkozó változások eltérő dinamikával zajlanak le a reperfusio kezdeti szakaszától kezdődően, majd az azt követő napokban és hetekben.<sup>125</sup>

Összességében az ischaemia-reperfusio számos morphologiai-, sav-bázis-, haematologiai-, haemostaseologiai-, rutin biokémiai- és haemorheologiai paraméterben okoz általános vagy jellegzetes elváltozást.

A klinikai gyakorlatban ritkán adódik lehetőség a paraméterek komplex vizsgálatára.

A rendelkezésre álló technikai és anyagi lehetőségek és az időtényező csak néhány laboratóriumi paraméter vizsgálatát teszik lehetővé.

Ráadásul a különböző esetek eltérő idejű és kiterjedésű ischaemiával, társsérülésekkel, sokszor meglévő krónikus anyagcsere- és érrendszeri betegségekkel tarkítottak.

Tehát ezen változások mértékének és dinamikájának vizsgálata a folyamatok súlyosságának megítélésében, a szövődmények előrejelzésében és a therapiás hatékonyság követésében is fontos szerepet játszhat.

## **2.2. AZ ACUT VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO A TRAUMATOLÓGIAI GYAKORLATBAN**

### **2.2.1. Az első ellátás jelentősége**

A traumás végtagsérülések kapcsán az ischaemia-reperfusio kérdésével minden mentőorvos már pályájának kezdetén találkozik, elsősorban azokban az esetekben, amikor a sérült kimentése elhúzódik vagy komoly nehézségekbe ütközik. A traumás amputatiók is ebbe a kategóriába tartoznak, ahol a végtag megmentésének lehetőségénél kiemelt szerepe van a gyors és szakszerű szállításnak.<sup>14, 52, 147, 148</sup>

Egy súlyos sérült ellátásakor a sebésznek mérlegelni kell a kezelési sorrendet. Amennyiben téved, a beteg élete is veszélybe kerülhet. A prioritások felállítása különösen

nehéz, ha a sérült fiatal és súlyos végtag traumát szenvedett. Gyakran a látvány és a lehetséges technikai megoldások mérlegelése elvonja az ellátó figyelmét, különösen, ha birtokában van a megfelelő műtői és egyéb technikai lehetőségeknek. Előfordul, hogy elsikkadnak a szervezetet érő esetleges egyéb károsodások és azok tünetei.<sup>14, 52, 147, 148</sup>

A fokozódó ischaemia jeleit (mozgászavar, érzészavar, bőrhőmérséklet csökkenése, a végtag hűvös, cyanoticus elváltozása, a pulzus gyengülése vagy elmaradása, a capillaris telődési idő megnyúlása) az életmentés miatt gyakran nem észlelik.

Saját korábbi klinikai vizsgálati anyagunkban a rejtett érsérülés 400 esetből 25%-os arányt mutatott.<sup>62, 148</sup> Az alapvető vizsgálatok a súlyos sérültek praehospitalis ellátáshoz a következők: rutin vérkép (ismétlés!), vércsoport, thrombocytá szám, eszközös vizsgálatok (tapintás, bőrhőmérő, Doppler, pulsoxymeter, color-Doppler, angiographia, digitalis subtractió angiographia).<sup>52, 148</sup>

Rendkívül összetett a polytraumatizált, illetve súlyos sérültek ellátási taktikája. Bár erre megfelelő ellenőrző listák rendelkezésre állnak és bizonyos alapszabályok betartása elengedhetetlen, mégis minden sérült szakszerű ellátása a traumatológiai esetek sokrétűsége miatt egyénre szabott.<sup>52, 148</sup>

Látszólag egyszerűbb a helyzet a felső- és alsó végtagot ért súlyos monotraumák esetében. El kell dönteni, hogy a végtag megtartható-e vagy le kell mondanunk a reconstructióról. Ma, amikor ideális esetben a technikai és a személyi feltételek is adottak, nagyon nehéz a végtag megtartására nemet mondani, különösen akkor, amikor a sérült páciens ép tudatú.<sup>52, 145</sup> A beteg szempontjából pszichésen előnyösebb lenne a végleges megoldás (amputatio), mint reménykedve a végtag megmaradásában, s esetleg a súlyos szövődmények kialakulása után később amputatiót végezni, hosszú intenzív ápolás után. Jelenleg erre lehetőségünk nincs.

Bár létezik a MESS (Mangled Extremity Severity Score, roncsolt végtag súlyossági mutató), mint a végleges ellátási taktikát javasoló pontrendszer, azonban az ellátást mindig az adott szakintézetben dolgozó sebészeti csoportnak kell eldönteni.<sup>69, 77, 145</sup> Még ma sincs prediktív skála annak biztonságos eldöntésére, hogy a roncsolt végtagot (elsősorban comb, lábszár) amputáljuk-e vagy megkíséreljük megtartani? A pontrendszerek csak kiegészítésül szolgálhatnak a sebész számára, figyelembe véve az elbírálást és az eddigi klinikai tapasztalatait. Ezért a végtag replantációjáról, revascularisációjáról csak a végleges ellátóhelyen születet döntés, az esélyek alapos mérlegelése után.

Eddigi tapasztalataim alapján az alkar és a kéz vonatkozásában a posztoperatív szövődmények nem érintik súlyosan az egész szervezetet.<sup>148</sup>

Az alsó végtag esetében különösen térd vagy attól proximális, érsérüléssel járó traumák esetében a szövődmények korán és súlyos formában megjelennek, még akkor is, ha a revascularisatio időben megtörténik és a beteget kezelő orvos-csoport kellő módon felkészült a szövődmények elhárítására.

Ha megtörtént a végtag revascularisációs műtete, mindig ott a kérdés: Meddig tart a vascularisált szövet életképessége, hol vannak a sikeres replantatio határai?

Ezekre a kérdésekre és a sebészi biztonság problémakörére -amely felöleli az ischaemia-reperfusio laboratóriumi paramétereit is- klinikai vonatkozásokban az alábbi rutinszerű vizsgálatokat végezzük:

1. Vérnyomás regisztrálása a reperfusio után. Minél nagyobb az ischaemiás terület reperfusiója, annál valószínűbb a vérnyomáscsökkenés, a shock.
2. A szérumban kálium szint változásai. A magas káliumszintet jelzi az EKG. Az acidózis és a hypoxia potenciálja a kálium intoxikációt.
3. Az arteriális vér pH-változás regisztrálása a helyreállítás alatt.
4. A veseműködési zavarok regisztrálása: a vizelet mennyiségének mérése, CN-, szérumban kreatinin szint emelkedése és myoglobinuria.
5. Szérumban enzim változások követése: CK, GOT, GPT, LDH.

### **2.2.2. Az időfaktor jelentősége**

A sérültek ellátásában és annak szakszerűségében az elsősegélynyújtóknak és az Országos Mentőszolgálatnak (OMSZ) meghatározó szerepe van. Az időfaktor és a szervezési kérdések alapvetően eldöntik a sérült sorsát.<sup>145, 147</sup>

Az Országos Traumatológiai Intézetbe szállított érsérültek átlagos beérkezési ideje 93 perc volt egy korábbi, klinikai adatokat feldolgozó tanulmányunk alapján.<sup>62, 148</sup> Ez az adat jól illeszkedik az OMSZ statisztikához, amelyben ez az időtartam polytraumatizált sérültek esetén 87 perc.

Külön idővesztéssel számolhatunk egyes betegek esetében, ha a területi kórház technikai vagy személyi okokból nincs felkészülve az ellátásra és szekunder transzportot alkalmaznak, azaz tovább kell szállítani a sérültet. Így a hazai gyakorlatban nem ritka a 4-5 órás ischaemiás időtartam sem.

### **2.2.3. Műtéttechnikai lehetőségek előzményei**

A sikeres revascularisatiót és replantatiót megfelelő technológia és eszköztár tette lehetővé. Az operációs mikroszkópot 1921-ben Nylén vezette be fülészeti műtétekhez, tömeggyártását Zeiss 1953-ban kezdte el. 1960-ban Jacobson és Suarez alkalmazta először a ma használatban lévő operációs mikroszkópot, amely jobb fókuszálást, nagyítást és több síkban való mozgást tett lehetővé.<sup>82, 130</sup>

Az első sikeres amputált emberi végtag replantációját a Ronald Malt által vezetett sebész-csoport végezte 1962-ben Bostonban. 1965-ben sikeres ujj-visszavarrásról számoltak be Rhesus majmokon, majd ugyanebben az évben egy avascularisált hüvelykujj sikeres ér-anastomosisáról is volt közlés. Ugyanebben az évben a japán Komatsu és Tamai nevéhez fűződik az első sikeres ujj-visszavarrás.<sup>82, 130</sup>

Az 1970-es években megalakultak a replantációs centrumok és mikrosebészeti laboratóriumok, valamint megindult az eredmények kritikus elemzése. Az 1980-as évekre finomították a technikát és a replantációs ajánlásokat. Ebben az időben szüntették meg azt a szokást, hogy az ideg- és ínvarratokat a skeletalis stabilizáció és az erek folytonosságának helyreállítása után több hónappal végezték el. Az előzőek rossz klinikai tapasztalata alapján a jelenlegi gyakorlat az, hogy egyidőben végzik valamennyi struktúra helyreállítását a replantatio során.

#### **2.2.4. A replantatio kivitelezése a klinikai gyakorlatban**

A replantatio a testtől teljesen levágott rész visszavarrását jelenti. Elkülönítendő a revascularisatiótól, melynek során a részlegesen amputált végtag szövetei egy részének megmarad a folytonossága. A vascularis képletek helyreállítása mindkét esetben kritérium.

*Javallat – ellenjavallat:* Az életkor önmagában nem jelenti a replantatio ellenjavallatát. Replantatióról számolnak be pár hónapos csecsemőknél ugyanúgy, mint 80 év feletti korban. Az idősebb korosztályban elért eredmények rosszabbak, főleg az érzés, erő és koordináció tekintetében. Figyelembe kell venni az anamnézist. Kísérő érbetegségek, a dohányzás és a diabetes mellitus csökkentik az ellátás sikerességét, de nem zárják ki a replantatiót.

Krónikus szív- és érrendszeri betegségek, malignus daganat jelenléte, vese- és tüdőbetegség az altatás túl magas kockázatával járhatnak, hiszen egy ujj amputációjánál akár 3 órát, több ujj esetén akár 24 órát is jelenthet a műtéti megterhelés.

A rheumatoid arthritis, lupus erythematosus és más kollagén érbetegségek szintén csökkentik a sikeresség valószínűségét.

Megfontolást igényelnek a pszichiátriai betegek is. Ha az amputatio öncsonkolás eredménye, a replantatio gyakran sikertelen. Kedvezőbbek az esélyek véletlen balesetből származó amputációk műtéti ellátását követően.

Nem javallt a replantatio, amennyiben a meleg ischaemia meghaladja ujj esetében a 12 órát, proximalis amputaciónál az 5 órát. Az ujj túlélése jobb, mivel kevés izmot tartalmaz. Meggondolandó a replantatio, ha a hideg ischaemiás időtartam meghaladja ujj esetén a 24 órát, proximalis csonkolás esetén a 8 órát (I. táblázat).

**I. táblázat:** Maximális revascularisációs idő különböző amputatumok esetén <sup>130</sup>

<b>Amputatum</b>	<b>Meleg ischaemia (hűtés nélkül)</b>	<b>Hideg ischaemia (hűtéssel)</b>
minimális izomzattal (pl. ujj)	8-12 óra	24 óra
jelentős izomzattal (pl. kar)	4-5 óra	8 óra

Az *amputatum hűtése*: Az irodalmi adatok egy része előírja az *amputatum 4°C-on való tárolását*. Egyes centrumokban ezt az amputatum sós oldatot tartalmazó műanyag zacskóba helyezésével érik el, melyet gondos lezárás után egy örölt jéggel teli konténerbe helyeznek. Fontos, hogy az amputatum ne érintkezzen közvetlenül a jéggel! <sup>82, 106, 130</sup>

*Műtéti technika*. A műtőbe kerülés prioritást élvez. Előnyös két sebészi team felállítása. Először az *amputált testrészt* érdemes először műtőasztalra vinni, majd a képleteket gondosan preparálni, az anastomosisra alkalmas erek és idegek azonosításával és megjelölésével. Ekkor kell az ereket megvizsgálni annak eldöntéséhez, hogy a replantatio kivitelezhető-e. Az extensor és flexor ínakat preparálása a következő lépés. Ez idő alatt fontos az amputatum hidegen tartása.

A betegen általános vagy regionalis *anaesthesiát* alkalmaznak. Az általános anaesthesiát gyakran további regionalis érzéstelenítéssel egészítik ki, mely növeli a perifériás vérátáramlást. A beteg kihűlés elleni védelméről gondoskodni kell. Ezután kerül sor a *csonk kipreparálására*, az erek, idegek és ínak megjelölésével.

Amint mindkét team elkészült a preparálással, *a csontot általában megrövidítik* és különböző fémanyagok alkalmazásával rögzítik, a biztos osteosynthesist jelentő leggyorsabb technikát választva. Ujjak esetében ez általában Kirschner-drót (K-drót) használatát jelenti. A

későbbiekben részletes bemutatásra kerül a saját fejlesztésű kompressziós tűződrót-rendszer, amely nagyobb stabilitást biztosít a hagyományos K-drótos rögzítésekénél.

Ezt követi az *ínvarrat*, itt általában az extensor oldal megelőzi a flexort, majd a *microvascularis anastomosis* elkészítése következik az arterián vagy a vénán. Az anastomosis készítése alatt lényeges az érlumenek gyakori átöblítése hígított heparin oldattal, a minimális adventitia eltávolítás, az erek proximalis és distalis végének óvatos megfogása, megfelelő vastagságú, nem felszívódó szintetikus monofil fonal használata, szükség esetén venás graft alkalmazása a venás pangás elkerülése céljából.

Az egyesítési sorrend alapvetően az anatómiai helyzettől függ, a szakirodalmi források véleménye megoszlik a sorrend tekintetében.

Utoljára történik az *idegek varrata*. A bőrzárásnak feszülésmentesnek kell lenni. Elfogadott az alábbi sorrend is ujjak replantációja esetén: csontegyesítés, hajlítónak egyesítése, arteria- és idegvarrat, az extensor ín, majd a vénák varrata, illetve graftolása.<sup>130</sup>

*Nagyobb végtagok replantációjánál* az arteriák folytonosságának helyreállítása elsőbbséget élvez a vénákkal szemben az izomelhalás mértékének csökkentése és a toxikus metabolitoktól való megtisztítás céljából, melyek a beteg keringésébe jutnának. Szükséges az elhaltak tűnő izmok kiterjedt debridement-je, akár csak a kiterjedt fasciotomia elvégzése.

A gondos műtét előtti és alatti mérlegelésnek és a *microvascularis anastomosis* technikáknak köszönhetően a replantációk sikeressége napjainkra jelentős javulást mutat.

*Többszörös ujj-amputatio* esetén heterotop replantatio végezhető. Például kombinált hüvelykujj és mutatóujj amputatio esetén a mutatóujj replantálható a hüvelykujj helyére, amennyiben a pollex nem menthető meg. Fontossága miatt a hüvelykujj funkciójának helyreállítása elsőbbséget élvez.

*A posztoperatív ellátás* már a műtőasztalon kezdődik. Az *anticoagulációt* Dextrannal, heparinnal (LMWH), thrombocytá aggregációt gátló szerek alkalmazásával biztosítják.

A replantált végtagon a *kötözésre* különös figyelmet kell fordítani a kompresszió elkerülése érdekében. Laza kötést kell alkalmazni, csak az ujjvégek maradhatnak szabadon. A végtagot nem szabad mozgatni. Ha nem csökken az arteriás áramlás, a végtagot megemeljük a műtét befejeztével.

Gyakran adnak szedatívumot a pszichés szorongás okozta vasospasmus csökkentésére. Fontos a fájdalom minimalizálása a megfelelő analgeticumok alkalmazásával. A bőrszín, turgor és hőmérséklet ellenőrzése fontos. A 30°C alatti vagy a normális ujj bőrhőmérsékleténél 2-3 fokkal alacsonyabb hőmérséklet keringési problémát jelez.

A betegnek tartózkodnia kell a dohányzástól és a koffeinfogyasztástól. Ügyelni kell a szoba hőmérsékletére is.

### **2.3. KLINIKAI ESETEK BEMUTATÁSA, A KUTATÓMUNKA SZÜKSÉGESSÉGÉNEK PROBLÉMA-FELVETÉSE**

Három évtizedes orvosi pályafutásom során számtalan végtagsérüléssel találkoztam. A problémafelvetésként és példaként bemutatásra kerülő néhány klinikai eset a Mentőkórházban és az Országos Baleseti és Sürgősségi Intézetben ellátott eseteink közül került kiválasztásra, melyekben felső- és alsó végtagi, különböző ischaemiás időtartamú, revascularisatióra, illetve replantatióra szoruló sérüléseket láttunk el.

Az esetek különbözősége, a balesetek körülményei, a sérültek állapota, az eltérő ischaemiás időtartam, a vérveszteség mértéke, a különböző vizsgált és követett laboratóriumi paraméterek nem teszik lehetővé az összehasonlítást.

Az esetek bemutatása a klinikai háttér egy aspektusát illusztrálja, hangsúlyozva *az ischaemiás időtartam és az időfaktor* jelentőségét, mely *az ischaemia kiterjedésével* együtt nagymértékben meghatározza a *prognózist*.<sup>1, 69, 121</sup> Az esetek során rutinszerűen vizsgált laboratóriumi paraméterek nagy része nem-specifikus változásokat mutatott.

### 2.3.1. Esetleírások

Az esetleírások fotóinak mindegyike saját képanyag, a betegek beleegyezésével kerültek felhasználásra tudományos prezentációk formájában.

#### 2.3.1.1. Felső végtagi ischaemia-reperfusio esetek

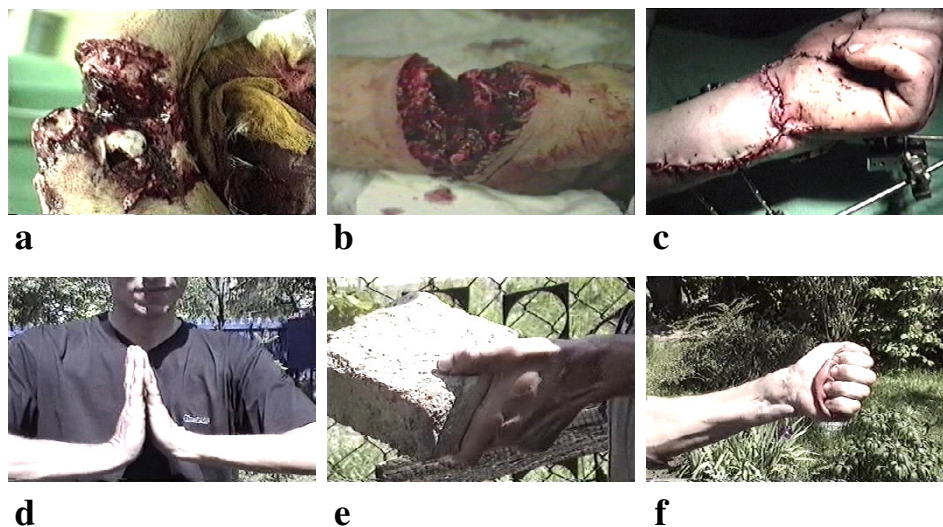
##### KI, 18 éves férfi, (Mentőkórház)

**Esetleírás:** Lakóhelyén körfűrészsel subtotalisan amputálta jobb kezét, a kéz dorsalisán 3 cm széles bőrhíddal csatlakozott az alkarhoz. A fűrész sértette a proximális kéztőcsontokat (os scaphoideum, lunatum, triquetrum). Sérült az arteria radialis, arteria ulnaris, nervus medianus, nervus ulnaris, nervus radialis, valamint a flexor és az extensor apparatus. (4. ábra)

**Diagnosis:** Amputatio subtotalis radiocarpalis dextrae.

**Idő paraméterek:** A sérülés ideje 10:00, kórházba érkezés 10:45, műtőbe kerülés 11:00, reperfusio 13:00, műtét vége 16:00.

**Ischaemia időtartama:** 3 óra.



4. ábra

a) és b) : A sérült végtagról beérkezéskor készült képek  
c): műtéti ellátás utáni fotó  
d), e) és f): funkcionális vizsgálatok 10 évvel a műtét után

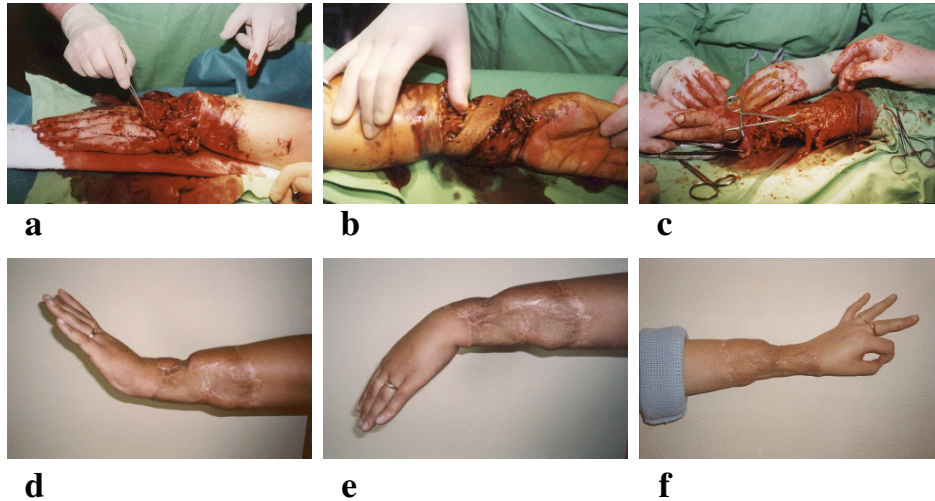
##### VA, 25 éves nő, (Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet)

**Esetleírás:** A 25 éves nőbeteg személygépkocsi vezetőjeként szalagkorlátnak ütközött, melynek leszakadt darabja conquassálta a bal alkarját. A területi kórházon kívül több kórházba szállították, ahol amputatiót ajánlottak.

**Diagnosis:** Conquassatio antebrachii sinistra. Laesio arteriae radialis et ulnaris sinistrae. Laesio nervi mediani, ulnaris et radialis rami muscularis sinistra. Laesio musculi flexoris et extensoris digitorum antebrachii sinistra. Defectus cutis antebrachii sinistra. (5. ábra)

**Idő paraméterek:** A baleset 19:40-kor történt, felvétel és azonnali műtét 0:22-kor, reperfusio kb. 2 óra múlva.

**Ischaemia időtartama:** 6 óra 42 perc.



**5. ábra**

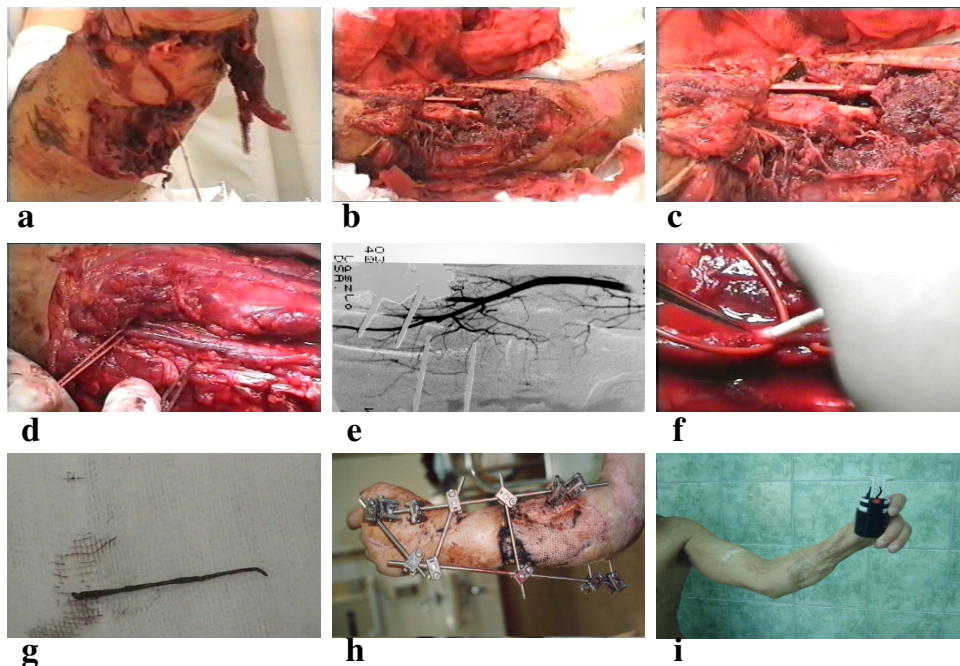
a) és b) : A sérült végtagról beérkezéskor készült képek, c): a műtéti ellátás  
d), e) és f): funkcionális vizsgálatok fél évvel a műtét után

**SzL, 27 éves férfi, (Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet)**

**Esetleírás:** A 27 éves férfi erősen ittas állapotban egy kerítés mellett elaludt, majd egy kutya a kerítésen belülré húzta a bal alkarját és összerágta. A súlyos alkari ischaemia miatt operáció, majd reoperáció történt. Ischaemiás idő 6-8 óra. Szeptikus folyamata miatt ismételt műtéteket (thrombectomia, necrectomiák és bőrplasztikák) végeztünk. (6. ábra)

**Diagnosis:** Vulnus morsum multiplex antebrachii sinistri. Laesio tendinorum et musculorum antebrachii sinistri. Fractura aperta multiplex antebrachii sinistri. Laesio arteriae radialis et ulnaris sinistrae. Epilepsia. Intoxicatio alcoholica. Ebrietas.

**Ischaemia időtartama:** 6-8 óra közé tehető.



**6. ábra**

a), b), c): A sérült végtagról beérkezéskor, az ambulancián készült fotók,  
d) érvarrat, e) DSA felvétel, f) thrombectomia, g) az eltávolított thrombus, h) posztoperatív kép,  
i) funkciós vizsgálat fél évvel a műtét után

### 2.3.1.2. Alsó végtagi ischaemia-reperfusio esetek

#### SG, 39 éves férfi, (Országos Traumatológiai Intézet)

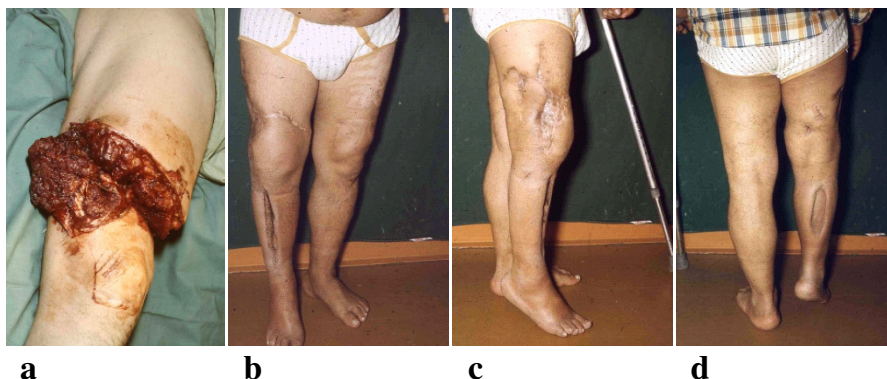
**Esetleírás:** A 39 éves férfi jobb combjára súlyos alkatrész esett, amely a középső harmadban subtotalisan amputálta a végtagot. (7. ábra)

**Diagnosis:** Amputatio subtotalis femoris dextri.

**Idő paraméterek:** Baleset: 7:45. Shocktalanítás. Transfusio. Rtg. Felvételek, laborok: 8:04.

Műtét kezdete: 8:30. Revascularisatio kezdete: 11:30.

**Ischaemia időtartama:** 3 óra 45 perc.



7. ábra

a) a sérült végtagról beérkezéskor, az ambulancián készült felvétel  
b), c), d): a műtét után néhány hónappal készült fotók

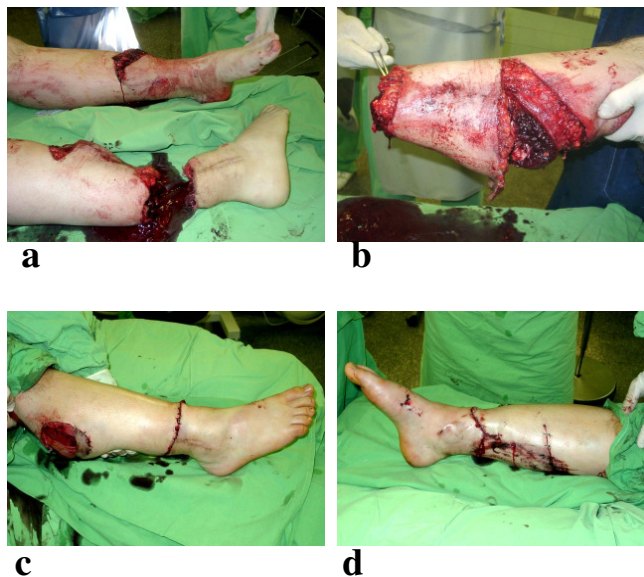
#### GV, 26 éves férfi, (Székesfehérvár, Dr. Szarvas József esete)

**Esetleírás:** A 26 éves férfi személygépkocsi vezetőjeként szalagkorlátnak ütközött. Az éles fém amputálta a beteg jobb lábszárát a középső harmadtól distalisan. (8. ábra)

**Diagnosis:** Amputatio traumatica cruris dextri

**Idő paraméterek:** A baleset 13.30-kor történt azonnali műtét, reperfusio kb. 20.00 órakor.

**Ischaemia időtartama:** 6 óra 30 perc.



8. ábra

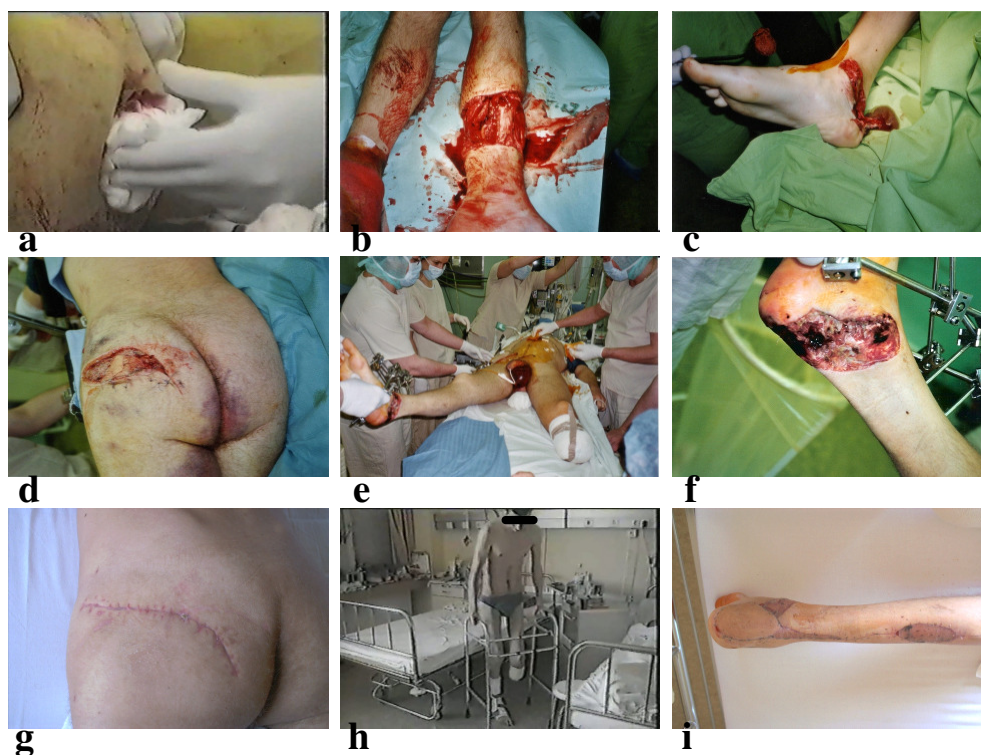
a), b) a sérült végtagról beérkezéskor, az ambulancián készült felvétel  
c), d): a műtét után néhány hónappal készült fotók

## PV, 24 éves férfi, (Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet)

**Esetleírás:** 24 éves férfi motorkerékpár vezetőjeként villanyoszlopnak ütközött, majd az eltört vasbeton oszlopra rázuhant és az árokba esett. A bal glutealis tájon lévő jelentős arteriás vérzése miatt, azonnal műtétet végeztünk. A darabos nyílt lábszártörés az összes anatómiai képletet roncsolta, így a végtagot amputáltuk a lábszár felső harmadában. A jobb oldali nyílt boka-, calcaneus és talus törését fixateur externe-nel rögzítettük. Kiterjedt lágyrészsebeit, nyílt medence sérülését secunder úton láttuk el. Retroperitonealis vérzése miatt laparotomiát végeztünk, majd a későbbiekben többszörös bőrátültetéssel fedtük a jobb boka- és saroktáji hámszínyokat. Septicus állapota miatt intenzív terápiás kezelésben részesült. Septicus, shockos állapota fokozatosan megszűnt. (9. ábra)

**Diagnosis:** Shock haemorrhagica. Fractura aperta ossis ischii et rami inferioris et superioris ossis pubis sinistri. Conquassatio cruris sinistri. Fractura aperta malleoli medialis et tali et calcanei dextri (AO III). Defectus cutis regionis malleolaris medialis sinistrae. Haematoma retroperitoneale.

*A döntés nehézségét bizonyítja betegünk. A súlyosan roncsolt bal lábszár megmentésére fordított időben bizonyára elveszítettük volna a fiatal férfit.*



9. ábra

a), b), c): beérkezéskor, az ambulancián készült képek  
d), e), f): a másodlagos műtétek felvételei  
g), h), i): a gyógyultnak tekinthető beteg fotói

### 2.3.2. Az időfaktor rövidítése hatékony csontegyesítési eljárással

A baleset és a definitív ellátás között eltelt idő rövidítése a legfontosabb. Megfelelő műtéti technika alkalmazásával sok időt lehet nyerni, ha a replantációs műveletek során a gyakorlott sebészkez hatékony és gyors újraegyesítési eljárásokat alkalmaz. Ennek érdekében

dolgoztuk ki 1991-ben a *kompresziós tűződrót-rendszert*. A módszer lehetővé tette a gyors és biztonságos csontegyesítést és az ischaemiás szövetek mielőbbi revascularisatióját.

A kézközépcsont- és ujjperctörések, különösen az ízületközeli, illetve ízületbe hatoló elmozdulásos törések, valamint a replantatiók esetében a későbbi jó funkció érdekében alapkövetelmény a pontos helyretétel és rögzítés. Replantatiók műtéti megoldásánál az időfaktor elsődleges szempont.

Kirschner dróttal végzett retenciós kísérletek, tapasztalatunk szerint az esetek jelentős részében nem jártak megfelelő eredménnyel. A kezdeti lágyrész duzzanat utáni oedema, majd annak regressziója, szinte azonnal distrahálta a törést, hiszen a lágyrész komponensre nem bízható egy ossealis struktúra rögzítése, nem beszélve az extensor ín és az oldalszalagok jelentős ellentétes irányú hatásairól, valamint a körömperc distalis harmadának vérellátási zavarairól adódó későbbi szövődményekről. Az osteosynthesisek (ujjakon is) széles feltárást igényelnek, ami további szöveti károsodást okozhat. A törés konzolidációja után a fémek eltávolítása ismételt széles feltárást tesz szükségessé, mely replantatiók esetén súlyos szövődmény forrása lehet.

*A kompresziós tűződrót-rendszer* előnye, hogy kiküszöböli a fenti nehézségeket.

A klinikai esetek bemutatásával, az időfaktor rövidítését célzó műtéttechnikai eljárás bemutatásával jelezni szerettem volna, hogy az eddigi klinikai munkám során milyen adatokat gyűjtöttem és megfigyeléseket végeztem a traumás érsérülések, amputatiók, replantatiók, a revascularisatio és az ischaemia-reperfusio témakörében.

A klinikai tapasztalatok alapján számos megválaszolandó kérdés gyűlt össze, melyek a kísérletes munka igényét fogalmazták meg bennem. A kérdések komplexitása kétféle állatkísérletes modell kialakítását indokolta, egymásra épített kutatási programok szellemében.

Állatkísérletes modellek tervezésére és kivitelezésére csak 2000-től nyílt lehetőségem a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Sebészeti Műtéttani Intézetében, ahol mindezek tükrében terveztük meg a kísérleteket és a vizsgálati protokollokat.

### **3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

Kísérletes munkánk során két állatkísérletes modell került kidolgozásra: (I.) patkányokon ischaemia-reperfúziós modell két órás hátsó végtagi ischaemiával, valamint (II.) keverék kutyákon három órás végtagi ischaemiát követő reperfúzió vizsgálata öt napos posztoperatív követéses vizsgálatokkal.

#### **3.1. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI KISÁLLAT MODELLEN**

##### **3.1.1. Kísérleti állatok**

Huszonnégy hím, 400-500 g ( $455,71 \pm 57,47$  g) testtömegű Wistar Kyoto patkányt vontunk be a kísérletbe az intézményi Állatkísérleti Bizottság engedélye alapján (Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet).

Az állatokat a kísérlet előtt standard ketrecekben tartottuk, konvencionális táphoz és vízhez való szabad hozzáférést biztosítva számukra. Az anaesthesiát intraperitonealisan alkalmazott Na-pentobarbitállal (Nembutal<sup>®</sup>, 35 mg/kg) végeztük, a fenntartó dózis 15 mg/kg/óra volt.

A kísérlet kivitelezésében a tájékoztató anatómiai tanulmányokhoz és az anatómiai nevek használatánál Hebel R. és Stromberg M.W. 1986-ban megjelent „*Anatomy and embryology of the laboratory rat*” című atlaszát és nomenclaturáját használtuk.<sup>68</sup>

##### **3.1.2. Műtéti protokoll**

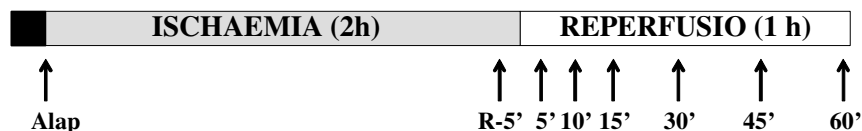
A folyadékbevitel biztosítására minden állatnál preparálásra és kanülálásra került a jobb oldali vena jugularis externa.<sup>92</sup> A kanült heparinos (50 IU/ml) fiziológiás sóoldattal töltöttük fel. A jobb oldali arteria és vena femoralis preparálásra, majd egyenként kanülálásra került direkt vérnyomásmérés, valamint vérminta vételek biztosítására.

A venás kanült úgy helyeztük be, hogy a vége körülbelül 1-1,5 cm-rel a venae iliacaе communes összeömlési szintje fölött legyen. Az arteriás oldalon bevezetett katéterhez csatlakozó mérőegységgel (CardioStar, Experimetria Kft., Budapest) a szívfrekvencia, a systolés és diastolés, valamint az arteriás középnyomás került monitorozásra. Párhuzamosan egy rectalis mérőszonda segítségével a testhőmérsékletet is mértük.

A kísérlet során az állatokat két csoportba osztottuk:

(I.) *Ischaemia-Reperfusio csoport (I/R, n=16)*. A kísérleti protokollt a 10. ábra foglalja össze. Az előkészítést követő 30 perces stabilizációs periódust követően a bal oldali végtagon a ligamentum inguinale vonalához közel, a comb köré helyezett és megfeszített tourniquet segítségével 2 óra időtartamra ischaemiát idéztünk elő.<sup>126</sup> Az ischaemiás periódust megelőzően (Alap), majd a tourniquet oldása előtt 5 perccel (R-5'), továbbá a reperfusio időtartama alatt, annak 5., 10., 15., 30., 45. és 60. percében kis mennyiségű (0,2-0,3 ml) vérminták vételére került sor az arteria és vena femoralisba vezetett kanülon keresztül. Testhőmérsékletű fiziológias sóoldatot (0,5 ml) juttattunk be a vena jugularis externába vezetett kanülon át, minden vérvételt követően.

(II.) *Kontroll csoport (n=8)*. Ezeknél az állatoknál, mint áloperált kontroll csoportnál, nem került sor tourniquet alkalmazására. Az arteriás és venás vérminták vételére a stabilizációs periódust követően (Alap), a reperfusió szakasznak megfelelő periódus előtt 5 perccel (R-5'), majd annak 30. és 60. percében került sor. Az egyes vérminták mennyisége és a folyadékpótlás mértéke az előző csoportban leírtakhoz hasonló volt.



### 10. ábra

A kísérleti protokoll az Ischaemia-Reperfusio csoportban  
(A nyilak a mintavételek időpontjait jelzik)

### **3.1.3. Vizsgálómódszerek**

#### *3.1.3.1. Sav-bázis paraméterek meghatározása*

Radiometer-Koppenhagen ABL330 berendezéssel mind az arteriás, mind a vénás mintából meghatározásra kerültek a pH és a vérgáz parciális nyomás értékek (pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub> [mmHg]).

#### *3.1.3.2. Haematocrit és fehérvérsejt szám meghatározása*

A vérminták kis mennyiségére való tekintettel a haematologiai paraméterek közül a haematocrit értéket microcapillaris módszerrel (Janetzky), a fehérvérsejt számot pedig a visszamaradt vérből Bürker kamra alkalmazásával határoztuk meg.

## **3.2. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI NAGYÁLLAT MODELLEN**

### **3.2.1. Kísérleti állatok**

Kísérleteinket a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyével (50/2001. DE MÁB) huszonnégy, 3-4 éves keverék kutyán (18-26 kg; 23,79 ± 4,05 kg) végeztük. A kísérletbe vont állatokat egyedi ketrecekben tartottuk, normál vegyes étrendet, vízhez való szabad hozzáférést és az állat igényei szerinti szabad mozgás lehetőségét biztosítva. A 18-22 °C-os helyiségekben a fényciklus napszaknak megfelelő volt. A kísérletes műtéteket követően az állatok egyedi ketrecekbe kerültek, a szükséges állatorvosi felügyelet biztosítása mellett.

Az állatok altatását Ketamin (10 mg/kg) és Xylazin (1 mg/kg) i.m. adásával biztosítottuk a műtéti periódusban, óránként felezett dózisban, EKG monitorozás mellett. Ezt követően preparáltuk és kanüláltuk a bal oldali vena jugularis externát.

### 3.2.2. Műtéti protokoll

Az állatokat random 4 kísérleti csoportba osztottuk:

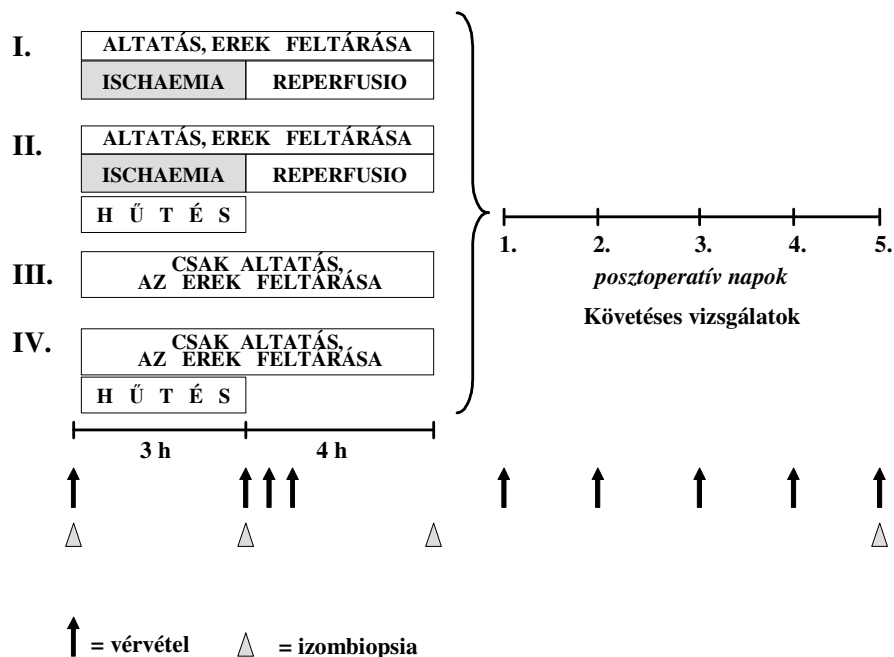
(I.) *Nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport (nem hűtött I/R):* jobb oldalon a ligamentum inguinaléval párhuzamosan metszést ejtettünk és feltártuk az arteria és vena femoralist, majd azokat érleszorító eszközzel 3 óra időtartamra lezártuk. Ezzel egyidőben a lágyrészek kirekesztése (a preparált femoralis erek alatt) a comb körül megfeszített, műanyag borítású acélhurokkal történt. Az érleszorító eszközöket a 3 óra ischaemia letelte után távolítottuk el, az acélhurok eltávolítása csak újabb 4 óra elteltével, azaz a reperfusio negyedik órája végén történt.

(II.) *Hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport (hűtött I/R):* az ischaemia-reperfusio kivitelezése az előző csoportnál leírtakkal azonos módon történt. Az ischaemia ideje alatt 3 óra időtartamra a comb köré jégtömlőket helyeztünk, amelyeket a reperfusio kezdetekor eltávolítottunk.

(III.) *Nem hűtött Áloperált csoport (nem hűtött Ál):* feltártuk és preparáltuk az arteria és vena femoralist. A seb nedves steril gézlapos fedését követően, 7 óra múlva sebzárás történt.

(IV.) *Hűtött Áloperált csoport (hűtött Ál):* az arteria és vena femoralis preparálása a nem-hűtött Áloperált csoporttal azonos módon történt. A femoralis erek műtéti feltárását és a seb lefedését követően a hűtés kivitelezése az előzőekben ismertetett módon zajlott.

A kísérleti csoportokat a műtéti- és mintavételi protokollal együtt a 11. ábra foglalja össze vázlatosan.



### 11. ábra

Kísérleti protokoll keverék kutyán a csoportoknak megfelelően (a nyilak a szisztémás vénás vérminták-, a szürke háromszögek a m. tibialis anterior-ból vett izombiopsiák vételének idejét jelzik)

Mind a négy kísérleti csoportban az érintett végtagok hőmérsékletét digitális hőmérő egységgel monitoroztuk (Experimetria Kft., Budapest): a steril mérőszondát a bőrfelszínre, a bőr alatti rétegekbe és 1-2 cm mélyen az izomba helyezve a comb és a lábszár különböző területein. A műtéti protokoll harmadik órájának végén nyert adatokat összehasonlítottuk.

Az állatok viselkedését, mozgását a posztoperatív napokon videofelvételeken és jegyzőkönyvben rögzítettük.

### 3.2.3. Mintavételek

A vérminták vételének rendjét és helyét az egyes kísérleti csoportokban a II. táblázat foglalja össze. A mintavételek módját az egyes laboratóriumi paraméterek meghatározásánál kívánom részletezni.

## II. táblázat: A kísérleti protokoll szerinti vérvételek ideje és helye

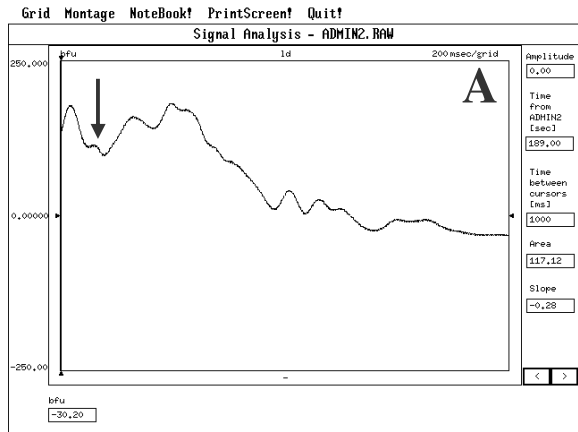
A vérvétel ideje		A vérvétel helye
<i>Áloperált csoportok</i>	<i>Ischaemia-Reperfusio csoportok</i>	
Műtét előtt	Műtét előtt	v. cephalica
–	közvetlenül a femoralis erek felengedése előtt	a kirekesztett végtag v. femoralisa
3 órával a femoralis erek preparációját követően (3h)	3 órás ischaemia után, a reperfusio kezdetekor (3h)	v. jugularis externa
30 perc elteltével (3h+30')	a reperfusio 30. percében (3h+30')	v. jugularis externa
újabb 30 perc elteltekor (3h+60')	a reperfusio 60. percében (3h+60')	v. jugularis externa
1-5. posztoperatív napokon	1-5. posztoperatív napokon	v. cephalica

### 3.2.4. Szöveti mikrokeringés mérése

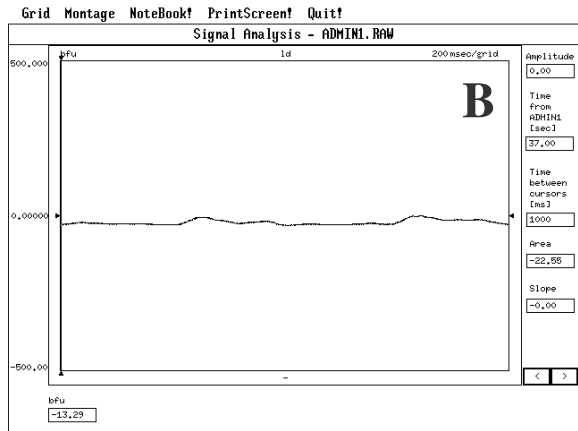
A kísérleti protokollnak megfelelően történő ér- és végtag leszorításkor a végtagi keringés megszűnését, majd a leszorítás felengedésekor a keringés visszatérését laser Doppler módszert<sup>44, 70, 118, 141</sup> alkalmazó szöveti áramlásmérővel (LD-01 Laser Doppler Flowmeter, Experimetria Kft., Budapest) követtük.

A laser Doppler mérőfejet (NP-100 Standard Pencil Probe) a tuberositas tibiae-be fűrt csatornába helyeztük és rögzítettük,<sup>162</sup> a mért jelet folyamatosan regisztráltuk (Haemosys software-hardware konfiguráció, Experimetria Kft., Budapest).

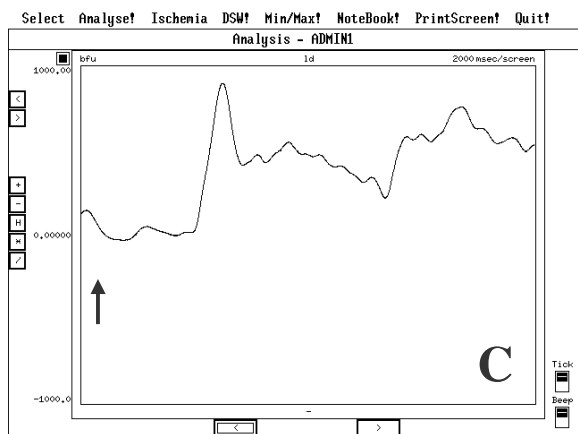
Az intraoperatíván alkalmazott készülék segítségével az ischaemiás csoportokban jól követhető és bizonyítható a leszorítást követően a distalis keringés megszűnése, majd a reperfúciónak megfelelő keringés-újraindulás a tibia csontvelőben (12. A, B, C ábra).



12. A ábra Érzésvorítás (↓), az ischaemia kezdete



12. B ábra A keringés megszűnése, az ischaemia periódusa



12. C ábra Érfelengedés (↑), a reperfusio kezdete

### 3.2.5. Szöveti nyomás mérése

Az Ischaemia-Reperfüsiós csoportokban az ischaemiás periódus letelte után, az Áloperált csoportokban az erek preparálását követő harmadik órában manometriás módszerrel (13. ábra) mértük a szöveti nyomást (Hgmm) a lábszár elülső izomrekeszében.



**13. ábra**

A szöveti nyomás mérése manometriás módszerrel, higanyos vérnyomásmérő segítségével

### 3.2.6. Haemorheologiai vizsgálatok

#### 3.2.6.1. Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitást filtrációs módszerrel vizsgáltuk, melyhez meghatározott haematocrit értékű mosott vörösvérsejt-szuszpenzió elkészítése szükséges.

A Na-heparinnal anticoagulált vérmintákat (143 IU, BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, U.K.) 2500 g mellett 10 percig centrifugáltuk, majd eltávolításra került a plasma és a 'buffy coat'. A sejtsuszpenziót hígítottuk foszfát pufferrel (PBS; pH=7,4, osmolaritás=295±5 mOsm/l), majd újra centrifugáltuk és eltávolítottuk a felülúszót. Ezt a műveletet megismételtük. Az utolsó centrifugálás után a szuszpenziót 1:1 arányban PBS oldattal hígítottuk, majd meghatároztuk a haematocrit értékét Janetzky-kapilláris centrifugával

(5 perc). A kapott haematocritnak megfelelően a mintát PBS-sel tovább hígítottuk a méréshez szükséges 5%-os sejtszuszpenzió-haematocritra.

A St. George's Blood Filtration módszer alapján, filtrációs elven működő Carat FT-1 típusú filtrométerrel (Carat Diagnosztika Kft., Budapest) határoztuk meg a vörösvérsejtek deformálódási képességét.<sup>38</sup> A standardizációs elveknek megfelelően a méréseket a mintavételtől számított 2 órán belül elvégeztük. A mérések kontrollált  $22 \pm 1$  °C-os környezetben történtek, az 5%-os vörösvérsejt-szuszpenziót 5 µm átlagos pórusátmérőjű polycarbonat filteren áramoltattuk át (Nuclepore<sup>®</sup>, Whatman Inc.) állandó (negatív) áramlási nyomás mellett (4 vízcm).<sup>15, 112, 113, 144</sup> A kontrollt a kalibráláskor átáramoltatott PBS oldat filtrációs sebesség értékei képezik.

A metodika szerint a kalibráció után a minta-folyadékoszlop haladási sebességét 4 fényforrás-fotodetektor pár jeléből számítja ki egy szoftver, meghatározza a kezdeti relatív filtrációs sebességet (initial relative filtration rate, IRFR), majd a betáplált szuszpenzió-haematocrit érték alapján kiszámításra kerül a relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT). Mindkét paraméter dimenzió nélküli szám. Az RCTT értékek fordítottan arányosak a vörösvérsejtek deformabilitásával: a filtráció során nehezen deformálódó sejtek lassabban haladnak át a filteren, így a tranzitidő megnyúlik.<sup>17, 18, 38</sup>

### 3.2.6.2. Teljes vér és plazma viszkozitás

A viszkozitás méréséhez a vérmintákat zárt rendszerben, Na-heparinnal bevont vérvételi csövekbe bocsátottuk le (143 IU, BD Vacutainer<sup>®</sup>, Belliver Industrial Estate, U.K.). A mintavétel során kerültük a strangulatiót, megelőzve a vér pangását.<sup>15</sup> A plazma mintákat centrifugálással nyertük (1500 g, 10 perc).

A viszkozitás mérések kivitelezése a mintavételtől számított 2 órán belül Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel (Hemorex Kft., Budapest) történt. A mérések során a minta-

folyadék (plazma vagy teljes vér) saját hidrosztatikus nyomásából eredően mozog temperált (37 °C) olajfürdőbe merülő függőleges üvegapilláris-csőben (hossz: 500 mm, belső átmérő: 0,6 mm), amely mentén 40 pár fotodetektor található. A készülék opto-elektronikusan rögzíti a folyadékoszlop tetejének megvilágításakor fényt szóró meniscus pontos helyzet-idő diagramját. Az egyes sebességértékekből ki lehet számítani a mérőcső belső fala és a minta között keletkező sebesség-gradiens értékeket (tartomány: 10-240 s<sup>-1</sup>), ezekhez hozzá lehet rendelni az aktuális hidrosztatikai nyomásból eredő nyírófeszültségeket, melyek együttesen meghatározzák a mintafolyadék viszkozitás értékeit.<sup>18</sup>

A teljes vér viszkozitásának jellemzésére a konvenciónak megfelelően 90 s<sup>-1</sup> sebesség-gradiensnél mért értékeket [mPa s] használtunk. Mivel a teljes vér viszkozitás nagymértékben haematocrit függő, a Mátrai Árpád és munkatársai<sup>96</sup> által kidolgozott matematikai formula alapján a 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás értékeket is meghatároztuk:

$$\frac{TVV_{40\%}}{PV} = \left( \frac{TVV_{Htc}}{PV} \right)^{\frac{40\%}{Htc}}$$

ahol TVV<sub>40%</sub> = a 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás; TVV<sub>Htc</sub> = az adott haematocritú minta teljes vér viszkozitása; PV = a minta plazma viszkozitása; Htc = a minta haematocritja, amely képletből a TVV<sub>40%</sub> kifejezhető.<sup>96</sup>

### 3.2.7. Haematologiai vizsgálatok

A kvantitatív és kvalitatív haematologiai paramétereket Sysmex F-800 típusú automatával (microcell counter) határoztuk meg (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Japan). A vizsgálatokhoz K<sub>3</sub>-EDTA-val (7,5%, 0,040 ml, BD Vacutainer<sup>®</sup>, 388625, 2 ml, Belliver Industrial Estate, UK) anticoagulált vért használtunk.

Meghatározásra került a fehérvérsejt szám (Fvs [x10<sup>3</sup>/μl]), a lymphocyta-, valamint a monocyta+granulocyta százalék (Lymph%, Mo+Gr%) és abszolút szám (Lymph, Mo+Gr

[ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]), a vörösvérsejt szám ( $V_{vs}$  [ $\times 10^6/\mu\text{l}$ ]), a haematocrit (Htc [%]), a haemoglobin koncentráció (Hgb [g/dl]), az átlagos vörösvérsejt térfogat (mean corpuscular volume, MCV [fl]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (mean corpuscular hemoglobin, MCH [pg]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC [g/dl]), a vörösvérsejt eloszlási szélesség (red cell distribution width, RDW-CV [%]), a thrombocyta szám (Thr [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]) és az átlagos thrombocyta térfogat (mean platelet volume, MPV [fl]).

A mérések kivitelezésénél, az eredmények értékelésénél figyelembe vettük a készüléket gyártó cég kutatócsoportjának állatvér vizsgálatokra vonatkozó ajánlásait,<sup>107</sup> valamint az állatorvosi laboratórium diagnosztikai útmutatásait.<sup>51</sup>

### **3.2.8. Haemostaseologiai – coagulációs vizsgálatok**

A vizsgálatokhoz a vért zárt rendszerben Na-citrátot tartalmazó csövekbe bocsátottuk le (0,129 M, BD Vacutainer<sup>®</sup>, 15063, 1,8 ml, Belliver Industrial Estate, UK). Sysmex CA-500 automata coagulometerrel (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japan), standard reagensok használatával (Sigma Diagnostic Inc., St. Louis, USA) meghatározásra került a prothrombin idő (PI, [s]), az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI, [s]), a thrombin idő (TI, [s]) és a fibrinogén koncentráció (Fbg, [g/l]).

### **3.2.9. Rutin kémiai vizsgálatok**

A levehető vér mennyiségi korlátai miatt a rutin kémiai paraméterek közül a szérum összfehérje- [g/l] és albumin szint [g/l] került meghatározásra fotometriás módszerrel (PraxisLab, 540 nm, reagensok: Total Protein, Albumin, Fábio Kft., Budapest).

### **3.2.10. Szövettani vizsgálatok**

A műtétek előtt, az ischaemiás idő letelte után, a 4 órás reperfúziós időszak végén, valamint az ötödik posztoperatív napon altatásban mindkét oldali musculus tibialis anteriorból 3x3 mm-es biopsziát vettünk szövettani vizsgálat céljából, melyeket 4%-os formaldehid oldatban fixáltunk. Paraffin beágyazást követően a metszeteken haematoxylin-eosin festés történt. A fénymikroszkópos vizsgálatot és kiértékelést pathologus végezte.

Az izomszövet metszeteken a capillaris átmérőket 400-szoros nagyítás alatt ocular-micrometerrel határoztuk meg, 10-10 látóterenként.<sup>108</sup>

### **3.3. Adatok rögzítése, archiválása**

A kísérlet lépéseit minden állatnál műtéti dokumentációkon (altatási lap, műtéti jegyzőkönyv, utókezelési lap) írásban és számítógépen rögzítettük. A számszerű adatokat, laboratóriumi paramétereiket, a leletek kiértékelését, a kísérlet fotódokumentációját számítógépen rögzítettük, a laboratóriumi mérési jegyzőkönyvek folyamatos vezetése mellett. A fotódokumentáció RICOH RDC-7 digitális fényképezőgéppel készült.

### **3.4. Statisztikai analízis**

Az adatokat átlag és szórás (S.D.), standard hiba (S.E.) formájában adtuk meg. A statisztikai elemzéshez a SigmaStat for Windows szoftvert (SigmaStat, 1992-1994., Jandel Scientific Co., Németország) használtuk. Az összehasonlítást ANOVA tesztekkel végeztük, csoportokon belül Dunnett's tesztet, a csoportok között Kruskal-Wallis tesztet alkalmazva. A kirekesztett végtagból vett vérminták csoportok közötti összehasonlításánál Mann-Whitney rank sum tesztet, csoporton belül a saját szisztémás mintákkal való összehasonlításhoz Wilcoxon tesztet alkalmaztunk. A szignifikancia szint  $p < 0,05$  volt.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI KISÁLLAT MODELLEN

#### 4.1.1. Haemodinamikai és haematologiai változások

A haemodinamikai és haematologiai paraméterek változásait a III. táblázat foglalja össze.

Az Ischaemia-Reperfusio csoportban az *arteriás középnyomás (mean arterial pressure, MAP [Hgmm])* csökkent az ischaemiás periódus végére, majd további, az alapértékekhez képest közel 20%-os csökkenést mutatott a reperfusio első órájában. A legalacsonyabb értékeket a reperfusio 15. percében mértük. A 15., 30. és 45. perc értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak az alapértékekhez képest. A legalacsonyabb értéktől a MAP emelkedni kezdett, a 60. percben majdnem elérte a reperfusio első perceiben mért értékeket. A Kontroll csoportban a MAP enyhe csökkenést mutatott a kísérleti periódus végére.

A *szívfrekvencia (heart rate, HR [1/min])* a kísérlet teljes ideje alatt enyhén emelkedett, a *testhőmérséklet* nem változott.

A *fehérvérsejt szám (Fvs [ $10^3/\mu\text{l}$ ])* az Ischaemia-Reperfusio csoportban emelkedést mutatott az ischaemiás periódus végére, amely emelkedés az arteriás mintában szignifikánsnak mutatkozott az alapértékekhez viszonyítva. A kísérlet reperfuziós szakaszában mindkét vizsgálati csoportban csökkent a fehérvérsejt szám mind az arteriás, mind a venás mintákban. Ez a csökkenés az alaphoz képest az Ischaemia-Reperfusio csoportban volt szignifikáns.

A *haematocrit értékek (Htc [%])* közel azonosak voltak az alap arteriás és venás vérmintákban. Az ischaemiás periódus végére az értékek enyhén emelkedtek, majd a reperfuziós szakaszban a Kontroll csoportban mérsékelt, az Ischaemia-Reperfusio csoportban kifejezettebb, de lassú csökkenést mutattak.

**III. táblázat:** Haemodinamikai paraméterek, valamint a fehérvérsejt szám és a haematocrit változása a reperfusio előtt és a reperfusio első órájában

Paraméter	Alap	R-5'	Reperfusio ideje						
			5'	10'	15'	30'	45'	60'	
MAP [Hgmm]	102,81 ± 16,12	96,12 ± 15,66	93,43 ± 15,03	88,06 ± 16,48	81,26 ± 16,27*	85,13 ± 18,66*	84,46 ± 14,06*	88,07 ± 18,38	
	105,67 ± 15,02	108,73 ± 16,02				101,03 ± 18,56		98,05 ± 13,02	
HR [1/min]	378,88 ± 35,68	378,76 ± 40,05	383,88 ± 37,52	382,43 ± 36,44	383,31 ± 39,1	389,21 ± 23,38	393,53 ± 33,45	401,92 ± 44,62	
	385,33 ± 42,0	388,53 ± 38,15				395,31 ± 22,0		396,55 ± 35,02	
T [°C]	37,34 ± 0,89	37,47 ± 0,70	37,32 ± 0,82	37,21 ± 0,85	37,25 ± 1,09	37,41 ± 1,27	37,27 ± 0,93	37,30 ± 0,89	
	37,03 ± 0,75	37,13 ± 0,56				37,35 ± 0,98		37,08 ± 0,75	
Fvs [10 <sup>3</sup> /μl]	A	9,58 ± 2,57	10,45 ± 4,11	8,83 ± 3,93	8,27 ± 3,75	7,68 ± 3,19	6,18 ± 2,24*	5,84 ± 1,85*	6,06 ± 1,81*
		7,39 ± 1,85	8,82 ± 4,01				7,37 ± 2,39		6,55 ± 1,10
	V	9,72 ± 2,19	10,65 ± 3,09 <sup>+</sup>	8,91 ± 3,93	8,81 ± 3,37	7,52 ± 2,81	6,41 ± 2,00*	6,08 ± 2,18*	6,35 ± 2,21*
		8,03 ± 1,05	7,45 ± 1,88				7,32 ± 2,27		7,06 ± 1,48
Htc [%]	A	43,84 ± 3,91	44,73 ± 5,06	43,68 ± 5,10	42,35 ± 4,98	41,28 ± 5,28	41,92 ± 5,17	42,64 ± 4,84	41,69 ± 5,29
		45,42 ± 1,81	45,37 ± 1,50				44,12 ± 2,29		43,50 ± 1,64
	V	43,20 ± 4,36	44,33 ± 5,39	44,46 ± 5,11	43,25 ± 4,68	41,57 ± 4,79	40,83 ± 6,13	41,92 ± 5,16	41,92 ± 5,29
		46,37 ± 2,67	45,87 ± 19,95				44,50 ± 2,20		43,62 ± 2,06

A Kontroll csoport adatai *dőlt betűvel* kerültek jelzésre.

MAP = mean arterial pressure (arteriás középnyomás), HR = heart rate (szívfrekvencia), T = testhőmérséklet, Fvs = fehérvérsejt szám, Htc = haematocrit

A = arteria femoralis, V = vena femoralis minták, R - 5' = a reperfusio előtt 5 perccel vett minták, mérések

átlag ± S.D.

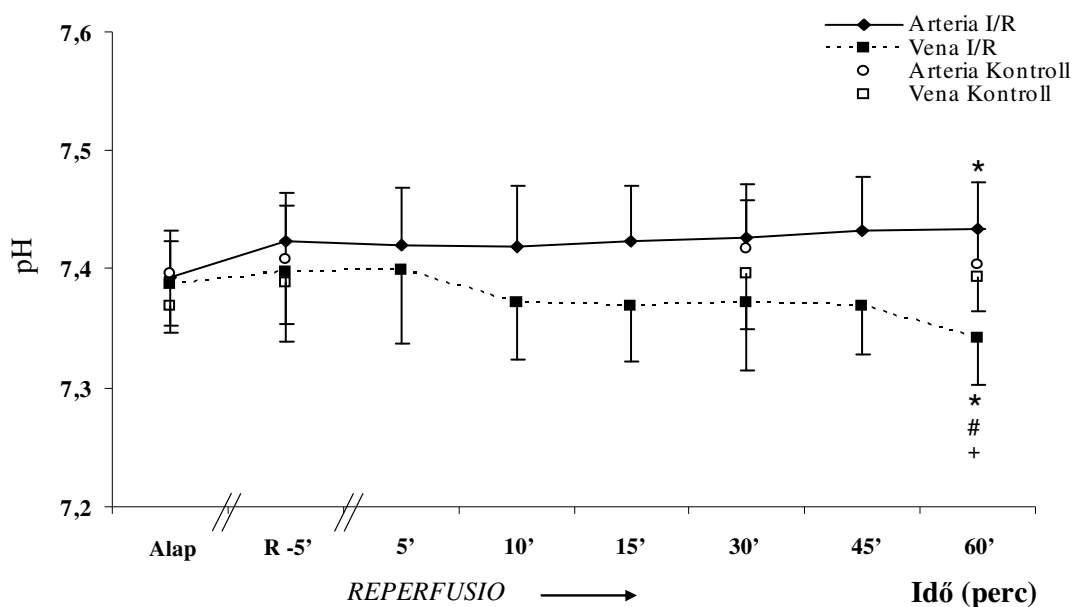
p<0.05, \* vs. Alap, <sup>+</sup> vs. Kontroll

#### 4.1.2. A pH változásai

A pH értékek (14. ábra) az Ischaemia-Reperfusio és a Kontroll csoportban kezdetben közel azonosak voltak mind az arteriás (I/R:  $7,393 \pm 0,039$ , Kontroll:  $7,396 \pm 0,028$ ), mind a venás vérmintákban (I/R:  $7,387 \pm 0,034$ , Kontroll:  $7,369 \pm 0,022$ ).

Az Ischaemia-Reperfusio csoportban a vér pH értékek enyhén emelkedtek az ischaemiás periódus végére (arteria:  $7,423 \pm 0,04$ , vena:  $7,397 \pm 0,043$ ). A Kontroll csoportban a pH sem az arteriás, sem a venás vérben nem változott jelentősen.

Az Ischaemia-Reperfusio csoportban a tourniquet oldását követően a szisztémás venás vér pH-ja folyamatosan csökkent a reperfusio 15. percéig, majd egy stabilnak tűnő szakasz után a reperfusio 45. percétől ismét csökkenést mutatott. A legalacsonyabb értékeket a 60. percben mértük:  $7,341 \pm 0,039$ . Az arteriás pH majdnem változatlan maradt a reperfusiók során, így kifejezett arterio-venosus különbségek mutatkoztak már a reperfusio 10. percétől. (14. ábra)



14. ábra

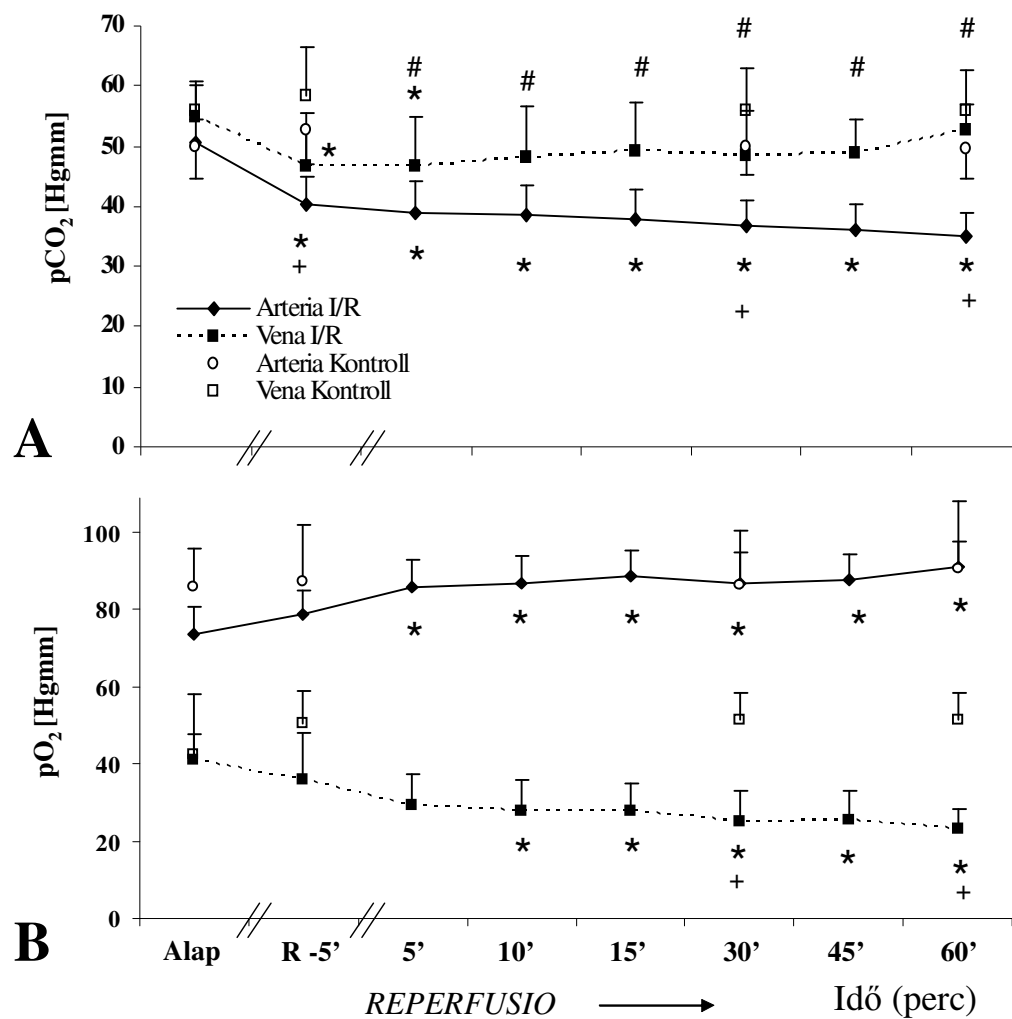
Az arteriás és venás vér pH értékeinek változása (átlag  $\pm$  S.D.) az Ischaemia-Reperfusio (I/R) és a Kontroll csoportban, patkánykísérletben.  
 $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. Arteria, + vs. Kontroll

### 4.1.3. A pCO<sub>2</sub> és pO<sub>2</sub> értékek változása

A pCO<sub>2</sub> értékek (15.A ábra) anaesthesiában a sebészi preparálást és a stabilizációs periódust követően közel azonosak voltak az Ischaemia-Reperfusio és Kontroll csoportban, mind az arteriás alapértékek (I/R: 50,54 ± 3,85 Hgmm, Kontroll: 50,0 ± 5,3 Hgmm), mind a venás vérmintákban mért kiindulási értékek tekintetében (I/R: 54,8 ± 5,95 Hgmm, Kontroll: 55,8 ± 4,2 Hgmm). Az Ischaemia-Reperfusio csoportban a 2 órás ischaemiás periódus végén a reperfusio előtt (R-5') a pCO<sub>2</sub> értékek csökkenést mutattak (arteria: 40,24 ± 4,72 Hgmm, vena: 46,7 ± 8,85 Hgmm). A venás pCO<sub>2</sub> mérsékelt, de folyamatos emelkedést mutatott a reperfusio alatt, míg ehhez képest az arteriás pCO<sub>2</sub> alacsonyabb maradt, csökkenő tendenciát jelezve. A Kontroll csoportban nem mutatkozott jelentős eltérés, a kezdeti arterio-venosus pCO<sub>2</sub> különbség mértéke nem változott, a reperfusiós szakasznak megfelelő periódus kezdetére enyhe emelkedés látszott, majd a mért értékek közel változatlanok maradtak a teljes hátralévő kísérleti periódus során (15.A ábra).

A pO<sub>2</sub> érték (15.B ábra) anaesthesiában, preparálást és stabilizációs periódust követően az Ischaemia-Reperfusio csoportban arteriás mintában 73,46 ± 7,37 Hgmm, a Kontroll csoportban 85,9 ± 10,0 Hgmm volt, a venás alapérték 40,90 ± 16,96 illetve 42,6 ± 5,0 Hgmm volt a két csoportban. Az Ischaemia-Reperfusio csoportban a 2 órás ischaemiás periódus végére az arteriás pO<sub>2</sub> emelkedett (78,8 ± 6,02 Hgmm), a venás pO<sub>2</sub> csökkent (35,67 ± 12,33 Hgmm). A Kontroll állatokban a 2 órás szakasz végére a pO<sub>2</sub> értékek mind az arteriás, mind a venás mintákban emelkedtek (87,5 ± 14,6 és 50,6 ± 8,2 Hgmm, egyenként), majd a hátralévő 1 órás periódus alatt nem mutattak további jelentős változást. Az Ischaemia-Reperfusio csoportban a pO<sub>2</sub> változásai a párhuzamos respiratorikus kompenzáció meglétére utaltak. A reperfusio kezdetén kissé megemelkedett a pO<sub>2</sub>, majd a reperfusio 5. és 45. perce között plato-szerűen megtartotta az enyhén magasabb értékeket, míg a venás vérmintákban

folyamatosan csökkent, a legnagyobb arterio-venosus különbséget a reperfusio 60. percében mutatva (arteria:  $90,85 \pm 6,98$  Hgmm, vena:  $23,11 \pm 5,29$  Hgmm). (15.B ábra)



### 15. ábra

Az arteriás és venás vér pCO<sub>2</sub> és pO<sub>2</sub> értékeinek változása (átlag ± S.D.) az Ischaemia-Reperfusio (I/R) és a Kontroll csoportban, patkánykísérletben.  
 $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. Arteria, + vs. Kontroll

## 4.2. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI NAGYÁLLAT MODELLEN

### 4.2.1. Intraoperatív vizsgálatok és túlélési ráta

Az *intraoperatív laser Doppleres szöveti áramlásmérés* alkalmas vizsgálati módszernek bizonyult: az érleszorítás és felengedés hatására létrejövő mikrokeringési változások jól követhetőek voltak (12.A, B, C ábra).

A *bőrhőmérséklet* a hűtött csoportokban a 4-6 °C-os tartományban mozgott, a nem hűtött csoportokban 26-30 °C-nak bizonyult (IV. táblázat).

Normothermián az ischaemiát követően a lábszár elülső rekeszében mért *szöveti nyomás [Hgmm]* jelentősen, közel négyszeresére emelkedett az Áloperált csoporthoz képest, melyet a hűtéssel párosult ischaemia nagymértékben fokozott, míg a hűtött és nem hűtött Áloperált csoportok között kismértékű különbség látszott (IV. táblázat).

**IV. táblázat:** A bőrhőmérséklet és a szöveti nyomás változása a kísérleti csoportokban

Csoportok	Bőrhőmérséklet [C°]	Szöveti nyomás [Hgmm]
nem hűtött Ischaemia-Reperfusio	28,02 ± 2,847	35,2 ± 1,789 #
hűtött Ischaemia-Reperfusio	4,925 ± 0,99	65,125 ± 2,474 * #
nem hűtött Áloperált	28,175 ± 2,465	9,375 ± 0,744
hűtött Áloperált	5,1 ± 1,29	11,142 ± 0,378 *

(átlag ± S.D.) p<0,05 \* vs. nem hűtött, # vs. Áloperált

A műtéteket követően a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban két állat elhullott az első posztoperatív napon. A posztoperatív napokon a videóra rögzített járastesztek (állatok sétáltatása) során nem találtunk jelentős és egységes változásokat az egyes csoportok között.

#### 4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás

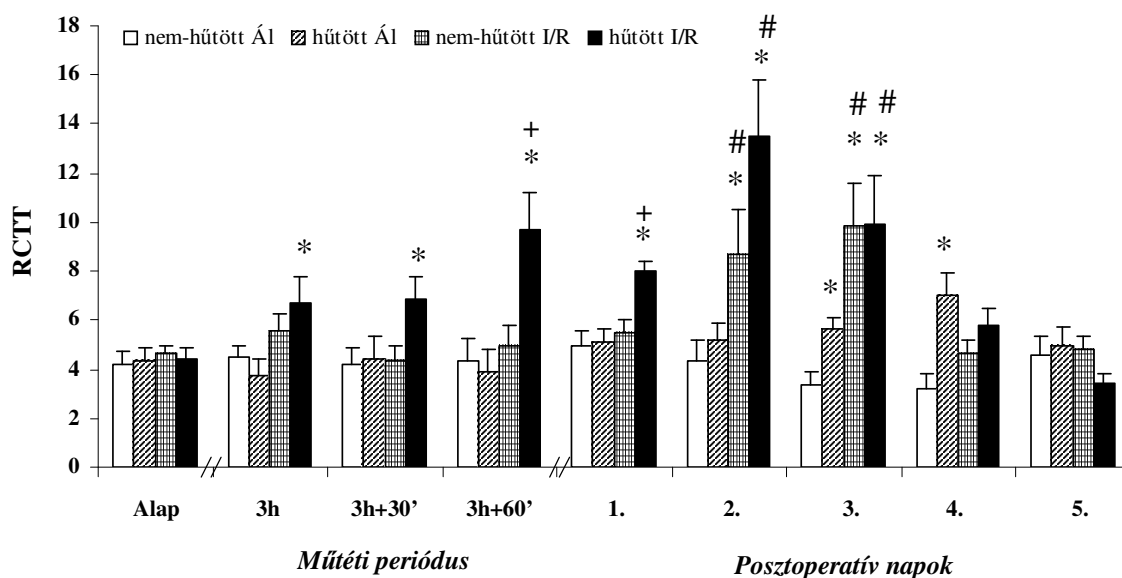
A vörösvérsejt deformabilitást filtrometriás mérések alapján jellemző *relatív sejt-tranzitidő paraméter (RCTT)* jelentős változásokat mutatott a kísérleti periódus alatt és a posztoperatív napokon az egyes vizsgálati csoportokban (16. ábra).

Míg az RCTT a *nem hűtött Áloperált csoportban (nem-hűtött Ál)* nem változott jelentősen, a *hűtött Áloperált* csoportban az alapértékekhez képest szignifikáns RCTT emelkedés mutatkozott a harmadik és negyedik posztoperatív napon.

A *nem-hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* a műtéti periódus során, a reperfusio első órájában nem mutatkozott jelentős változás. A második és harmadik posztoperatív napon azonban jelentős RCTT növekedés volt tapasztalható (2. nap:  $8,698 \pm 1,803$ , 3. nap:  $9,861 \pm 1,741$ ), mely értékek az alapmintákban mértekhez képest szignifikánsan magasabbak voltak ( $p < 0,0001$ ). A harmadik posztoperatív napon a nem-hűtött Az RCTT eleváció a negyedik és ötödik posztoperatív napra normalizálódott. A harmadik és negyedik napi értékek között is szignifikáns különbség mutatkozott (RCTT  $4,67 \pm 0,505$ ;  $p = 0,0086$ ).

A *hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* a műtéti periódus alatt szembetűnő változásokat lehetett megfigyelni. A szisztémás vérmintákban mért RCTT értékek szignifikánsan magasabbak voltak az alaphoz viszonyítva, közvetlenül az érleszorítás oldását követően (3h minták, RCTT =  $6,747 \pm 0,996$ ,  $p = 0,0298$ ). Ezután további, az alapértékekhez képest jelentős RCTT növekedés látszott a reperfusio 30. és 60. percében ( $6,88 \pm 0,86$ , illetve  $9,68 \pm 1,49$ ;  $p < 0,05$  vs. alap). A reperfusio 30. percében (3h+30' minta) a változás a hűtött Áloperált csoport értékeihez képest is szignifikánsnak bizonyult ( $p = 0,0295$ ). A 60. percen vett mintákban (3h+60') mért emelkedés szignifikáns volt a nem-hűtött és hűtött Áloperált, valamint a nem-hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport értékeihez képest is ( $p = 0,0149$ ,  $p = 0,014$ ,  $p = 0,0424$ ).

A korai posztoperatív időszakban, a második és a harmadik posztoperatív napon jelentős RCTT emelkedés látszott. Az első posztoperatív napon tapasztalt emelkedés ( $8,014 \pm 0,352$ ) szignifikáns volt az alapértékekhez képest ( $p=0,0005$ ), valamint a többi kísérleti csoport első napi értékeihez képest ( $p=0,0029$ ,  $p=0,0026$ ,  $p=0,0043$ ). Az RCTT emelkedésének csúcsát a második posztoperatív napon érte el ( $13,482 \pm 2,293$ ,  $p<0,0001$  vs. alap), mely értékek az azonos napi nem-hűtött és hűtött Áloperált csoportok értékeihez képest is szignifikáns különbséget mutattak ( $p=0,014$ , illetve  $p=0,0047$ ). A harmadik posztoperatív napra az RCTT növekedés mérséklődött ( $9,896 \pm 2,02$ ,  $p<0,0001$  vs. alap,  $p=0,019$  vs. nem-hűtött ÁI). A 4-5. napra az értékek normalizálódtak (16. ábra).



### 16. ábra

A relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT, átlag  $\pm$  S.E.) változása a kísérleti csoportokban a műtéti periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során valamint az 1-5. posztoperatív napokon.

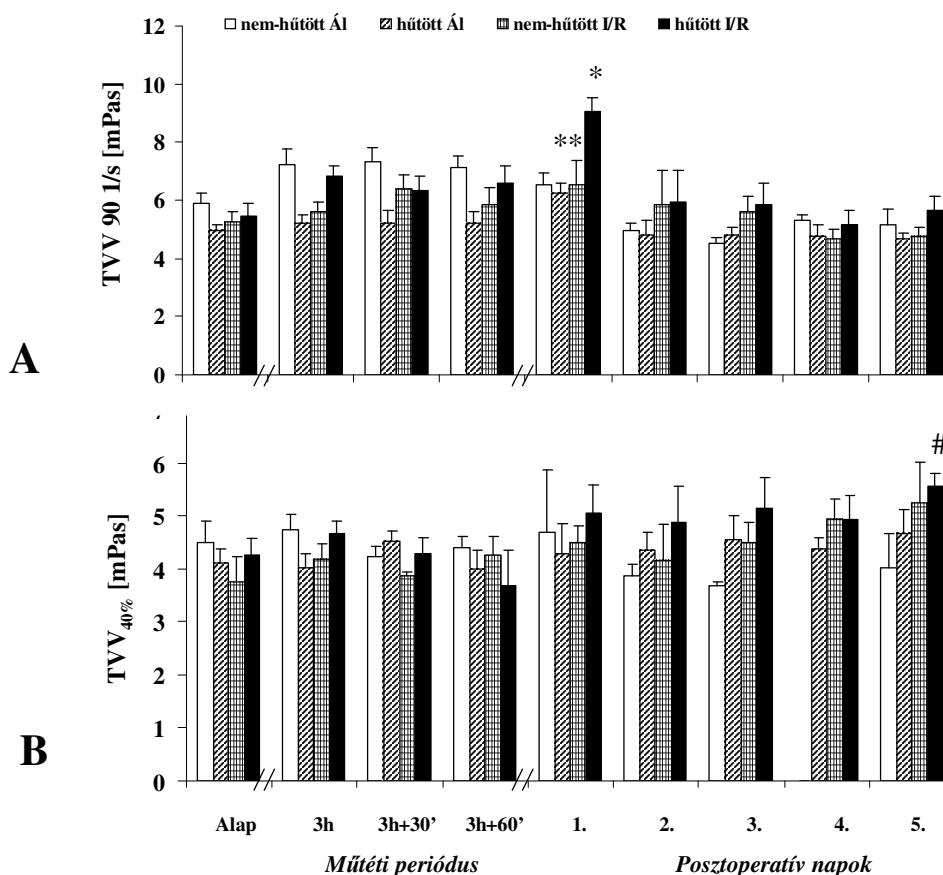
nem-hűtött ÁI = nem hűtött Áloperált -, hűtött ÁI = hűtött Áloperált csoport

nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport

$p<0,05$  \* vs. alap, # vs. nem-hűtött Áloperált, +vs. többi csoport

### 4.2.3. Teljes vér viszkozitás

A  $90 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért teljes vér viszkozitás (TVV [mPas], 17.A ábra) a műtési periódus alatt változó, de nem szignifikáns mértékben növekedett. A TVV az első posztoperatív napra minden kísérleti csoportban emelkedett, a hűtött Áloperált és a két Ischaemia-Reperfusio csoportban a kiindulási értékekhez képest jelentősen. Az első posztoperatív napon a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban mértük a legmagasabb viszkozitás értékeket ( $9,051 \pm 0,501 \text{ mPas}$ ,  $p=0,003$  vs. alap). A második napra csökkenés látszott, további csökkenő tendenciával az ötödik posztoperatív napig, hasonló irányú haematocrit-változásokkal kísértén (V. táblázat). (17.A ábra).



**17. ábra**

A teljes vér viszkozitás (TVV [mPas], átlag  $\pm$  S.E.) (A)  $90 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékeinek, valamint (B) ezek 40%-os haematocritra korrigált értékeinek (TVV<sub>40%</sub>) változása a kísérleti csoportokban.

nem-hűtött AI = nem hűtött Áloperált -, hűtött AI = hűtött Áloperált csoport  
nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport  
 $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. nem-hűtött Áloperált

A 40%-os haematocritra való korrekcióval kapott teljes vér viszkozitás értékek (TVV<sub>40%</sub>) a posztoperatív napokon enyhe emelkedést mutattak a nem-hűtött Áloperált csoport kivételével (17.B ábra). A legkifejezettebb emelkedés a két Ischaemia-Reperfusio csoportban volt, a legmagasabb értékeket a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban találtuk az ötödik posztoperatív napon ( $5,55 \pm 0,257$  mPas,  $p=0,0148$  vs. alap,  $p=0,0409$  vs. nem-hűtött Áloperált).

#### 4.2.4. Plazma viszkozitás

A relatív homogenitás, mely a négy vizsgálati csoport *plazma viszkozitás* (PV [mPas]) alapértékeinél megfigyelhető volt, a 3 órás ischaemiának megfelelő periódus végére eltűnt (18. ábra).

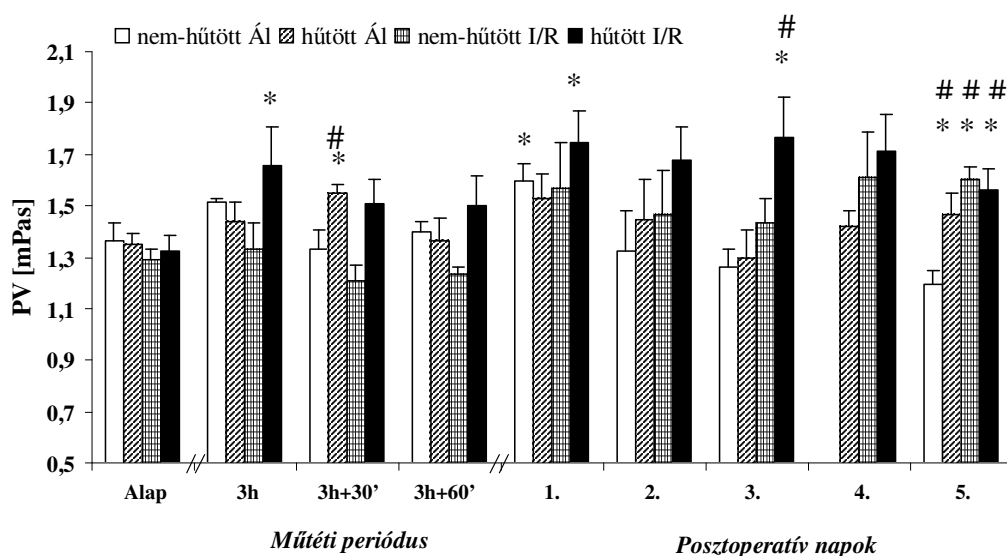
A *nem hűtött Áloperált csoportban* a plazma viszkozitás enyhén emelkedett a műtéti periódus alatt, a legmagasabb értékeket az első posztoperatív napra érte el ( $1,597 \pm 0,068$  mPas,  $p=0,0459$  vs. alap), majd a kiindulási értékek alá csökkent a második-ötödik posztoperatív napokon.

A *hűtött Áloperált csoport* szintén mérsékelt plazma viszkozitás emelkedést mutatott a műtéti periódus alatt, mely a 3h+30' mintavételi időpontban szignifikánsan különbözött az alapértéktől és a nem hűtött Áloperált csoporttól ( $p=0,0309$ ). Az első posztoperatív napon megfigyelhető emelkedés után csökkent a plazma viszkozitás, majd az ötödik posztoperatív napra ismét szignifikánsan emelkedett az alapértékekhez és a nem hűtött Áloperált csoporthoz képest ( $p=0,0357$ ).

A *nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* az első posztoperatív napon jelentkező plazma viszkozitás emelkedést követően enyhe csökkenés látszott a második és harmadik napon, majd a negyedik és ötödik napon ismét emelkedés mutatkozott, az ötödik napon

szignifikáns különbséget mutatva az alaphoz és a nem hűtött Áloperált csoporthoz képest ( $p=0,0014$ , illetve  $p=0,0007$ ).

A hűtött *Ischaemia-Reperfusio* csoportban a 3 órás ischaemia után az alapértékekhez viszonyítva szignifikáns emelkedés látszott. A posztoperatív napokon jelentős mértékű plazma viszkozitás emelkedés volt megfigyelhető, a legmagasabb értékeket ebben a csoportban mértük az első és a harmadik posztoperatív napon ( $p=0,0067$ , illetve  $p<0,001$  vs. alap). A harmadik és az ötödik posztoperatív napon szignifikáns különbség mutatkozott a nem hűtött Áloperált csoporthoz képest ( $p=0,0353$ , illetve  $p=0,0095$ ) (18. ábra).



**18. ábra**

A plazma viszkozitás (PV [mPas], átlag  $\pm$  S.E.) változása a kísérleti csoportokban a műtéti periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során valamint az 1-5. posztoperatív napokon.

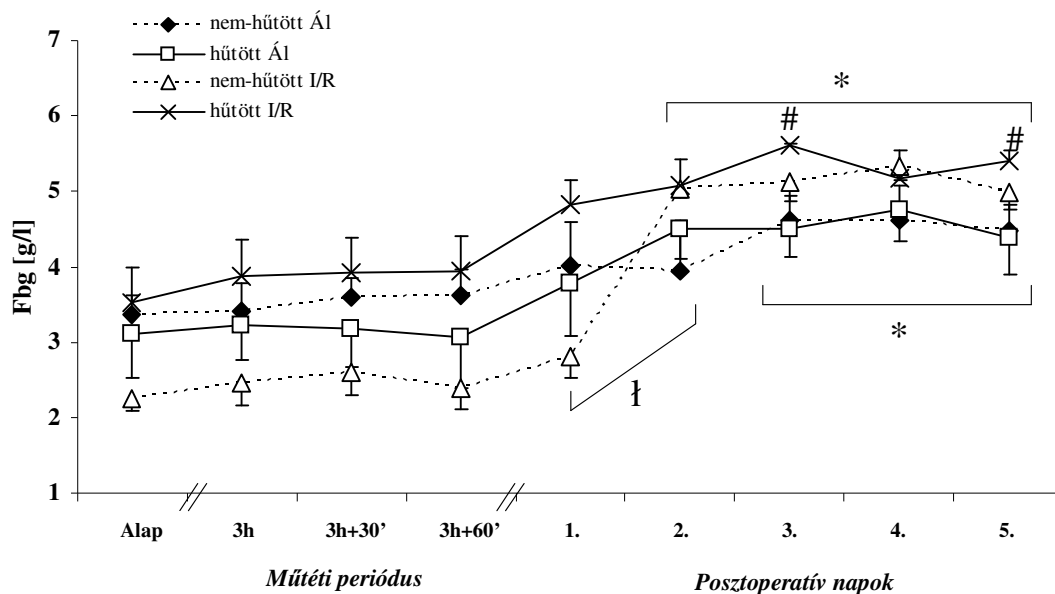
nem-hűtött AI = nem hűtött Áloperált -, hűtött AI = hűtött Áloperált csoport  
 nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport  
 $p<0,05$  \* vs. alap, # vs. nem-hűtött Áloperált

#### 4.2.5. Fibrinogén koncentráció

A műtéti periódus alatt nem találtunk jelentős változást a *fibrinogén koncentrációban* (Fbg [g/l]) (19. ábra). Az első posztoperatív naptól szembetűnő növekedés látszott mind a négy kísérleti csoportban, mely emelkedés a harmadik és ötödik nap között stabilizálódott. A

legnagyobb arányú növekedés a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban látszott az első és a második posztoperatív nap között ( $2,806 \pm 0,271 \text{ g/l} \rightarrow 5,034 \pm 0,12 \text{ g/l}$ ,  $p < 0,0001$ ).

A nem hűtött Áloperált csoportban a harmadik, negyedik és ötödik napon megemelkedett fibrinogén szint az alapértékekhez képest szignifikánsnak bizonyult ( $p=0,0154$ ,  $p=0,0373$ ,  $p=0,0315$ , vs. alap). A hűtött Áloperált csoportban az első-ötödik napon mutatkozott számottevő különbség az alapértékekhez képest, míg a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban a második-ötödik posztoperatív napon találtunk szignifikáns különbséget a kiindulási értékekhez viszonyítva ( $p < 0,001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,0003$ ,  $p=0,0011$ ). Hasonló változást lehetett megfigyelni a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban is a második-ötödik napon ( $p=0,0246$ ,  $p=0,0027$ ,  $p=0,0196$ ,  $p=0,0048$ ), mely emelkedés a harmadik és az ötödik posztoperatív napon a nem hűtött Áloperált csoporthoz viszonyítva is jelentős volt ( $p=0,0095$ , illetve  $p=0,0182$ ) (19. ábra).



**19. ábra**

A fibrinogén koncentráció (Fbg [g/l], átlag  $\pm$  S.E.) változása a kísérleti csoportokban a műtéti periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során valamint az 1-5. posztoperatív napokon.

nem-hűtött ÁI = nem hűtött Áloperált -, hűtött ÁI = hűtött Áloperált csoport

nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport

$p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. nem hűtött Áloperált, † vs. első posztoperatív nap

#### 4.2.6. Haematologiai paraméterek

A vörösvérsejtek mennyiségi és minőségi paramétereinek változását az V. táblázat foglalja össze. A *vörösvérsejt szám* ( $V_{vs}$ , [ $\times 10^6/\mu\text{l}$ ]) minden kísérleti csoportban hasonló mértékben emelkedett az első posztoperatív napra, majd mérsékelt csökkenést mutatott a további posztoperatív napokon. A *haemoglobin szint* (Hgb [g/dl]) és a *haematocrit* (Htc [%]) a vörösvérsejt számmal párhuzamosan változott. Az ötödik posztoperatív napon az alapértékhez képest szignifikánsan alacsonyabb haematocrit értéket mértünk a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban. A vörösvérsejtek minőségi paramétereit: az *átlagos vörösvérsejt térfogat* (mean corpuscular volume, MCV [fl]), az *átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom* (mean corpuscular hemoglobin, MCH [pg]) és az *átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció* (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC [g/dl]) nem mutattak jelentős változást.

A *fehérvérsejt szám* ( $F_{vs}$  [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]) (20.A ábra) az első posztoperatív napra lényegesen emelkedett minden csoportban, majd a második naptól csökkenő tendenciát mutatott. Az Áloperált csoportokban a csökkenés (a normalizálódás irányába) gyorsabb volt. A teljes fehérvérsejt számon belül a granulocytá-monocytá arány 85-90%-os volt minden csoportban. A második és ötödik posztoperatív nap között a fehérvérsejt szám a kiindulási értékhez képest magasabb volt -a jelzett csökkenő tendencia mellett-, de a két Ischaemia-Reperfusio csoportban szignifikánsan nagyobb fehérvérsejt számot mértünk az ötödik posztoperatív napig.

A *thrombocytá szám* (Thr [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]) (20.B ábra) mérsékelt csökkenést mutatott a műtéti periódus alatt, majd az első posztoperatív napon tapasztalt kismértékű emelkedést követően a második napra minden csoportban csökkent. Az ötödik posztoperatív napon azonban a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban viszonylag magas thrombocytá számot találtunk. Az *átlagos thrombocytá térfogat* (mean platelet volume, MPV [fl]) nem változott jelentősen.

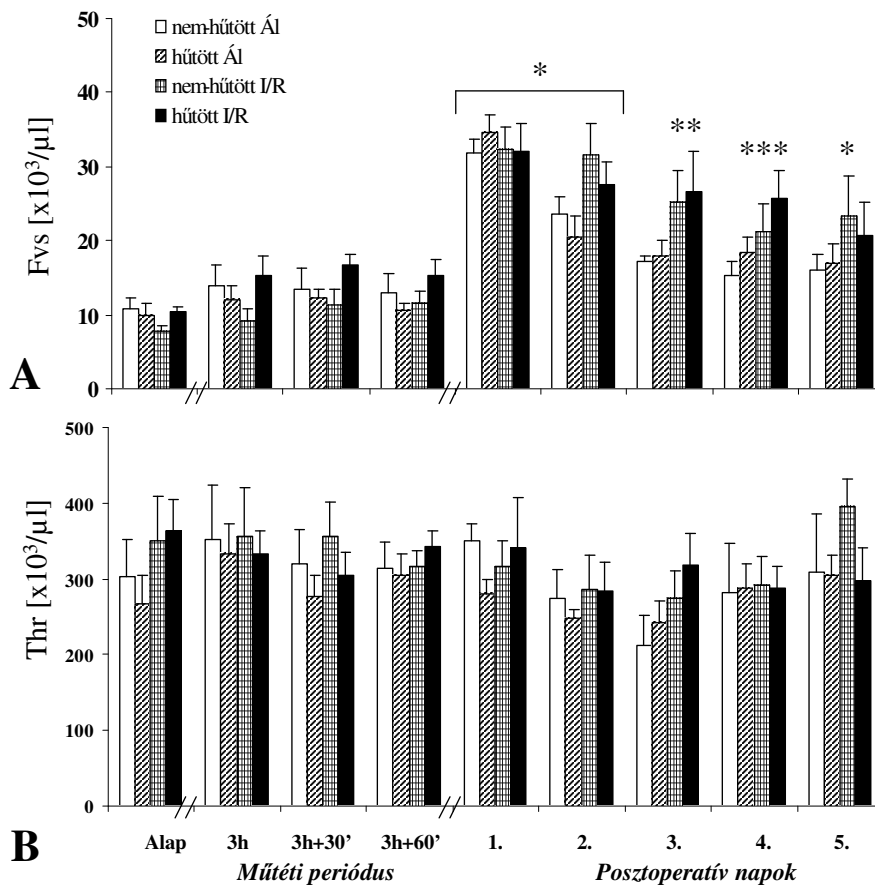
**V. táblázat:** A vörösvérsejteket jellemző mennyiségi és minőségi haematologiai paraméterek változása a kísérleti csoportokban

Paraméter	Csoport	Műtéti periódus				Posztoperatív napok				
		Alap	3 h	3h+30'	3h+60'	1.	2.	3.	4.	5.
Vvs [x10 <sup>6</sup> /μl]	nem-hűtött Ál	7,378±0,419	7,568±0,305	8,468±0,489	7,643±0,243	8,500±0,519	6,462±0,168	6,63 ±0,663	6,615±0,282	6,742±0,146
	hűtött Ál	6,088±0,295	6,537±0,371	6,622±0,459	6,548±0,403	6,847±0,351	5,787±0,271	5,474±0,280	5,487±0,231	5,468±0,200
	nem-hűtött I/R	7,212±0,399	7,256±0,419	7,398±0,388	6,952±0,512	7,594±0,518	7,472±0,553	6,884±0,725	5,988±0,539	6,210±0,624
	hűtött I/R	6,980±0,352	7,527±0,257	7,521±0,435	7,567±0,246	7,825±0,546	6,454±0,350	6,594±0,285	6,288±0,462	5,666±0,387
Hgb [g/dl]	nem-hűtött Ál	15,150±0,983	15,862±0,772	17,725±1,125	15,975±0,846	17,066±1,669*	13,020±0,582	13,000±1,067	12,325±0,915	12,840±0,573
	hűtött Ál	13,871±0,654	14,842±0,886	15,500±1,151	14,700±0,861	15,742±0,668	13,600±0,713	13,042±0,578	12,428±0,585	12,414±0,591
	nem-hűtött I/R	15,400±0,903	15,120±1,048	15,400±0,909	14,820±1,030	16,300±0,844	15,460±1,105	14,100±1,427	12,700±1,080	12,600±1,238
	hűtött I/R	14,825±0,693	16,200±0,538	16,000±0,689	16,300±0,600	17,100±1,573	14,200±1,134	14,300±0,949	13,880±1,295	12,840±1,028
Htc [%]	nem-hűtött Ál	51,400±2,706	54,400±2,961	58,880±1,441	56,133±3,036	59,925±1,329*	46,450±0,817	47,700±2,551	49,675±1,157	48,175±1,266
	hűtött Ál	47,480±2,851	50,840±4,186	51,980±5,114	50,840±4,030	54,000±3,449	46,660±1,413	41,500±1,797	42,320±2,166	41,120±2,843
	nem-hűtött I/R	52,840±3,149	51,440±3,081	54,400±3,241	50,380±3,930	54,840±3,456	54,080±3,815	48,980±4,474	42,300±2,897	43,880±3,685
	hűtött I/R	50,071±2,750	54,828±1,923	54,885±3,364	55,171±2,197	57,240±3,069	45,980±2,366	47,360±2,168	44,320±2,381	40,520±2,081*
MCV [fl]	nem-hűtött Ál	72,528±2,166	71,075±1,408	71,525±1,226	71,762±1,423	70,300±1,845	70,540±2,177	69,760±1,954	69,800±2,643	69,860±2,174
	hűtött Ál	72,942±1,560	72,785±1,614	72,957±1,548	73,300±1,508	73,085±1,600	70,985±1,868	70,357±1,646	71,600±1,642	71,985±2,072
	nem-hűtött I/R	73,340±2,116	70,920±1,439	76,560±2,063	72,880±1,553	72,320±1,693	72,620±2,699	71,580±1,961	71,220±2,458	71,160±2,225
	hűtött I/R	73,500±0,764	72,828±0,568	72,885±0,647	72,814±0,665	73,150±0,916	71,320±0,924	71,800±0,602	70,840±1,269	71,900±2,190
MCH [pg]	nem-hűtött Ál	21,425±0,392	21,662±0,314	21,862±0,508	21,675±0,410	21,383±0,552	31,920±0,611	21,600±0,710	20,550±0,853	20,460±0,862
	hűtött Ál	21,671±0,408	21,771±0,352	22,214±0,504	21,524±0,879	21,614±0,480	22,142±0,508	22,171±0,403	21,371±0,189	21,528±0,445
	nem-hűtött I/R	21,380±0,554	20,800±0,460	20,840±0,658	21,400±0,552	21,580±0,568	20,720±0,253	20,500±0,600	21,240±0,525	20,300±0,122
	hűtött I/R	21,287±0,361	21,557±0,319	21,428±0,700	21,542±0,422	21,775±0,754	21,900±0,620	21,600±0,671	21,980±0,698	22,600±0,484
MCHC [g/dl]	nem-hűtött Ál	29,500±1,080	30,550±0,571	30,575±0,543	30,250±0,610	30,416±0,720	31,100±0,898	30,480±1,312	29,250±1,422	29,340±1,191
	hűtött Ál	29,757±0,760	30,014±0,686	30,475±0,667	29,457±1,327	29,671±0,851	31,214±0,683	31,585±0,764	29,957±0,706	30,042±0,953
	nem-hűtött I/R	29,140±0,314	29,340±0,443	28,320±0,224	29,520±0,521	29,840±0,601	28,680±1,065	28,780±1,103	29,960±1,000	28,620±0,844
	hűtött I/R	28,987±0,660	29,600±0,578	29,442±1,091	29,585±0,726	29,775±1,088	30,740±1,191	30,120±1,100	31,120±1,388	31,560±1,248

átlag ± S.D. p<0,05 \* vs. Alap # vs. nem-hűtött Áloperált

nem-hűtött Ál = nem-hűtött Áloperált, hűtött Ál = hűtött Áloperált, nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportok

Vvs = vörösvérsejt szám, Hgb = haemoglobin szint, Htc = haematocrit, MCV = mean corpuscular volume (átlagos vörösvérsejt térfogat), MCH = mean corpuscular haemoglobin (átlagos vörösvérsejt Hgb tartalom), MCHC = mean corpuscular haemoglobin concentration (átlagos vörösvérsejt Hgb koncentráció)



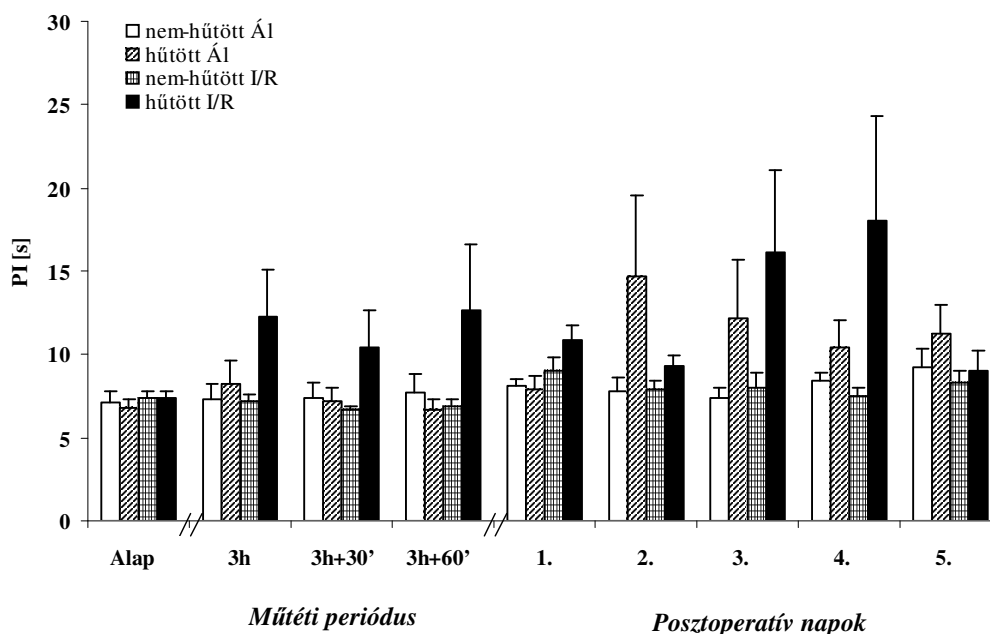
### 20. ábra

(A) A fehérvérsejt szám (Fvs [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ], átlag  $\pm$  S.E.), valamint a  
 (B) thrombocyta szám (Thr [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ], átlag  $\pm$  S.E) változása  
 a kísérleti csoportokban a műtési periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során  
 valamint az 1-5. posztoperatív napokon.

nem-hűtött AI = nem hűtött Áloperált -, hűtött AI = hűtött Áloperált csoport  
 nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport  
 $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. nem hűtött Áloperált

#### 4.2.7. A coagulációs faktorok változásai

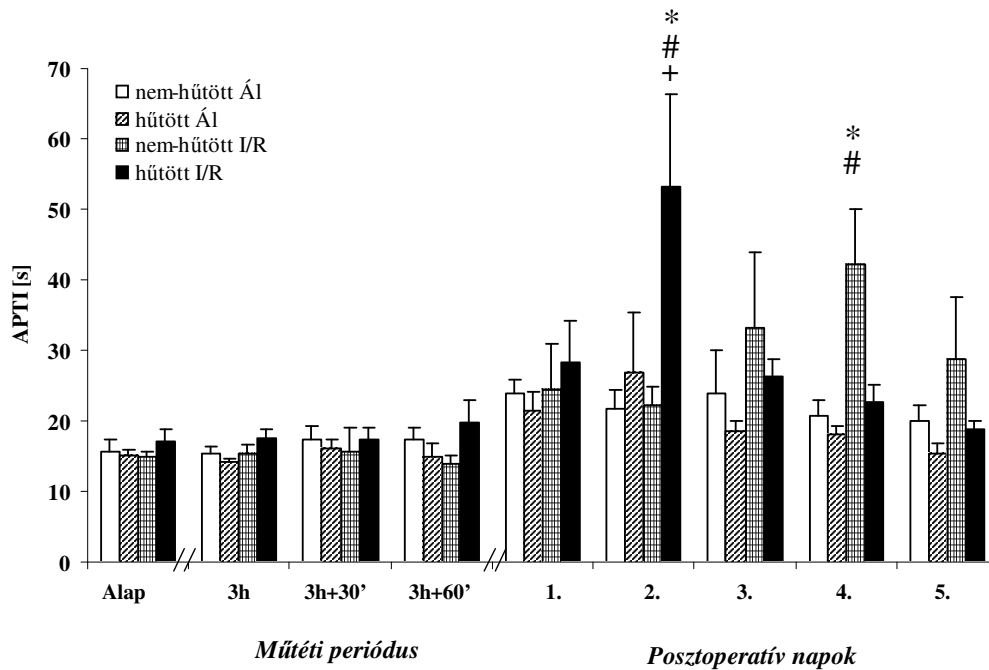
A *prothrombin idő* (PI [s]) (21. ábra) a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban az alaphoz képest viszonylag hosszú volt a reperfusio első órájában (átlagosan 10-12 másodperc), majd a harmadik és a negyedik posztoperatív napon jelentősen megnövekedett ( $16,12 \pm 4,98$ , illetve  $18,02 \pm 6,25$  s). A második-harmadik napon a nem hűtött Áloperált csoportban is hosszabb prothrombin idő volt mérhető. A változások azonban nem voltak szignifikánsak.



**21. ábra**

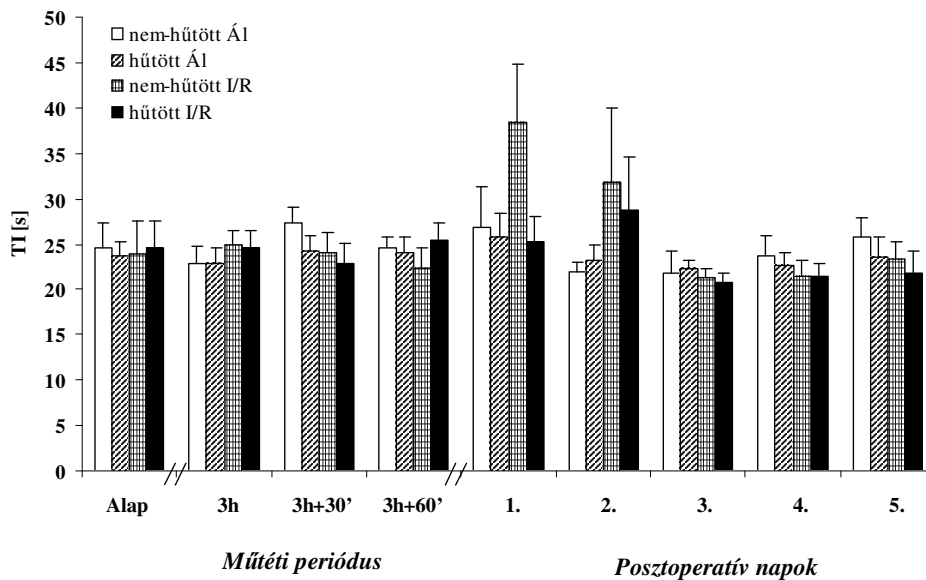
A prothrombin idő (PI [s], átlag  $\pm$  S.E.) változása a kísérleti csoportokban a műtéti periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során valamint az 1-5. posztoperatív napokon, keverék kutyákban.  
 nem-hűtött ÁI = nem hűtött Áloperált -, hűtött ÁI = hűtött Áloperált csoport  
 nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport

Az *aktivált parciális thromboplastin idő* (APTI [s]) (22. ábra) minden kísérleti csoportban mérsékelten megnyúlt az első posztoperatív napra, majd az Ischaemia-Reperfusio csoportokban további növekedést mutatott. Az APTI legnagyobb mértékű megnyúlását a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban a második posztoperatív napon mértük ( $53,15 \pm 13,18$  s), ami szignifikánsnak bizonyult az alapértékhez, valamint az azonos napi nem hűtött Áloperált és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport értékeihez képest. A nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban hasonló, de kisebb mértékű emelkedés látszott, aminek csúcsa a negyedik posztoperatív napra esett ( $42,17 \pm 7,82$  s,  $p < 0,05$  vs. alap, vs. nem hűtött Áloperált).



**22. ábra**

Az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI [s], átlag ± S.E.) változása  $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. nem hűtött Áloperált, + vs. nem hűtött Ischaemia-Reperfusio



**23. ábra**

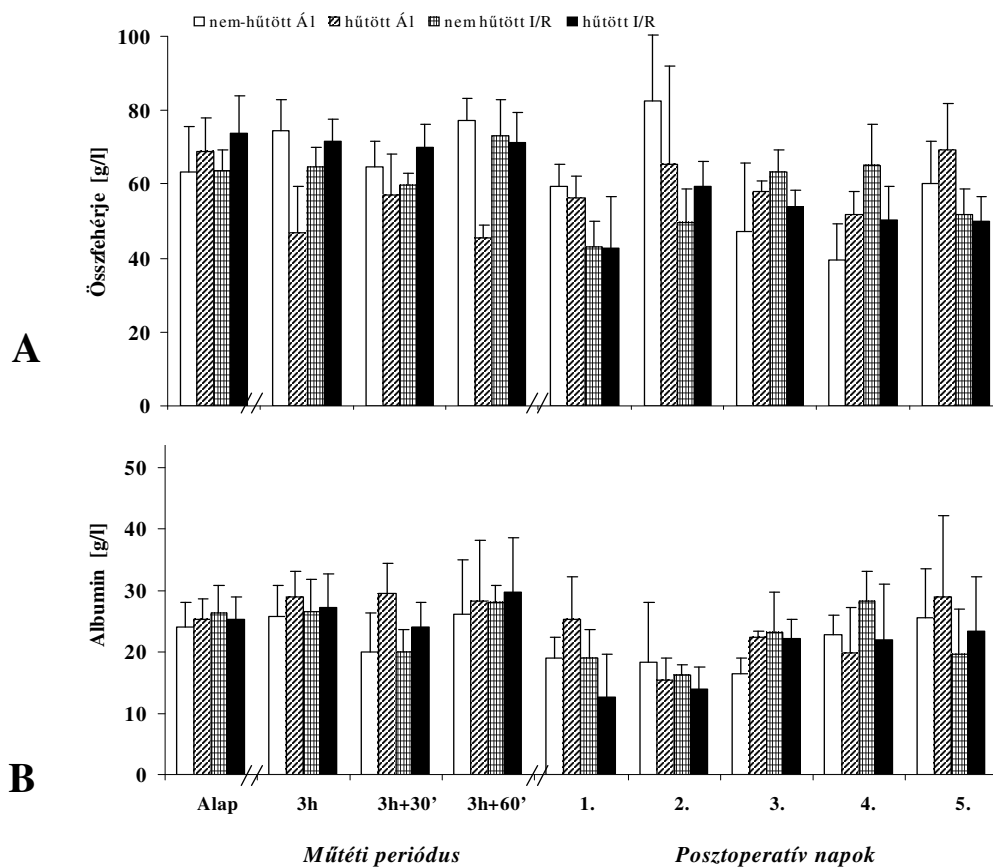
A thrombin idő (TI [s], átlag ± S.E.) változása a kísérleti csoportokban a műtéti periódus (3 órás ischaemia, reperfusio) során valamint az 1-5. posztoperatív napokon.

nem-hűtött Ál = nem hűtött Áloperált -, hűtött Ál = hűtött Áloperált csoport  
 nem-hűtött I/R = nem hűtött Ischaemia-Reperfusio -, hűtött I/R = hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport

A *thrombin idő* (TI [s]) (23. ábra) alig változott a műtéti periódus alatt. Az első és a második posztoperatív napon nem szignifikáns emelkedés mutatkozott a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban ( $38,46 \pm 6,32$  s, illetve  $31,78 \pm 8,23$  s), míg a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban csak a második posztoperatív napon jelentkezett mérsékelt thrombin idő növekedés ( $28,7 \pm 5,96$  s).

#### 4.2.8. Összfehérje- és albumin szint változások

Az *összfehérje* [g/l] és az *albumin szint* [g/l] minden csoportban hasonlóan változott: az első posztoperatív napra csökkent, azután a következő napokban nagyrészt rendeződött. Az albumin szint mindkét Ischaemia-Reperfusio csoportban az első és a negyedik posztoperatív nap között alacsonyabb volt, de a változás nem volt szignifikáns (24.A, B ábra).



**24. ábra**  
**(A)** A szérum összfehérje, valamint a **(B)** a szérum albumin szint ([g/l], átlag  $\pm$  S.D.) változása a kísérleti csoportokban.

#### 4.2.9. A kirekesztett végtagban lévő vér tulajdonságai

A 3 órás ischaemia leteltével -közvetlenül az érleszorítás oldását megelőzően- a kirekesztett végtag vena femoralisából vett lokális vérmintákban meghatározott fontosabb haemorheológiai paramétereket a VI. táblázat összegzi a nem hűtött és hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban.

A relatív sejt-tranzitidő (RCTT) a nem hűtött kirekesztett végtagban volt nagyobb, mely szignifikánsan különbözött a hűtött végtagból vett mintáktól ( $p=0,0483$ ) (VI. táblázat). A nem hűtött kirekesztett végtagból vett vérminták magasabb RCTT értékei az alapértékhez képest ( $p=0,0011$ ) és az érleszorítás oldását követően közvetlenül vett szisztémás vérminták RCTT értékeihez képest ( $p=0,034$ ) is szignifikánsan különböztek (25.A ábra).

A kirekesztett végtagból vett vérmintákban a *vörösvérsejt szám* jelentősen nagyobb volt az alapértékeknél (nem hűtött I/R csoport:  $7,21 \pm 0,39 \times 10^6/\mu\text{l}$ ,  $p=0,0139$  vs. alap; hűtött I/R csoport:  $6,98 \pm 0,35 \times 10^6/\mu\text{l}$ ,  $p=0,0229$  vs. alap), valamint a reperfusio kezdetén vett szisztémás vérmintákhoz viszonyítva (nem hűtött I/R csoportban  $p=0,0164$ ).

A *haematocrit* hasonló változást mutatott mindkét Ischaemia-Reperfusio csoportban. Szignifikáns különbséget találtunk az alapértékekhez és a 3 órás szisztémás mintákhoz képest (nem hűtött I/R csoportban alap:  $52,84 \pm 3,14\%$ ,  $p=0,001$ , 3 órás minta:  $51,44 \pm 3,08\%$ ,  $p<0,001$ ; hűtött I/R csoportban alap:  $51,32 \pm 2,69\%$ ,  $p=0,0023$ , 3 órás minta:  $54,82 \pm 1,92\%$ ,  $p=0,0104$ ) (25.B ábra). A kirekesztett vérből vett mintákat összehasonlítva a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban szignifikánsan magasabb haematocrit értékeket mértünk, mint a hűtött csoportban ( $p=0,039$ ) (VI. táblázat).

A *teljes vér viszkozitás* a kirekesztett vérből vett mintákban emelkedett, főként a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban. A hűtött és nem hűtött csoport között szignifikáns különbség volt ( $p=0,0355$ ), mely a 40%-os haematocritra való korrekciót követően is megmaradt ( $p=0,0427$ ) (VI. táblázat). A hűtött csoport kirekesztett vérének teljes vér

viszkozitása szignifikánsan magasabb volt az alapértékeknél (TVV:  $p=0,0022$ ,  $TVV_{40\%}$ :  $p=0,0344$ ) (25.C, F ábra).

A plazma viszkozitás nem mutatott szignifikáns változást, de a kirekesztett végtagból vett mintákban az alapértékekhez képest megemelkedett, és a 3 órás szisztémás vérmintákban a hűtött csoportban magasabb értékeket mutatott (25.D ábra).

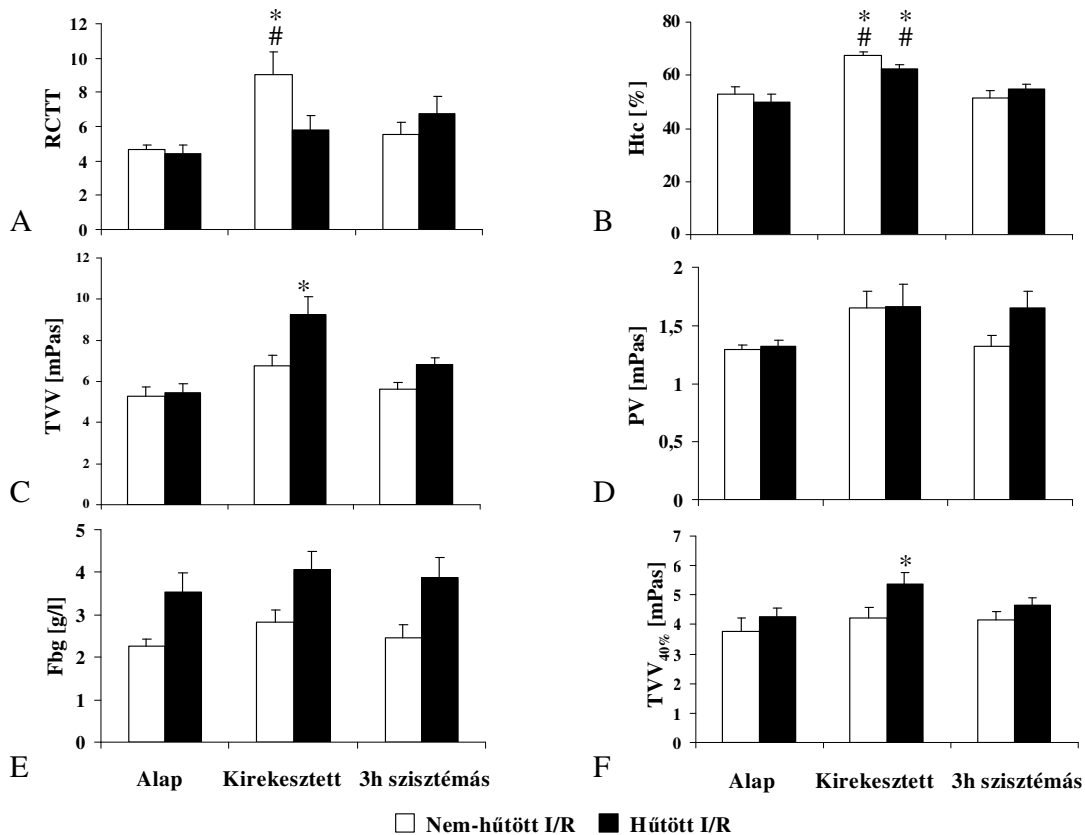
A fibrinogén koncentráció a kirekesztett mintákban kismértékben nőtt az alapértékekhez képest. A kirekesztett vérminták közül a hűtött csoport értékei szignifikánsan nagyobbak voltak a nem hűtött csoporthoz képest ( $p=0,0276$ ) (VI. táblázat), bár a két csoport között az alapértékeket tekintve is viszonylag nagy különbség volt ( $2,255 \pm 0,173$  vs.  $3,529 \pm 0,456$  g/l), amely nem szignifikáns, de szembevető mértékben a 3 órás szisztémás vérmintákban is megmaradt ( $2,469 \pm 0,316$  vs.  $3,868 \pm 0,484$  g/l) (25.E ábra).

**VI. táblázat:** Haemorheologiai paraméterek a nem hűtött és hűtött Ischaemia-Reperfusio (I/R) csoportban, közvetlenül a reperfusio kezdete előtt, a kirekesztett végtagból vett vérben

	nem hűtött I/R	hűtött I/R	<i>p</i> érték
relatív sejt-tranzitidő (RCTT)	$9,018 \pm 3,515$	$5,830 \pm 2,387$	<i>0,0483</i>
teljes vér viszkozitás (TVV) [mPas] *	$6,766 \pm 1,189$	$9,253 \pm 2,207$	<i>0,0355</i>
40% haematocrita korrigált TVV [mPas] *	$4,237 \pm 0,640$	$5,364 \pm 0,933$	<i>0,0427</i>
plazma viszkozitás [mPas]	$1,65 \pm 0,331$	$1,66 \pm 0,47$	<i>n.s.</i>
haematocrit [%]	$67,98 \pm 4,4$	$62,41 \pm 5,36$	<i>0,039</i>
fibrinogén koncentráció [g/l]	$2,825 \pm 0,789$	$4,064 \pm 1,186$	<i>0,0276</i>

átlag  $\pm$  S.D., Mann-Whitney teszt

\*  $90 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékek



### 25. ábra

Fontosabb haemorheológiai paraméterek összehasonlítása a szisztémás alap-, a 3 órás ischaemia végén a kirekesztett végtagból vett, valamint a 3 órás ischaemiát követően vett szisztémás vérmintákban.

- (A) relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT), (B) hameatocrit (Htc [%]), (C) teljes vér viszkozitás (TVV [mPas],  $90\text{ s}^{-1}$ ), (D) plazma viszkozitás (PV [mPas]), (E) fibrinogén koncentráció (Fbg [g/l]), (F) 40%-os Htc-ra korrigált TVV (TVV<sub>40%</sub> [mPas])  
 átlag ± S.D.,  $p < 0,05$  \* vs. alap, # vs. 3 órás (3h) szisztémás minta

A fehérvérsejt- és thrombocyta számot, valamint a szérum összfehérje- és albumin szintet a VII. táblázat foglalja össze.

A fehérvérsejt szám mindkét Ischaemia-Reperfusio csoportban emelkedett az alapmintákhoz képest, a hűtött ischaemia-reperfusió csoportban a változás szignifikánsnak tekinthető ( $10,32 \pm 0,82 \times 10^3/\mu\text{l}$  vs.  $15,25 \pm 1,54 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,  $p=0,0378$ ). A 3 órás ischaemiás periódus után, a szisztémás vérben kisebb mértékű emelkedés volt észlelhető, míg a monocyta-granulocyta arány és szám mérsékelt csökkenést mutatott a kiinduló és a szisztémás értékhez képest.

A *thrombocyta szám* nagymértékben csökkent a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport kirekesztett, lokális vérmintákban. A változás szignifikánsnak tekinthető összehasonlítva a kiinduló értékkel ( $350,6 \pm 58,47 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,  $p=0,0079$ ), valamint a reperfusio kezdetén a szisztémás vérből nyert eredménnyel ( $355,4 \pm 65,92 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,  $p=0,004$ ), továbbá a hűtött csoport kirekesztett vérből vett mintával ( $p<0,001$ ). A hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban kisebb thrombocyta szám csökkenés volt észlelhető a kirekesztett vérben, bár ez is szignifikáns volt az alapértékhez ( $364,42 \pm 41,64 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,  $p=0,018$ ) és a szisztémás vérhez ( $333,16 \pm 29,71 \times 10^3/\mu\text{l}$ ,  $p=0,0335$ ) képest egyaránt.

Az *összfehérje- és albumin szint* mindkét csoportban hasonlóan, de nem szignifikáns mértékben csökkent a kiindulási értékhez képest. A *fibrinogén szint* a korábban leírtak szerint a kirekesztett végtagból vett vérben ellentétes változást mutatott az összfehérjével szemben, az alapértékhez és a szisztémás vérben mért értékhez képest azonban növekedett (25.E ábra).

**VII. táblázat:** A fehérvérsejt- és thrombocyta szám, valamint a szérum fehérjék szintje a nem hűtött és a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportokban, közvetlenül a reperfusio kezdete előtt, a kirekesztett végtagból vett vérben

	<b>nem hűtött ischaemia</b>	<b>hűtött ischaemia</b>	<i>p</i> <i>érték</i>
fehérvérsejt szám [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]	$12,04 \pm 4,38$	$15,25 \pm 1,54$	<i>n.s.</i>
monocyta és granulocyta arány [%]	$81,94 \pm 4,82$	$88,0 \pm 2,71$	<i>n.s.</i>
thrombocyta szám [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]	$79 \pm 21,44$	$221,75 \pm 33,31$	$<0,001$
összfehérje [g/l]	$58,5 \pm 3,58$	$62,53 \pm 8,82$	<i>n.s.</i>
albumin [g/l]	$21,54 \pm 5,64$	$20,01 \pm 3,98$	<i>n.s.</i>

átlag  $\pm$  S.D., Mann-Whitney teszt

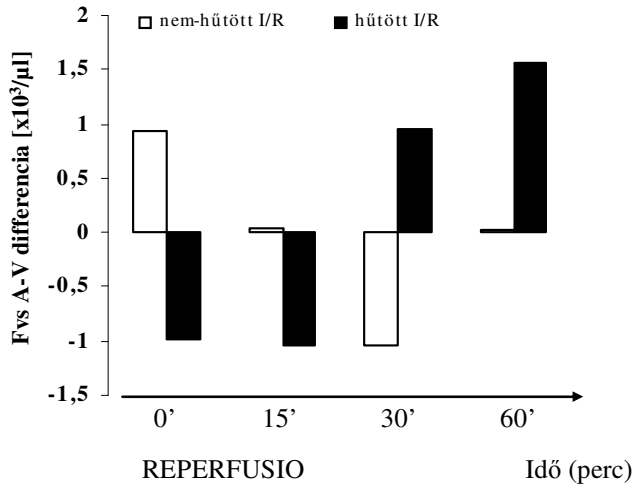
A *coagulációs faktorok a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* magasabb értékeket mutattak a kirekesztett vérből vett mintákban az alábbiak szerint:

- Prothrombin idő, alap:  $7,44 \pm 0,41$  s, kirekesztett:  $12,15 \pm 4,56$  s, 3 órás szisztémás:  $7,2 \pm 0,39$  s
- Aktivált parciális thromboplastin idő, alap:  $14,83 \pm 0,67$  s, kirekesztett:  $20,03 \pm 2,37$  s, 3 órás szisztémás:  $15,26 \pm 1,41$  s
- Thrombin idő, alap  $23,84 \pm 3,76$  s, kirekesztett:  $24,4 \pm 1,2$  s, 3 órás szisztémás:  $24,84 \pm 1,58$  s

A *hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* a változások különbözőek voltak. A prothrombin idő az alaphoz képest ( $7,37 \pm 0,42$  s) mérsékelten nőtt a kirekesztett vérmintában ( $8,85 \pm 1,75$  s), de a 3 órás szisztémás mintákban továbbra is emelkedett értékeket mértünk ( $12,21 \pm 2,93$  s). Az aktivált parciális thromboplastin idő jelentősebben, de nem kóros mértékben nőtt a lokális vérből vett mintákban (alap:  $16,98 \pm 1,74$  s, kirekesztett:  $24,62 \pm 3,8$  s, 3 órás szisztémás:  $17,55 \pm 1,31$  s). A thrombin idő pedig a kirekesztett mintákban volt alacsonyabb az alapértékekhez és a 3 órás szisztémás mintához képest (alap:  $24,55 \pm 2,96$  s, kirekesztett:  $22,36 \pm 2,49$  s, 3 órás szisztémás:  $24,57 \pm 1,87$  s). Az eltérések nem bizonyultak szignifikánsnak.

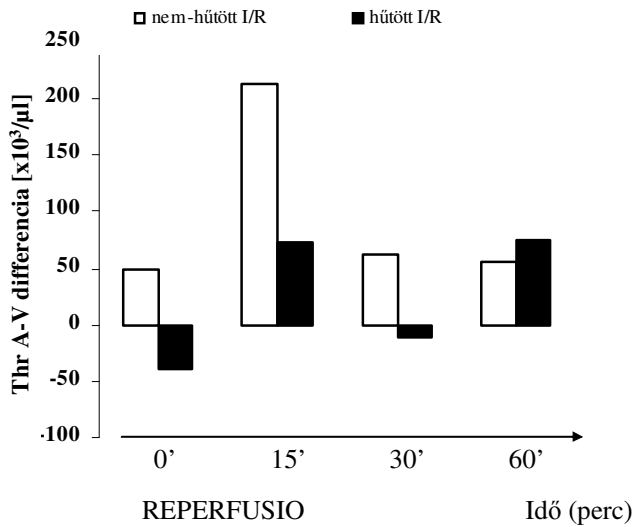
#### **4.2.10. Arterio-venosus haematologiai különbségek**

A *fehérvérsejt szám* (26. ábra) tekintetében ellentétes irányú átlagos arterio-venosus (A-V) különbségeket találtunk a reperfusio első órájában, az érintett végtag arteria és vena femoralisából vett vérmintákban. A reperfusio kezdetén és a 15. percéig a *hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* negatív volt az A-V különbség: azaz a venás vérben nagyobb volt a fehérvérsejt szám, mint az arteriás oldalon. Ugyanakkor a reperfusio kezdetén a *nem hűtött csoportban* pozitív volt az arterio-venosus különbség. A 15. percre közel azonos volt a fehérvérsejt szám az arteriás és a venás oldalon (A-V különbség:  $0,05 \times 10^3/\mu\text{l}$ ), ezután a 30. percre negatív irányba fordult a különbség, majd a 60. percre ismét kiegyenlítőddött a két oldal (A-V különbség:  $0,02 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). A *hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban* éppen ellenkező tendencia mutatkozott a reperfusio 30. és 60. percére: az A-V különbség iránya pozitív volt, azaz az arteriás oldalon mértünk nagyobb fehérvérsejtszámot. Az A-V különbségek abszolút értéke átlagosan  $0,94$  és  $1,55 \times 10^3/\mu\text{l}$  között mozgott, kivéve az említett két kiegyenlített időpontot (26. ábra).



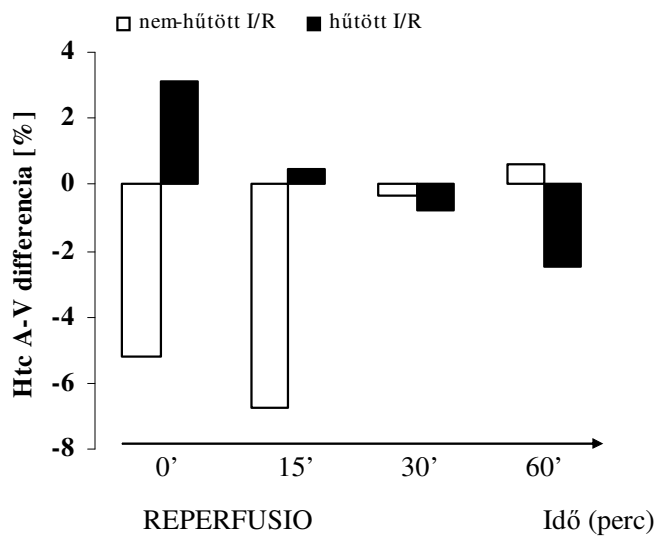
**26. ábra**

Átlagos arterio-venosus különbségek a fehérvérsejt számban ( $F_{vs}$  [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]) a hűtött és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio (I/R) csoportban a reperfusio első órájában. Mintavételek az érintett végtag a. és v. femoralisából történtek.



**27. ábra**

Átlagos arterio-venosus különbségek a thrombocytá számban ( $Thr$  [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]) a hűtött és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio (I/R) csoportban a reperfusio első órájában. Mintavételek az érintett végtag a. és v. femoralisából történtek.



**28. ábra**

Átlagos arterio-venosus különbségek a haematocritban ( $Htc$  [%]) a hűtött és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio (I/R) csoportban a reperfusio első órájában. Mintavételek az érintett végtag a. és v. femoralisából történtek.

A *thrombocyta szám* (27. ábra) vonatkozásában talált arterio-venosus különbség a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban pozitív irányú volt a reperfusio első órájában (0., 15., 30 és 60. perc), azaz az arteriás oldalon nagyobb volt a thrombocyta szám, mint a vénás oldalon. Az átlagos különbség mértéke 50 és  $62,5 \times 10^3/\mu\text{l}$  között volt, kivéve a reperfusio 15. percét, ahol az átlagos különbség igen nagy volt ( $214 \times 10^3/\mu\text{l}$ ). A hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban a reperfusio kezdetén mért negatív irányú A-V különbség a 15. percre pozitív irányba fordult. A 30. percben mutatkozó közel kiegyenlített, de negatív irányú differencia után a 60. percre ismét pozitív arterio-venosus különbség látszott (27. ábra).

A *haematocrit* arterio-venosus különbsége (28. ábra) a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban volt a legnagyobb: a reperfusio kezdetén és a 15. percben, negatív irányú differenciával. A reperfusio 30. percében az arterio-venosus értékek közel azonosak voltak, a 60. percre minimálisan, de pozitív irányba változott az A-V differencia. A hűtött Ischaemia-Reperfusio csoport ezzel ellentétes tendenciát mutatott: a reperfusio kezdetén az A-V különbség pozitív előjelű volt, a 15. percre a differencia mértéke csökkent, majd a 30. perctől negatív előjelűvé vált (28. ábra).

#### **4.2.11. A szövettani vizsgálatok eredményei**

A *nem hűtött Áloperált* csoportban az izomrostok mérsékelt fellazulásán kívül nem látszott elváltozás a 4 órás reperfúziós periódusnak megfelelő időszak végén biopsziákban.

A *hűtött Áloperált* csoportban ezzel szemben ekkor focalis myocytolysis és intracytoplasmaticus vacuolisatio volt megfigyelhető (29.A, B ábra). Az ötödik posztoperatív napon vett mintákban mindkét áloperált csoport metszetei normál szövettani képet mutattak.

A *nem hűtött Ischaemia-Reperfusio* csoportban a reperfusio 4. órájában vett izombiopsziák szövettani képe gócos eosinophiliát és kezdődő leukocytá infiltrációt mutatott (30.A ábra).

A *hűtött Ischaemia-Reperfusio* csoportban mindössze az izomrostok finom felrostozódása és hypertrophiás sejtmagok megjelenése volt jellemző (30.B ábra). Az ötödik posztoperatív napon vett mintákban a nem-hűtött Ischaemia-Reperfusió csoportban kifejezett mértékű leukocytá infiltrációt találtunk az izomrostok eosinophiliájával, néhány metszetben thrombotisált erek és összezsapzódott vörösvérsejtek is láthatók voltak. A hűtött csoportban a hypertrophiás sejtmagok arányának növekedése látszott kifejezett gyulladásos jelek nélkül.

Az izombiopsiákból készített szövettani metszeteken mért *capillaris átmérőket* a VIII. táblázat összegzi.

A *nem hűtött Áloperált* csoportban a reperfusio 4. órájában vett mintákon mért capillaris átmérő értékek alig különbözött az ötödik posztoperatív napon kapott értékektől.

A *hűtött Áloperált* csoportban nagyobb értékeket mértünk mindkét időpontban.

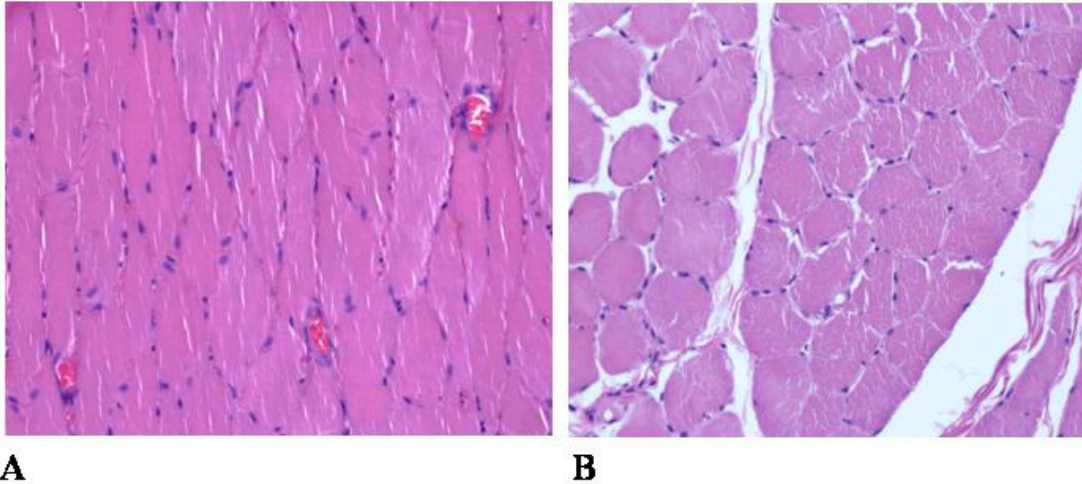
A *nem hűtött Ischaemia-Reperfusio* csoportban az ötödik napon is viszonylag nagyobb capillaris átmérőket találtunk, melyek szignifikánsan különböztek a nem hűtött Áloperált csoport értékeitől.

A legnagyobb capillaris átmérőket a *hűtött Ischaemia-Reperfusio* csoportban találtuk a reperfusio 4. órájában.

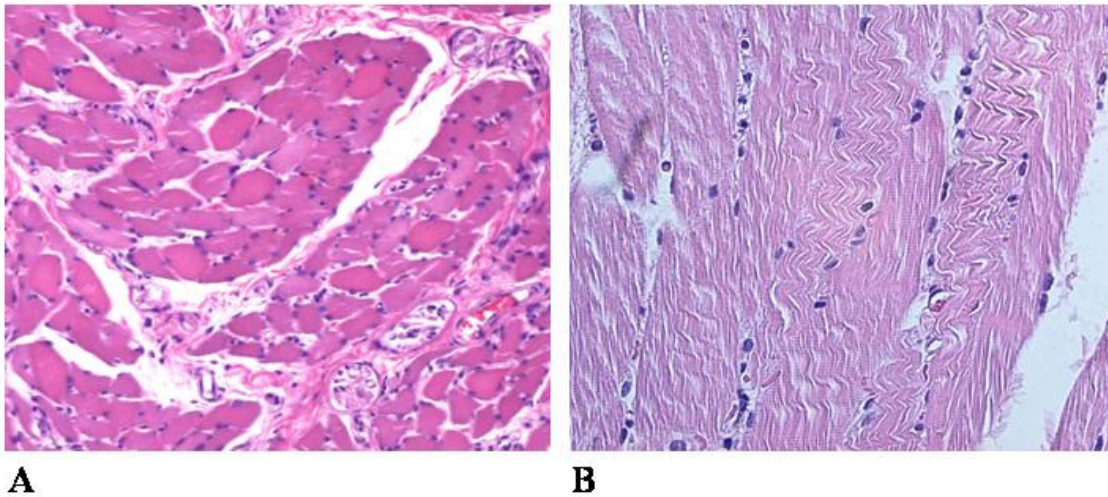
**VIII. táblázat:** Átlagos capillaris átmérők változása a m. tibialis anteriorból vett biopsiákból készített metszeteken az egyes kísérleti csoportokban

Csoportok	Capillaris átmérő [ $\mu$ m]	
	reperfusio 4. órája	5. posztoperatív nap
nem hűtött Áloperált	7,2 $\pm$ 0, 87	8,382 $\pm$ 0,38
hűtött Áloperált	10,61 $\pm$ 0,29 *	9,745 $\pm$ 0,49
nem hűtött Ischaemia-Reperfusio	10,49 $\pm$ 1,39 #	10,872 $\pm$ 1,24 #
hűtött Ischaemia-Reperfusio	11,85 $\pm$ 1,16	11,685 $\pm$ 1,17

(átlag  $\pm$  S.D.) p<0,05 \* vs. nem hűtött, # vs. Áloperált



**29. ábra**  
 A műtéti periódus 7. órájában (3 órás ischaemia utáni reperfusio 4. órájának megfelelően) vett izombiopsia (m. tibialis anterior) szövettani képe a (A) nem hűtött Áloperált és a (B) hűtött Áloperált csoportban.  
*Mérsékelt izomrost fellazulás, illetve a hűtött esetben focalis myocytolysis és intracytoplasmaticus vacuolisatio látszik.*  
 H&E festés, eredeti nagyítás: 100x, A: hosszmetset, B: keresztmetset



**30. ábra**  
 A reperfusio 4. órájában vett izombiopsia (m. tibialis anterior) szövettani képe a (A) nem hűtött Ischaemia-Reperfusio és a (B) hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban.  
*A nem hűtött esetekben gócos eosinophilia és kezdődő leukocyta infiltratio, a hűtött esetekben az izomrostok finom felrostozódása, hypertrophiás nucleusok láthatók.*  
 H&E festés, eredeti nagyítás: 100x, A: keresztmetset, B: hosszmetset

#### 4.2.12. A vizsgált paraméterek változásainak összefoglalása

Az egyes paramétereket információtartalmuknak, jelző értéküknek megfelelően négy fő kategóriába lehet összefoglalni:

(1.) A vizsgált laboratóriumi paraméterek közül *nem változott jelentősen* az átlagos vörösvérsejt térfogat (MCV), átlagos haemoglobin tartalom és koncentráció (MCH, MCHC).

(2.) *Mérsékelt, minden csoportra közel egyforma mértékben* jellemző változást mutatott a vörösvérsejtszám, a haemoglobin, a thrombocytaszám és az összfehérje-szint. A hűtött és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban nagyobb mértékben változott a prothrombin idő, a thrombin idő és az albumin-szint.

(3.) *Minden csoportban jelentős* változást mutatott a fehérvérsejt szám (ezen belül is a granulocytá+monocytá szám) és a haematocrit érték.

(4.) Az *ischaemia-reperfusió során* változásokat mutatott a teljes vér- és plazma viszkozitás, valamint a fibrinogén szint. A karakterisztikus változásokon belül a *hűtött és nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportok között jelentős és szignifikáns különbségeket* mutatott a vörösvérsejt deformabilitást jellemző relatív sejt-tranzitidő paraméter (RCTT, 16. ábra), valamint az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI, 22. ábra). A nem laboratóriumi paraméterek közül a szöveti nyomás és a szövettani metszeteken elemzett capillaris átmérők vizsgálata is szignifikáns mértékű eltéréseket mutatott.

## 5. MEGBESZÉLÉS

Bár egyre világosabb az ischaemia-reperfusio pathomechanizmusa, az irreverzibilitás időpontja nehezen meghatározható. Meddig tart a revascularisált szövet életképessége? Hol vannak a sikeres replantatio határai?

A 2.2. és 2.3. fejezetben összegzett klinikai tapasztalatok alapján is rendkívül fontos az időfaktor, melynek elsősorban szervezési oldalait kell fejleszteni (Mentőszolgálat, megfelelő fogadó intézet, annak minden elemével – szakember, műszerezettség, rendelkezésre állás). A sikeres revascularisatio és replantatio lényeges eleme a végtag kisfokú szennyezettsége és roncsolódása, valamint az amputatum szakszerű ellátása.<sup>146</sup>

A micro- és macro-replantatio fejlődése, a revascularisált/replantált testrészek magasabb túlélési arányához vezetett, de továbbra is kritikusak a korai posztoperatív napok. A reperfusio sikeréhez hozzájárult a hűtés, de a klinikai gyakorlatban a hypothermiából származó nem kívánt hatásokkal is találkozhatunk. A prognózist számos más tényező is befolyásolja, mint például az elektív vagy traumás hypothermia foka,<sup>136, 137, 153</sup> az acut vérvesztés mértéke, esetleges krónikus eredetű anaemia, eltérések a vér coagulációs állapotában, a fennálló anyagcsere-, szív- és érrendszeri betegségek, valamint a lehetséges társsérülések.<sup>1, 5, 8, 46, 77, 82, 95, 121, 129, 135</sup>

Ismert, hogy a létrejövő ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás fizikai, metabolikus, morphologiai és funkcionális változásokat indít el a szervekben/szövetekben, változatos mikrokeringési elváltozásokkal és endothelialis dysfunctio megjelenésével kísérvé.<sup>4, 16, 48, 53, 110</sup> Az acut ischaemiának kitett végtag reperfusióját követően a morbiditás és a mortalitás a kialakuló szisztémás válaszreakciók mértékétől, illetve a többszervi elégtelenség létrejöttétől függ.<sup>16, 25, 36, 43, 78, 98, 121, 165</sup> A keringésbe kerülő cytokinek és solubilis adhaesiós molekulák mennyisége korrelál a trauma mértékével és az ezzel összefüggésben kialakuló ischaemia kiterjedésével, valamint az azt követő reperfusióval.<sup>136</sup>

A kialakított két állatkísérletes modellben elsősorban az *ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás hatásait* vizsgáltuk a reperfusio kezdeti időszakában és a korai posztoperatív napokon. A kutatás másik vetületét a *hűtés és az ischaemia-reperfusio viszonyának vizsgálata* jelentette a preventív hűtés hatásosságának tekintetében.

### **5.1. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI KISÁLLAT MODELLEN**

A traumatológiai eseteknél a „letális triász” elemei a hypothermia, az acidosis és a coagulopathia, így ezek monitorozása igen fontos.<sup>8, 153</sup> Jelentőségéhez képest az acut végtagi ischaemiát követő *reperfusio első órájának* hemodinamikai és sav-bázis állapotban bekövetkező történéseit kevésbé vizsgálták.

A *3.1. fejezetben* leírt kísérletben patkányokon vizsgáltuk a reperfusio első órájának történéseit. Szignifikáns eltérést találtunk az arteriás középnyomás (III. táblázat), a vér pH értékének változásában (jelentős arterio-venosus különbségekkel), valamint a vér pCO<sub>2</sub> és pO<sub>2</sub> paraméterei tekintetében (14., 15. ábra). Az eltérések helyreállításához -főként a sav-bázis eltérések vonatkozásában- a reperfusio első órája nem volt elegendő.

A kísérleti protokoll három fő szakaszból állt. Az első szakasz az anaesthesiában végzett sebészi preparálás és 30 perces stabilizációs periódus, melyet a második szakaszban az egyoldali, 2 óra időtartamú tourniquet-ischaemia követett az Ischaemia-Reperfusio csoportban. Az első két szakaszban csak a beavatkozásokkal kapcsolatos szisztémás és általános elváltozásokra számíthattunk, összehasonlításban a Kontroll csoporttal.

Az értékelésnél figyelembe kell venni azonban azt is, hogy maga a tourniquet alkalmazása is okozhat acut hemodinamikai változásokat, hiszen az egyik hátsó végtag kirekesztésre került a keringésből, majd a harmadik szakaszban, a reperfusio során hirtelen megindult a végtag keringése. A párhuzamos Kontroll adatokkal összehasonlítva kismértékű, nem szignifikáns változások voltak tapasztalhatóak ebben a tekintetben.

Az első szakaszban az altatás és az immobilizáció kapcsán, a szövetek preparálása folyamán is számolhatunk általános változásokkal mind a hemodinamikai, mind a sav-bázis paraméterek tekintetében. A Pentobarbital anaesthesia szintén okozhat sav-bázis eltéréseket és arterio-venosus shunt-ök megnyitása révén a microcirculatióra is zavaró hatásokat fejthet ki.<sup>50</sup> A Kontroll csoportban párhuzamosan mért értékekkel való összehasonlítás itt külön fontos.

A legszembetűnőbb változásokat a pH értékekben tapasztaltuk. A kísérlet kezdetén az arteriális és venás vér pH-ja közel azonos volt, míg a reperfusio során az arterio-venosus „olló” kinyílt az alacsonyabb venás értékek miatt. A pH eltéréseket a pCO<sub>2</sub> és pO<sub>2</sub> változásai kísérték.

Sako és munkatársai<sup>131</sup> leírták, hogy aorta abdominalis aneurysma műtét során a szükségeszerű aorta lezorítás oldását követően, az alsó testfél reperfusiójakor létrejövő tranziens laktát-szint növekedés és pH csökkenés bizonyos esetekben hozzájárulhat a kialakuló keringési shock-hoz (declamping shock).<sup>131</sup> Szintén ismert, hogy az ischaemiának kitett végtag reperfusiójakor a venás vérben, valamint a vázizom intracellularis réseiben az ATP-, laktát-, piruvát szintek és a laktát/piruvát arány változása a musculatura ischaemia-reperfusió károsodásának mértékét is jelzik és a restitutio megítélésére is alkalmasak.<sup>78</sup>

Mondek és munkatársai<sup>54</sup> klinikai tanulmányukban kimutatták, hogy a lokális acidózis a végtagi ischaemiát követő reperfusio második órájában érte el maximumát az érleszorítók felengedését követően. A vérmintákat az ipsilateralis vena femoralisból vették.<sup>104</sup> Graffigna munkacsoportja<sup>54</sup> egy műszer-rendszert fejlesztett ki a coronaria vér folyamatos sav-bázis monitorozására intermittáló cardioplegia periódusok során. Vizsgálatukban azt találták, hogy a pH csökkenése nem volt lineáris, a kezdeti gyors declinatio elért egy minimum pontot, majd lassú, de progresszív emelkedési fázis következett a pH értékekben. Az ischaemiás periódusok alatt a pCO<sub>2</sub> folyamatosan emelkedett.<sup>54</sup>

A sav-bázis állapotban létrejövő lokális változások a vér összetételére, annak alakos elemeire közvetlen módon is kifejthetik hatásukat. A micro-haemorheologiai paraméterek

közül kiemelhető a vörösvérsejtek deformabilitása, melyet a pH bármely irányú változása befolyásol. <sup>23, 157</sup> Kísérletes adatok szerint rövid idejű, akár 10-15 perces ischaemia hatására is romlik a vörösvérsejtek passzív deformabilitása lokálisan, a kirekesztett végtagban. <sup>79</sup>

A vizsgálataink során talált hemodinamikai változások nem specifikus eltéréseknek tűnnek. A reperfusio során az arteriás középnyomás csökkenésének hátterében valószínűleg részben a felengedés következtében kialakuló kompenzációs mechanizmusok és kismértékű vasodilatatio állhatnak. A fehérvérsejt szám enyhe fokú csökkenése a reperfusio során nem tisztázott. Ebben feltételezhetően szerepe lehet az ischaemiának kitett reperfundált végtag vasculaturájában létrejövő leukocytá acumulatióknak, mely így látszólagos fehérvérsejt szám csökkenést okozhatott. Az igen kis mennyiségű vérminták nem engedték meg további paraméterek vizsgálatát, így csak e feltételezésekre szorítkozhatunk ebben a kísérletben.

Következtetésként levonható, hogy (I.) a Pentobarbital anaesthesia általános hatásain túl a végtagi ischaemia-reperfusio szisztémás hemodinamikai és sav-bázis eltéréseket idézett elő a reperfusio első órájában, arterio-venosus különbségeket is mutatva. A restitúcióhoz a reperfusio első órája nem volt elegendő. (II.) A lokális metabolikus változások és a fehérvérsejtek acumulatiója a szisztémásan mérhető paramétereket befolyásolhatta, valamint (III.) a 2 órás ischaemiát követő reperfusio első órájában megindult a *respiratorikus kompenzáció* a pO<sub>2</sub> értékek növekedésével és a pCO<sub>2</sub> fokozatos csökkenésével.

## 5.2. VÉGTAGI ISCHAEMIA-REPERFUSIO VIZSGÁLATA LABORATÓRIUMI NAGYÁLLAT MODELLEN

A 3.2. fejezetben részletesen ismertetett kísérletben keverék kutyákon hűtött és nem hűtött áloperált csoportok mellett hűtött és nem hűtött 3 órás ischaemiát idéztünk elő a femoralis erek időleges leszorításával. A lágyrészek kirekesztése az erektől függetlenül történt. Az ischaemiát 4 órás reperfusio követett, majd a lágyrészek kirekesztését is megszüntettük. A lokális és szisztémás vonatkozásban vizsgált paraméterek egy része nem specifikus változást, más részük az ischaemia-reperfusio kapcsán jellegzetes eltéréseket mutatott, melyek közül több paraméter eltérő mértékben változott a hűtött és a nem hűtött csoportokban. Ezért a talált változások háttérének elemzését az *ischaemia-reperfusio* és a *hűtés* vonatkozásában külön is érdemes elvégezni.

### 5.2.1. Az ischaemia-reperfusio hatásai

A reperfusio során a kirekesztett végtagban az ischaemia idején stasis alatt lévő, anaerob metabolitokban gazdag vér kerül a keringésbe, helyére a szisztémás keringésből oxigénben dús vér áramlik, létrehozva, illetve beindítva a reperfusióval járó lokális és szisztémás metabolikus történéseket és gyulladásos kaszkád folyamatokat, melyek mértéke függ az ischaemia időtartamától, kiterjedésétől és a hőmérséklettől.<sup>32, 36, 53, 84, 110, 165</sup> Az ischaemia-reperfusio a complement-rendszer aktivációjának potens induktora, C3a, C5a faktorok, membran attack complex, valamint számos inflammatorikus mediator produkcióját előidézve.<sup>9, 10</sup> A szövetekben intra- és extracellularis duzzadás, acidózis, reaktív oxigén szabadgyökök mediálta károsodások és láncreakciók, ATP vesztés és intracellularis calcium beáramlás (overload) állnak reperfusió károsodások háttérében.<sup>32, 36</sup>

A vázizomzat a végtag predomináns szövete, mely az ischaemiára érzékeny. Élettani és anatómiai vizsgálatok kimutatták, hogy az irreverzibilis izomrost károsodás körülbelül 3 óra ischaemia után veszi kezdetét és hozzávetőlegesen 6 órán belül közel teljessé válik.<sup>22, 41, 57, 110</sup>

Az ischaemia és reperfusio során izomrost elváltozásokat progresszív és jellegzetes microvascularis károsodások kísérik.<sup>16, 34, 40, 99, 114, 126</sup>

Eckert és Schnackerz<sup>41</sup> vizsgálata alapján a humán vázizom kritikus ischaemiás időtartama normothermia esetén (34-35 °C) 135 perc, ahol már irreverzibilis károsodások jönnek létre. Ez a határ 26 °C-ra való hűtéssel 5 órára nyújtható.<sup>41</sup> Azokban az esetekben, ahol az ischaemiát thromboticus folyamat, illetve embolia okozza, az ischaemiás károsodás zónája különböző mértékű, ami a collateralis véráramlási útvonalaktól függ és ennek kiterjedése szabja meg a gyulladásos válasz mértékét. Anticoagulans szerek adásával számos gyulladásos mediátor keletkezését mérsékelni lehet.<sup>16</sup>

Kísérletünkben, a 3 órás ischaemiát követő reperfusio negyedik órájában vett biopsziákban talált szövettani változások az irreverzibilitás időpontjának kérdésében nem adtak pontos választ. Úgy tűnik, hogy a hűtés itt jótékony hatású volt: a gyulladásos jelek és a leukocyta infiltratio mértéke kisebb volt, mint a nem hűtött esetben. A musculus tibialis anteriorból vett izombiopsziákból készített metszeteken vizsgált capillaris átmérők a hűtött csoportokban nagyobbaknak bizonyultak. Ebben szerepet játszhat az alacsonyabb hőmérséklet értónusra kifejtett direkt hatása, továbbá a reperfusio során a szabadgyökök képződésének feltételezett csökkenése, az általuk kiváltott vasoconstrictor hatású történések és reakciók mérséklése révén (direkt vasoconstrictio, leukocyta aktiváció, a NO szint direkt és indirekt depleciója),<sup>110</sup> amellet, hogy az ischaemia alatt a pH csökkenése, az adenosin hatása, a pCO<sub>2</sub> növekedése egyébként is a vasodilatatio irányába hat. A nem hűtött ischaemia-reperfusio során kifejezett gyulladásos folyamatokat, necrosist, számos thrombotisált kiseret, eltömeszelődött, összezsapzódott vörösvérsejteket tartalmazó arteriolát és elzárt capillarist találtunk a metszeteken.

A mikrokeringési jelenségek hátterében nemcsak az endothelium, az erek és környezetük változásai állnak, hanem a keringő vér tulajdonságai, kóros irányú eltérései is

meghatározóak. Ezért a szövetek morfológiai vizsgálatai mellett a létrejövő lokális és szisztémás változások és hatások hátterének pontosabb feltárásában a kirekesztett (lokális)- és a keringő (szisztémás) vér összetételének vizsgálata, változásának követése haemorheológiai, haematológiai és haemostaseológiai szempontból fontos.

#### *5.2.1.1. Haemorheológiai és haematológiai változások*

Az ischaemia-reperfúziós folyamatokban a vér rheológiai paraméterei (3. ábra) fontos szerepet játszanak. Az áramlási paraméterek változása pathológiai folyamatok következménye, de egyben okozója is lehet.<sup>91, 143</sup> Ezen paraméterek változása a keringés révén az egész testre hat, jelentősége kiemelkedő a kirekesztett régióból a szisztémás keringésbe kerülő vér összetételében.<sup>49, 81</sup> Az ischaemiás inzultust megelőző haemorheológiai állapot szintén fontos befolyásoló tényező lehet.<sup>95</sup>

A haemorheológiai paraméterek közül vizsgáltuk a vörösvérsejt deformabilitást, a teljes vér- és plazma viszkozitást, a haematocritot és a fibrinogén koncentrációt az ischaemia és a reperfúzió alatt mind lokális, mind szisztémás vonatkozásban. Eredményeink azt mutatták, hogy 3 órás ischaemiát követő reperfúzió jelentős változásokat idézett elő a vörösvérsejtek deformabilitásában, ami a második és harmadik posztoperatív napon szignifikánsan romlott, a legkifejezettebb a hűtött ischaemia-reperfúzió esetében volt (16. ábra). A haematocrit és a  $90 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért teljes vér viszkozitás az első napon emelkedett, majd az ötödik posztoperatív napig mérsékelte, de folyamatos csökkenést mutatott. A 40%-os haematocritra korrigált viszkozitás értékek, a plazma viszkozitás és a fibrinogén koncentráció nőtt a posztoperatív napokon, legkifejezettebb mértékben a hűtött ischaemia-reperfúzió eseteiben (17., 18. és 19. ábra). A kirekesztett végtagban lévő vér rheológiai szempontból romlott a szisztémás vérhez képest, a viszkozitás tekintetében legkifejezettebben a hűtött esetekben (VI. táblázat).

Ismert, hogy a vörösvérsejtek deformabilitása megváltozhat a membránszerkezetüket, cytoskeletalis struktúrájukat, morphológiájukat, felület-térfogat arányukat, valamint belső viszkozitásukat érintő bármely hatás révén.<sup>17, 18, 150</sup> Több tanulmány számol be arról, hogy a szabadgyök-reakciók révén jelentősen károsodhatnak a vörösvérsejtek.<sup>13, 117</sup> Ismert, hogy a sejtek környezetének osmolaritás- és pH-változása, az aktív ion-pumpák leállása, kimerülése révén kialakuló sejtduzzadás által megváltozik a deformabilitásuk.<sup>23, 157</sup> Az ischaemia-reperfusio így komplex és időben változó módon befolyásolja a vörösvérsejtek deformabilitását.

Az ischaemia ideje alatt, illetve közvetlenül a reperfusio kezdetén döntően a fizikai és metabolikus eltérések hatnak a vörösvérsejt deformabilitásra. A reperfusio során, illetve azt követően a szabadgyök-reakciók hatása válik meghatározóvá. Munkacsoportunk egy korábbi tanulmányban kimutatta, hogy patkányokon 1 órás végtagi ischaemiát követő reperfusio a vörösvérsejtek deformabilitásában, a relatív sejt tranzit-idő paraméterben (RCTT) jelentős növekedést idézett elő az első és második posztoperatív napon, mely kóros változás az ischaemia előtt alkalmazott xantin-oxidáz (XO) inhibitor, allopurinol előkezeléssel megelőzhető volt.<sup>111</sup> A reperfusio során generálódott reaktív oxigén szabadgyökök a vörösvérsejtekben membránlipid peroxidáció, proteinstruktúra-megváltozás általi enzimműködési zavarok, valamint haemoglobin molekula eltérések révén csökkentik a sejtek deformabilitását.<sup>13, 45</sup> Ischaemia-reperfusiós folyamatok során a szabadgyökök legnagyobb mennyiségben az aktiválódott xantin-oxidáz enzim működése révén,<sup>13, 53, 56, 97</sup> majd az aktiválódott neutrophil sejtekben keletkeznek,<sup>4, 110</sup> továbbá a nitrogén-oxid (NO), és toxicus származékainak szerepe sem hanyagolható el.<sup>19, 110</sup>

A xantin-oxidáz inhibitorok a reperfusio első óráiban fejtik ki hatásukat, hiszen a XO enzim ekkor a legaktívabb. A felszabadult szabadgyökök mennyiségének csökkentése révén képesek a következményes gyulladáisos reakciók mérséklésére, a későbbiekben a leukocyták

aktiválására és csökkentik a napokig tartó további szabadgyök- és mediátor felszabadulást, a gyulladási reakciókat és a további szövetkárosodást mértékét. A XO inhibitorok hatása a posztoperatív napokban közvetett módon így jelentkezik.

A kísérletünkben talált kiugró RCTT értékek a második és harmadik posztoperatív napon az ischaemia-reperfusio okozta gyulladási folyamatok következtében alakulhattak ki. A direkt hűtés hatására létrejövő szövetkárosodás és a következményeként kialakuló kiterjedtebb gyulladási folyamatok eseteiben még nagyobb RCTT értékeket mértünk. A hűtött ischaemia-reperfusio eseteiben a reperfusio első órájában a szisztémás keringés vonatkozásában talált megnövekedett RCTT alapvetően a hűtött végtagból a keringésbe kerülő hűvösebb vér szervezetre kifejtett hatásának következménye lehet. A kirekesztett vérben a reperfusio előtt vett mintákban az RCTT mégis a hűtött esetekben volt alacsonyabb, feltehetően a hypoxiás metabolikus folyamatok lassulása révén.

*A haematocrit és a teljes vér viszkozitás* első posztoperatív napon megfigyelhető emelkedése a beavatkozások mértékével összefüggésben (anaesthesia, immobilizáció, szövetek preparálása, erek kanülálása, adott csoportokban erek leszorítása, lágyrészek kirekesztése) jöhetett létre,<sup>83</sup> ugyanis az áloperált csoportokban is bár kisebb mértékű, de hasonló irányú változásokat tapasztaltunk. Az első posztoperatív napot követően a haematocrit és a teljes vér viszkozitás csökkenő tendenciát mutatott. Ezért van jelentősége a viszkozitás értékek konstans haematocritra való korrekciójának,<sup>96</sup> hiszen a haematocrit mellett más haemorheológiai paraméterek is meghatározzák a teljes vér viszkozitást. A 40%-os haematocritra való korrekcióval a viszkozitás értékek közel állandóak voltak a vizsgált posztoperatív napokon, enyhe emelkedést mutatva, amely a hűtött ischaemia-reperfusió eseteknél szignifikánsan magas értékeket ért el az ötödik posztoperatív napra.

Ezzel párhuzamosan *a plazma viszkozitás és a fibrinogén koncentráció* is nőtt. Ez a haemoconcentrációval, a *fehérvérsejt szám* növekedésével (20. A ábra) és a *thrombocytá szám*

változásával együttesen az acut fázis történéseihez kapcsolódóan alakulhat ki a beavatkozások, a szöveti károsodás, illetve a trauma mértékétől függően.<sup>83</sup> Ezek a változások az ischaemia-reperfüziós eseteknél nagyobb arányúak voltak, mint az áloperált csoportokban. A hűtés nem kívánatos hatásai feltételezhetően ehhez hozzáadódtak. A fibrinogén szint nagyobb arányú emelkedése a nem hűtött ischaemia-reperfüzio csoportban nem nyilvánult meg a teljes vér viszkozitás párhuzamos növekedésében, ami csak kismértékben nőtt az első és második posztoperatív napon.

*A kirekesztett végtagból* az ischaemiás periódus végén, közvetlenül a reperfüzio előtt vett venás vérminták összetétele a legtöbb vizsgált laboratóriumi paraméter tekintetében jelentősen különbözött a szisztémás keringésből vett venás vértől (25. ábra). A hűtött és nem hűtött csoportok vonatkozásában a kirekesztett vérminták főleg haemorheológiai viszonylatban mutattak eltéréseket. A nem hűtött ischaemiás végtagban csökkent a vörösvérsejt deformabilitás, és magasabb volt a haematocrit, míg a hűtött végtagban a teljes vér viszkozitása nagyobb értékű volt, mint a nem hűtött esetekben.

Fontos megjegyezni, hogy a méréseket minden minta esetében azonos, standard hőmérsékleten végeztük: a haematológiai és vörösvérsejt deformabilitás méréseket kontrollált szobahőmérsékleten, a viszkozitás méréseket a viszkozimeterben 37 °C-on végeztük.

A kirekesztett végtagban stagnáló vér összetétele az ischaemia alatt változhat. A stasis során nő a haematocrit, a megváltozott folyadék eloszlás, illetve plazmavesztés befolyásolhatja a fehérje koncentrációkat és így a plazma viszkozitást is. A vörösvérsejtek volumenének változása, a deformabilitásukban, aggregációs készségükben létrejövő változás szintén hozzájárul a teljes vér viszkozitás emelkedéséhez.

Kayar és munkatársai<sup>79</sup> patkánykísérletben kimutatták, hogy végtagi ischaemiát követően a reperfüzio kezdetén az érintett végtag vena femoralisából vett mintákban jelentősen csökkent a vörösvérsejt deformabilitás, ami a reperfüzio 15. percében már nem volt

kimutatható.<sup>79</sup> A stasis hatását és a reperfúziós károsodások mértékét tekintve jelentősége lehet annak is, hogy az arteriális és a vénás oldal felengedése egyszerre vagy egymáshoz képest késleltetve történik.<sup>64, 101</sup> Az ischaemia alatt az anaerob folyamatok is hatással vannak a vér minőségi összetételére, hiszen a laktát szint emelkedése, illetve a pH csökkenése erősen befolyásolja az erythrocyták deformabilitását.<sup>23, 115, 157</sup> Hűtés nélkül ezeknek a folyamatoknak gyorsabb dinamikája lehet. A hűtés a metabolikus folyamatokat általában lassítja.

A kirekesztett vérben meghatározott fehérvérsejt szám és thrombocytá szám értékelésénél figyelembe kell venni, hogy a 3 órás ischaemia során jelentős endothelium károsodás indulhat meg, ami a leukocytá-thrombocytá accumulatio és a kezdődő endothelialis dysfunctio révén eredményezhet a szisztémás vérhez képest eltérő értékeket. A reperfusio során az arterio-venosus különbségek dinamikája (26., 27. és 28. ábra) is azt sugallja, hogy a hűtött és nem hűtött ischaemiát követő reperfusio során a végtag endothelium felületén bekövetkező, leukocytákat, thrombocytákat és ezek interakcióját érintő hatások is befolyással bírhatnak a keringő vérben mért számszerű értékekre.

Kísérletünket ép érrendszeren történő érleszorítással és felengedéssel végeztük. Az eredmények értékelésében és az összefüggések vizsgálatában lényeges annak figyelembe vétele, hogy a vér rheológiai állapotában bármilyen ok miatt bekövetkezett eltérések miatt megnövekedett nyírófeszültség az endothelialis funkcióra közvetlenül hat. Több irodalmi forrás szerint a nyírófeszültség aktiválja az endothelialis mechano-sensorokat, ezeken át szignál mechanizmusokat indít el, mely gén- és protein expressziót váltanak ki. A vascularis endothelialis növekedési faktor (vascular endothelial growth factor, VEGF), az integrinek, G-proteinek és számos ion-csatorna mechanoszenzitív és foszforilációs kaszkádokat triggerel.<sup>30, 35, 87, 122</sup> A legtöbb felszabaduló faktor vasoactív, mint például a nitrogén-oxid (NO), mely molekulák a vascularis tónusra kifejtett hatásukkal tovább módosíthatják a

keringés adott szakaszán a vér rheológiai tulajdonságait.<sup>12, 56</sup> Az ischaemia-reperfusio során létrejövő endothelialis dysfunctio további folyamatokat indít el, melyek „circulus vitiosus”-ként befolyásolják a régió keringését és mikrokeringését.<sup>103, 142</sup>

#### *5.2.1.2. A vér coagulációs paramétereinek változása*

A szövetkárosodás és a trauma mind hyper-, mind hypocoagulabilis állapotot előidézhet,<sup>21, 135, 138</sup> és a hypothermiával, valamint az acidózissal együtt az úgynevezett „letális triász”-t képezik, mely a beteg sorsát sorsát nagymértékben befolyásolja.<sup>8, 153</sup>

A kísérlet eredményei azt mutatták, hogy a fibrinogén koncentráció folyamatos emelkedése mellett a prothrombin idő a második és negyedik posztoperatív nap között mutatott nem szignifikáns növekedést. Ugyanekkor az aktivált parciális thromboplastin idő szignifikáns mértékben növekedett a hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban a második, a nem hűtött Ischaemia-Reperfusio csoportban pedig a negyedik posztoperatív napon. A thrombin idő az első és második posztoperatív napon kismértékben emelkedett a nem hűtött ischaemia-reperfusiók esetekben. A változások háttérében több tényező állhat, részben a rendelkezésre álló faktorok mennyisége, részben a fibrinolitikus útvonalak aktiválódása, részben a fibrinogén depositumok mennyisége révén.<sup>163</sup>

Nielsen és Geary nyulakon végzett vizsgálatai<sup>116</sup> azt mutatták, hogy hepatoentericus ischaemia-reperfusio során coagulopathia, illetve vérrögzépződés alakult ki. Azt feltételezték, hogy ebben a folyamatban szerepe lehet a hízósejtekből csökkent mértékben felszabaduló heparinnak (mast-cell-derived heparin), ugyanis a xantin-oxidáz (XO) inhibíció stabilizálja a hízósejteket.<sup>116</sup> Ischaemia-reperfusio során a XO aktivitás megnő, ez hozzájárulhat a mast-cell-derived heparin felszabaduláshoz, így a coagulációs idő paraméterek megnövekedéséhez.

Haithcock és munkatársai<sup>59</sup> a supracoelialis szintű aorta leszorítást (cross-clamping) követően megjelenő coagulopathia okait vizsgálták sertéseken. Azt találták, hogy 30 és 60

perces leszorítás hasonló mértékben idézett elő intravascularis thrombosit és fibrinogen depletiót. Kísérletükben kimutatták, hogy a legmeghatározóbb haemostaticus változás a fibrinolitikus útvonalak aktiválódása, amelynek nagysága az aorta leszorítás időtartamával kapcsolatban áll.<sup>59</sup>

Jejunum szegmentumokon végzett vizsgálatok alapján Massberg és munkacsoportja<sup>94</sup> számos bizonyítékot talált arra vonatkozóan, hogy a postischaemiás érfalon megjelenő fibrinogén depositumok jelentősen hozzájárulnak a thrombocyták adhaesiós folyamataihoz az arteriolákban és venulákban. Ischaemia-reperfusiót követően a korai fibrinogen accumulatio thrombocytá adhaerentiával mutatott co-localisatiót.<sup>94</sup>

A haematologiai, haemorheologiai és haemostaseologiai paraméterek változásán kívül az albumin szint is kismértékben, de eltérően változott ischaemia-reperfusiót követően az áloperált esetekhez képest (24.B ábra). Az ischaemia-reperfusiót követően a posztoperatív napokon mutatkozó nagyobb mértékű albumin szint csökkenés hátterében a műtét általános megterhelő hatása és a tápláltsági állapot változása mellett az a tény is állhat, hogy az ischaemia alatt károsodott vázizom sejtmembrán átteresztővé válik az albumin számára. Ezért az intracellularis albumin a sejtkárosodás korai markere lehet.<sup>85, 86</sup> Hvaal és munkatársai szerint az intracellularis albumin accumulatióért a végtagi ischaemia-reperfusio során döntően az ischaemiás fázis a felelős.<sup>72</sup>

### **5.2.2. A hűtés általános hatásai**

Az elektív beavatkozásokban a hypothermia általános előnye ismert,<sup>28, 31, 67, 73, 102, 127, 132, 133, 134</sup> ugyanakkor számos traumás esetben a hypothermia a poszttraumás komplikációk egyik leggyakoribb oka.<sup>137, 153</sup> Ismertté vált, hogy a hypothermia és az acidózis mértékétől függően különböző kinetikával idézhet elő coagulopathiát.<sup>93, 135, 153</sup> Míg az elektív sebészeti beavatkozásoknál az aktív hűtéssel elért hypothermia segít az ATP pool megőrzésében,

fenntartva az aerob metabolizmust, traumás eseteknél a csökkent hőtermelésből eredő ATP deplecióhoz vezet anaerob metabolikus körülmények között.<sup>137</sup>

Az ATP cellularis depleciója összefüggésben van az ischaemia indukálta folyamatok irreverzibilitásával.<sup>22</sup> A kísérletünkben is alkalmazott 3 órás ischaemiáról Hartung és munkatársai<sup>65</sup> kimutatták, hogy jelentősen befolyásolja a mitochondriumok működését csökkent ATP- és foszfokreatin szintet eredményezve.<sup>65</sup>

A szöveti hypothermia növeli a vázizom ischaemiás toleranciáját,<sup>60, 73, 123, 164</sup> ugyanakkor károsan befolyásolhatja a haemorheologiai faktorokat.<sup>11, 29, 76, 90</sup> Eredményeink alapján a hűtött ischaemia-reperfusio csoportban a haemorheologiai faktorok jelentősebb mértékben változtak, mint normothermia esetén. A hűtés által előidézett jelenségek során a folyamatok irreverzibilitása és kiterjedése függ a hőmérsékletváltozás dinamikájától, abszolút értékétől, valamint a hűtés kiterjedésétől és időtartamától.

A hűtés hatásossága ellentmondásos, ami főleg arra vezethető vissza, hogy a hűtés optimuma máig sem tisztázott.<sup>133</sup> Osterman és munkatársai<sup>120</sup> az ATP preservatio mértékét <sup>31</sup>phosphorus-NMR spectroscopiával vizsgálták macska amputált hátsó végtagokon. Kimutatták, hogy az empirikusan alkalmazott jeges hűtés nem minden tekintetben optimális, az ATP preservatio 18-20 °C-os hűtés esetén a legkedvezőbb lehet.<sup>120</sup>

Edorgan és munkatársai<sup>42</sup> szerint a lokális hűtés és az allopurinol együttes alkalmazása igen hatékony lehet az oxidatív stressz csökkentésére egy órás ischaemiát követő két órás reperfusio során patkánykísérletben.<sup>42</sup>

Több tanulmány szerint a hűtés hatásosabb az ischaemia-reperfusio káros hatásainak kivédésében, ha azt a reperfusio alatt alkalmazzák.<sup>31, 164</sup> Wright és munkatársai a postischaemiás hypothermia hatásosságát vizsgálva azt találták, hogy a reperfusio során csökkent az oedema mértéke és javult a vázizom sav-bázis állapota.<sup>164</sup>

A kísérleti eredmények és következtetések összegzéseként elmondható, hogy (I.) *a három órás ischaemia és az azt követő reperfusio karakterisztikus és szignifikáns változásokat idézett elő számos haemorheologiai és haemostaseologiai paraméterben, míg a legtöbb haematologiai paraméter nem mutatott specifikus eltéréseket. A változások egy része a beavatkozások általános megterhelő hatásával, az acut fázis-reakciókkal, lokális fizikai és metabolikus folyamatokkal hozható összefüggésbe, másrészt a szabadgyök-reakcióknak és a kialakuló gyulladási folyamatoknak is jelentősége van a reperfusio első óráiban és az első néhány posztoperatív napon. (II.) A lokális hűtés az ischaemia-reperfusio által okozott specifikus haemorheologiai és haemostaseologiai változásokat potenciózta. (III.) A kirekesztett végtagban lévő vér rheologiaiailag jelentősen rosszabb minőségű a szisztémás keringésben lévő vérnél. A reperfusio kezdetén, a kirekesztett végtagban lévő vér beáramlásával a szervezetet érő változások egy része megfigyelhető maradt a szisztémás keringésben is. (IV.) A lokális hűtés általános jótékony hatása mellett jelentős és kóros irányú változásokat idézett elő a vér rheologiai és coagulációs paramétereiben.*

A hűtés paradoxona továbbra is fennáll, hatásosságának kérdése további tisztázásra vár. A hűtési optimum meghatározása szükséges a sikeres revascularisatiohoz, illetve replantatiohoz. A nem kontrollált hűtés nagyobb figyelmet és körültekintést igényel, mert növelheti az ischaemia-reperfusio által okozott károsodások mértékét és a komplex pathophysiologiai történések, valamint az aktuális klinikai állapot függvényében jelentősen befolyásolhatja a kimenetelt, replantatiók esetén a szövetek túlélésének esélyét.

### **5.3. A KLINIKAI GYAKORLAT ÉS A KÍSÉRLETES MODELLEK EREDMÉNYEINEK ÖSSZEVETÉSE**

A műtétek során is fellépő reperfusió károsodás kísérletes körülmények között jól modellezhető és számos klinikai, laboratóriumi paraméterrel jól monitorozható. A bemutatott egyszerű és ismételt kísérletes modellekben kapott eredmények és tapasztalatok alapján

kijelenthető, hogy a haemorheológiai paraméterek és a coagulációs faktorok jellegzetes változásokat mutattak, alkalmasnak tűnnek az ischaemia-reperfusio hatásának kimutatására és követésére, valamint a hűtés kérdésének további tanulmányozására.

A kísérleti modellben vizsgált paraméterek változásainak és a fizikai viszonyoknak egy része az ischaemia-reperfusio tekintetében, más része az amputációknál felmerült kérdések megválaszolásában is segíthet. Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a hűtés nem feltétlenül jelent előnyt, különösen a kirekesztett végtagban lévő vér ischaemia idején kialakuló összetétele és a rheológiájára vonatkozó faktorok szempontjából. Ezek a tényezők a test távolabbi szöveteire, szerveire is hatást gyakorolhatnak a reperfusio alatt és után. A vér coagulációs paraméterei is jelentős romlást mutathatnak, mely úgy tűnik, hogy hűtés esetén kifejezettebb. Kísérletünkben az izomrekeszekben mért szöveti nyomás is a hűtött ischaemia-reperfusió csoportban emelkedett nagyobb mértékben.

A klinikai tapasztalatok azt mutatják, hogy az első néhány – különösen az első három – posztoperatív nap igen kritikus a szövődmények szempontjából. A kísérletben talált paraméterek karakterisztikus változásai is az első három posztoperatív napon jelentkeztek.

Kísérletes modellünkben a végtag lokális hűtése a legtöbb vizsgált paraméter tekintetében nem jelentett előnyt. Ezek az eredmények is megerősítik a hűtési optimum meghatározásának sürgető igényét, melynek vizsgálatára további kísérletek végzése, kiegészítő módszerek alkalmazása szükséges.

Számos irodalmi adat támasztja alá, hogy a végtagok ischaemiás folyamatainak tekintetében akár már fél órás időtartamú ischaemia is jelentős változásokat hozhat létre számos paraméter tekintetében. Az értekezésben bemutatott kísérletekben a két- és három órás végtagi ischaemia-reperfusio több karakterisztikus változást mutatott. A klinikai munka során az esetek sokrétűsége, egyedisége, a beavatkozások körülményei, technikai lehetőségei, valamint a korábban taglalt időfaktor ténye gyakran ennél hosszabb ischaemiás időtartamot jelent.

Kísérleteink eredményei szemléletet is nyújthatnak a klinikai munkához, az ischaemia-reperfusio szélesebb körű lokális és szisztémás történéseinek megismerésével, valamint a jelző értékű paraméterek lehetőség szerinti figyelembe vételével és követésével.

A bemutatott kísérletek eredményei korrelálnak tapasztalati tényekkel és irodalmi adatokkal, de szem előtt kell tartani az állatok egész testét érintő, műtéti periódus alatt fellépő hatásokat is, a hosszan tartó altatást, az immobilizációt és a lokális hűtés egész testre kifejtett hatását, az állatok testméret arányainak tükrében.

Ugyancsak fontos szempont az is, hogy a kísérletek egészséges érrendszeren történtek. A paraméterek egy részében létrejövő változások így is jelentősek voltak. Valószínűsíthető, hogy beteg érrendszer és/vagy a keringő vér megváltozott összetétele mindezeket a folyamatokat megváltoztathatja.

Ez a nézőpont is indokolja a vizsgálatok folytatását, a folyamatok többirányú feltárását, a hasonló klinikai esetek komplex kezelésének biztonsága érdekében.

#### 5.4. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEGZÉSE

Az értekezésben bemutatott legfontosabb eredmények és következtetések az alábbiakban foglalhatóak össze:

1. *Irodalmi adatok és saját klinikai tapasztalatok* alapján összegeztük a *részlegesen amputálódott végtagok ischaemia-reperfusiós történéseit* az első ellátástól a műtéti kezelésem át a funkciók helyreállításának követéséig. Ez az átfogó értékelés adta meg a kísérletes munka alapját és a kutatások tervezését, a klinikusokat legjobban foglalkoztató *jelző értékű vizsgálmódszerek* meghatározásának igényével.
2. *A traumás végtag sérülések kapcsán* összegyűlt klinikai tapasztalatok alapján felmerült kérdések vizsgálatára, *az ischaemia-reperfusio* pathophysiologiai történéseinek tanulmányozására *két állatkísérletes modellt dolgoztunk ki*.
3. *A patkányokon végzett kísérletben* a Pentobarbital anaesthesia általános hatásain túl *a két órás hátsó végtagi ischaemia-reperfusio szisztémás hemodinamikai és sav-bázis eltéréseket idézett elő a reperfusio első órájában, számottevő arterio-venosus pH különbségeket is mutatva*. A restitúcióhoz a reperfusio első órája nem volt elegendő, bár lassan megindult a *respiratorikus kompenzáció* a pO<sub>2</sub> értékek növekedésével és a pCO<sub>2</sub> fokozatos csökkenésével.
4. Keverék kutyákon *a három órás hátsó végtagi ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás hatásainak vizsgálatára kidolgozott kísérletes modellben a lágyrészek és az erek kirekesztése egymástól függetlenül történt*, így a végtagot ellátó főeren keresztül történő „vascularis reperfusio” hatásának elemzésére és a kirekesztett végtagban lévő vér összetételének vizsgálatára volt lehetőségünk, szemben a tourniquet-modellekkel.
5. *A keverék kutyákon végzett kísérletben a három órás ischaemia és az azt követő reperfusio karakterisztikus és szignifikáns változásokat idézett elő a szisztémás*

*keringésben számos haemorheologiai és haemostaseologiai paraméterben, míg a legtöbb haematologiai paraméter nem mutatott specifikus eltéréseket.*

*Az első három posztoperatív napon jelző értékű változásokat mutatott a vörösvérsejt deformabilitás és az aktivált parciális thromboplastin idő.*

*A nem laboratóriumi paraméterek közül jelző értékű volt a lábszár elülső izomrekeszében intraoperatíván mért szöveti nyomás.*

6. *A keverék kutyákon végzett kísérletben a normothermián kirekesztett végtagban lévő, ún. lokális vér rheologiailag jelentősen rosszabb minőségű volt a szisztémás keringésben lévő vérnél. A reperfusio kezdetén, a kirekesztett végtagból kikerülő vér beáramlásával a változások egy része megfigyelhető maradt a szisztémás keringésben is.*
7. *A lokális hűtés (hypothermia) az ischaemia-reperfusio által okozott specifikus haemorheologiai és haemostaseologiai változásokat potencírozhatja, jelentős romlást idézve elő a vörösvérsejt deformabilitásban, a teljes vér viszkozitásban és az aktivált parciális thromboplastin időben a reperfusio első órájában és a korai posztoperatív időszakban.*
8. *A keringésből kirekesztett végtag viszonylatában a hűtés paradoxona továbbra is fennáll, hatásosságának kérdése még tisztázásra vár. A nem kontrollált hűtés nagyobb figyelmet és körültekintést igényel, hiszen növelheti az ischaemia-reperfusio által okozott károsodások mértékét és a komplex pathophysiologiai történések, valamint az aktuális klinikai állapot függvényében jelentősen befolyásolhatja a kimenetelt. A teljesen vagy részlegesen amputálódott végtagok replantációjánál mind az amputátumok szállításánál, mind a műtét alatt használt nem optimális mértékű hűtés csökkentheti a szövetek túlélésének esélyét.*

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

A traumás eredetű végtag-amputációk és az ischaemia-reperfusio (I/R) komoly kihívást jelentenek a klinikai gyakorlatban, ugyanakkor kevés olyan laboratóriumi paraméter ismert és használatos, amelyek alapján megítélhetőbbé, követhetőbbé válna a prognózis. Különösen igaz ez olyankor, amikor a preventív hűtés sokszor kétélű hatása is befolyásolja a klinikai állapotot.

A kérdések részbeni tisztázására két kísérletes modellt dolgoztunk ki: (I.) *Patkányokon 2 órás ischaemiát követő reperfusio első órájában* vizsgáltuk a hemodinamikai változásokat és a sav-bázis rendszerben létrejövő eltéréseket az arterio-venosus különbségek tekintetében is. (II.) *Keverék kutyákon a 3 órás végtagi hűtött és nem hűtött ischaemiát és reperfuziót követően* vizsgáltuk a létrejövő lokális és szisztémás haematológiai, haemorheológiai és haemostaseológiai változásokat, intraoperatív mikrokeringési- és szöveti nyomásméréssel, szövettani vizsgálatokkal kiegészítve.

A patkányokon végzett kísérletben a Pentobarbital anaesthesia általános hatásain túl a végtagi ischaemia-reperfusio szisztémás hemodinamikai és sav-bázis eltéréseket idézett elő a reperfusio első órájában, a pH értékekben jelentős arterio-venosus különbségeket mutatva. A megváltozott paraméterek helyreállításához a reperfusio első órája nem volt elegendő.

A keverék kutyákon végzett kísérletben a három órás ischaemia és az azt követő reperfusio szignifikáns és jelző értékű változásokat idézett elő számos haemorheológiai és haemostaseológiai paraméterben. A kirekesztett végtagban lévő vér rheológiailag jelentősen rosszabb minőségű volt a szisztémás keringésben lévő vérnél. A reperfusio kezdetén, a kirekesztett végtagban lévő vér beáramlásával a változások egy része megfigyelhető maradt a szisztémás keringésben is. Az első három posztoperatív napon jelző értékű változásokat mutatott a vörösvérsejt deformabilitás és az aktivált parciális thromboplastin idő, a nem laboratóriumi paraméterek közül a lábszár elülső izomrekeszében intraoperatíván mért szöveti nyomás. Ezek a paraméterek változásuk mértékében is szignifikáns különbséget mutattak a hűtött és nem-hűtött ischaemia-reperfusio között, és ebben modellben alkalmasnak bizonyultak a változások általános elkülönítésére és követhetőségére.

Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a nem kontrollált, sokszor csak empirikusan alkalmazott lokális hűtés nagyobb figyelmet és körültekintést igényel, hiszen fokozhatja az ischaemia-reperfusio által okozott károsodásokat, a jelző értékű haemorheológiai és haemostaseológiai változások mértékét. Így a nem optimálisan kivitelezett hűtés a komplex pathophysiologiai történések, valamint az aktuális klinikai állapot fényében jelentősen bronthatja a kimenetelt, replantációk esetén a szövetek túlélésének az esélyét.

## SUMMARY

Limb amputation and ischemia-reperfusion (I/R) of trauma origin means serious challenge in the clinical practice, furthermore limited number of laboratory parameters are known and used, which may help to follow-up the changes and value the prognosis. It is mostly true when the ambiguous effects of preventive cooling influence the clinical outcome.

In order to answer the raised questions, even partially, two animal experimental model have been worked out: (I) On rats hemodynamic and acid-base alterations have been investigated after 2-hour ischemia in the first hour of the reperfusion, in the respect of arterio-venous differences, too. (II) In a canine model after prolonged cooled and non-cooled 3-hour ischemia and the following reperfusion local and systemic hematological, hemorheological and hemostaseological alterations have been investigated, furthermore, intraoperative micorcirculatory tests and tissue pressure monitoring, and later histological examinations have been performed.

In the rat model, besides the general effects of the pentobarbital anesthesia, hind limb ischemia-reperfusion resulted in systemic hemodynamical and acid-base changes in the first hour of the reperfusion, showing significant arterio-venous differences in pH values. For the restitution of changed parameters the first hour of the reperfusion was not enough.

In the canine model the 3-hour ischemia and the following reperfusion resulted in significant and indicative changes in several hemorheological and hemostaseological parameters. Rheological properties of the blood -excluded in the ischemic limb- were significantly worse than of the blood in systemic circulation. At the beginning of the reperfusion the pathologic changes have been also observed in the systemic circulation. Impairing of red blood cell deformability and activated partial thromboplastin time on the 1<sup>st</sup> – 3<sup>rd</sup> postoperative days showed changes with indicative force for ischemia-reperfusion injury, as well as the intraoperatively measured tissue pressure in the anterior shin compartment. These parameters showed more prominent changes in the case of cooling, and these alterations seem to be applicable for determining and following-up the changes caused by ischemia-reperfusion, being with or without cooling.

According to the results it is suggested that the uncontrolled and only empirically used in situ cooling requires more vigilance, though, it may enlarge the indicative alterations of hemorheological and hemostaseological parameters caused by ischemia-reperfusion. In the light of the complex pathophysiological alterations and the actual clinical state, all of these may strongly influence the outcome – in respect of replantations, the viability of the tissues.

## 7. IRODALOMJEGYZÉK

### 7.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Adiseshiah M., Round J.M., Jones D.A. Reperfusion injury in skeletal muscle: a prospective study in patients with acute limb ischaemia and claudicants treated by revascularization. *Br. J. Surg.* 1992;79:1026-1029.
2. Allen D.M., Chen L.E., Seaber A.V., Urbaniak J.R. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin. Orthop.* 1995;314:122-133.
3. Ames A., Wright R.L., Kowada M., Thurston J.M., Majno G. Cerebral ischemia – the no reflow phenomenon. *Am. J. Pathol.* 1968;52:437-453.
4. Anaya-Prado R., Toledo-Pereyra L.H., Lentsch A.B., Ward P.A. Ischemia/reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 2002;105:248-258.
5. Arató E., Kollár L., Kürthy M., Jancsó G., Róth E., Merkli H., Pál E., Litter I. Az alsó végtagi revaszkularizációs szindrómáról. *Érbetegségek* 2004;11:115-121.
6. Arató E., Kürthy M., Jancsó G., Kasza G., Rozsos I., Merkli H., Pál E., Kollár L., Róth E. The revascularization syndrome of the lower limbs. *Perfusion* 2005;5:168-176.
7. Arató E., Kürthy M., Jancsó G., Sínay L., Kasza G., Verzár Zs., Benkő L., Cserepes B., Kollár L., Róth E. Alsóvégtagi revaszkularizációs műtéteket követő oxidatív stressz vizsgálata. *Magyar Sebészet* 2006;58:50-57.
8. Armand R., Hess JR. Treating coagulopathy in trauma patients. *Transfus. Med. Rev.* 2003;17:223-231.
9. Arumugam T.V., Magnus T., Woodruff T.M., Proctor L.M., Shiels I.A., Taylor S.M. Complement mediators in ischemia-reperfusion injury. *Clin. Chim. Acta* 2006;374:33-45.
10. Arumugam T.V., Shiels I.A., Woodruff T.M., Granger D.N., Taylor S.M. The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *Shock* 2004;21:401-409.
11. Barbee J.H. The effect of temperature on the relative viscosity of human blood. *Biorheology* 1973;10:1-5.
12. Baskurt O.K., Meiselman H.J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin. Thromb. Hemost.* 2003;29:435-450.
13. Baskurt O.K., Temiz A., Meiselman H.J. Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Rad. Biol. Med.* 1998;24:102-110.
14. Bencze B., Szokoly M. Sérültellátás. In: Göbl G. (szerk.): *Oxiológia. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest* 2001. pp. 501-509.
15. Bernát S.I., Bogár L., Csornai M., Imre S., Juricskay I., Kollár L., Novák Z., Pécsvárady Zs., Pongrácz E., Rozsos I., Tóth K. Módszertani útmutató a haemorheológiai mérések végzéséhez. *Érbetegségek* 2005; suppl 1: 27-33.
16. Blaisdell F.W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc. Surg.* 2002;10:620-630.
17. Bogár L. Az emberi vörsejtek filtrációs sajátosságai. Kandidátusi értekezés, Pécs, 1988.
18. Bogár L. Diagnosztika. In: Bernát S. I., Pongrácz E. (eds.): *A klinikai haemorheologia alapjai. Kornétás Kiadó, Budapest*, 1999, pp. 33-50.
19. Bor-Kucukatay M., Wenby R.B., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003;284:H1577-H1584.
20. Boros M., Takaichi S., Hatanaka K. Ischemic time-dependent microvascular changes and reperfusion injury in the rat small intestine. *J. Surg. Res.* 1995;59:311-320.
21. Bovenzi M., Giansante C., Fiorito A., Calabrese S. Relation of haemostatic function, neurovascular impairment, and vibration exposure in workers with different stages of vibration induced white finger. *Br. J. Int. Med.* 1985;42:253-259.
22. Brandao M.L., Roselino J.E.S., Piccinato C.E., Cherri J. Mitochondrial alterations in skeletal muscle submitted to total ischemia. *J. Surg. Res.* 2003;110:235-240.
23. Brun J. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2002;26:63-79.

24. Buttrum S.M., Nash G.B., Hatton R. Changes in neutrophil rheology after acute ischemia and reperfusion in the rat hindlimb. *J. Lab. Clin. Med.* 1996;128:506-514.
25. Bywaters E.G.L., Beall J. Crush injuries and renal function. *Br. Med. J.* 1941;1:427-432.
26. Cambria R.A., Anderson R.J., Dikdan G., Teehan E.P., Hernandez-Maldonado J.J., Hobson R.W. Leukocyte activation in ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle. *J. Surg. Res.* 1991;51:13-17.
27. Chandrasekar B., Smith J.B., Freeman G.L. Ischemia-reperfusion of rat myocardium activates nuclear factor- $\kappa$ B and induces neutrophil infiltration via lipopolysaccharide-induced CXC chemokine. *Circulation* 2001;103:2296-2302.
28. Chaopricha W., Chen L.E., Seaber A.V., Bossen E., Urbaniak J.R. Micro-anastomosis of 0.3-0.4 mm vessels after cold ischemia using a rat model of toe-to-thumb transplantation. *Microsurgery* 1993;14:619-623.
29. Chen R.S., Chien S. Hemodynamic functions and blood flow viscosity in surface hypothermia. *Am. J. Physiol.* 1978;235:H136-H143.
30. Chien S., Li S., Shyy Y.J. Effects of mechanical forces on signal transduction and gene expression in endothelial cells. *Hypertension* 1998;31:162-169.
31. Colbourne F., Corbett D., Zhao Z., Yang J., Buchan A.M. Prolonged but delayed postischemic hypothermia: a long-term outcome study in the rat middle cerebral artery occlusion model. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2000;20:1702-1708.
32. Corbucci G.G., Chelo C., Salvi N., Velluti C., Letieri B., Grella E. Biochemical and metabolic aspects of oxyradical pathology in the hypoxic-ischemic reperfused human skeletal muscle tissue. Clinical markers and therapeutic approach. *Minerva Anesthesiol.* 2000;66:855-860.
33. Cunha M.S., da Silva J.C.F., Nakamoto H.A., Ferreira M.C. Study of warm ischemia followed by reperfusion on a lower limb model in rats: effect of allopurinol and streptokinase. *Clinics* 2005;60:213-220.
34. Dammers R., Wehrens X.H.T., oude Egbrink M.G.A., Slaaf D.W., Kurvers H.A.J.M., Ramsay G. Microcirculatory effects of experimental acute limb ischaemia-reperfusion. *Br. J. Surg.* 2000;88:816-824.
35. Dayton C., Yamaguchi T., Warren A., Korthuis R.J. Ischemic preconditioning prevents postischemic arteriolar, capillary and postcapillary venular dysfunction: Signaling pathways mediating the adaptive metamorphosis to a protected phenotype in preconditioned endothelium. *Microcirculation* 2002;9:73-89.
36. Defraigne J.O., Pincemail J. Local and systemic consequences of severe ischaemia and reperfusion of the skeletal muscle. *Physiopathology and prevention. Acta Chir. Belg.* 1998;98:176-186.
37. Deindl E., Buschmann I., Hoefler I.E., Podzuweit T., Boengler K., Vogel S., van Royen N., Fernandez B., Schaper W. Role of ischemia and of hypoxia-inducible genes in arteriogenesis after femoral artery occlusion in the rabbit. *Circ. Res.* 2001;89:799-786.
38. Dormandy J., Flute P., Mátrai Á., Bogár L., Mikita J. The new St. George's blood filterometer. *Clin. Hemorheol.* 1985;5:975-983.
39. Dormandy J.A. Significance of hemorheology in the management of the ischemic limb. *World J. Surg.* 1983;7:319-325.
40. Duran W.N., Takenaka H., Hobson R.W. Microvascular pathophysiology of skeletal muscle ischemia-reperfusion. *Semin. Vasc. Surg.* 1998;11:203-214.
41. Eckert P., Schnackerz K. Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann. Plast. Surg.* 1991;26:77-84.
42. Edorgan D., Omeroglu S., Sarban S., Atik O.S. Prevention of oxidative stress due to tourniquet application. Analysis of the effects of local hypothermia and systemic allopurinol administration. *Acta Orthop. Belg.* 1999;65:164-169.
43. Edrees W.K., Lau L.L., Young I.S., Smye M.G., Gardiner K.R., Lee B., Hannon R.J., Soong CV. The effect of lower limb ischaemia-reperfusion on intestinal permeability and the systemic inflammatory response. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2003;25:330-335.
44. Farkas K. Lézer Doppler-áramlásmérés: Új módszer a mikrocirkuláció vizsgálatára. *Lege Artis Medicinae* 1998;8:4-12.

45. Fehér J., Vereckei A. Szabadgyök-reakciók jelentősége az orvostudományban. Biogal Gyógyszergyár, 1985.
46. Feinglass J., McDermott M.M., Foroohar M., Pearce W.H. Gender differences in interventional management of peripheral vascular disease: evidence from a blood flow laboratory population. *Ann. Vasc. Surg.* 1994;8:343-349.
47. Ferencz A., Szántó Z., Borsiczky B., Kiss K., Kalmár-Nagy K., Szeberényi J., Horváth Ö.P., Róth E. The effects of preconditioning on the oxidative stress in small-bowel autotransplantation. *Surgery* 2002;132:877-884.
48. Fitzal F., DeLano F.A., Young C., Schmid-Schonbein G.W. Early capillary no-reflow during low-flow reperfusion after hind limb ischemia in the rat. *Ann. Plast. Surg.* 2002;49:170-180.
49. Forconi S., Guerrini M., Ravelli P., Rossi C., Ferrozzi C., Pecchi S., Biasi G. Arterial and venous blood viscosity in ischemic lower limbs in patients affected by peripheral obliterative arterial disease. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)* 1979;20:379-384.
50. Franke N., Endrich B., Laubenthal H., Peter K., Messmer K. The effect of pentobarbital on the microcirculation of skeletal muscles and the subcutis. An animal experimental study. *Anästhes. Intensivther. Notfallmed.* 1982;17:11-14.
51. Gaál T. (ed.): Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. Sík Kiadó, Budapest, 1999.
52. Gorove L., Szegeczky D., Szokoly M. Polytraumatizáltak és súlyos sérültek helyszíni ellátása. In: Göbl G. (szerk.): *Oxiológia. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest 2001.* pp.511-526.
53. Grace P.A. Ischaemia-reperfusion injury. *Br. J. Surg.* 1994;81:637-647.
54. Graffigna A.C., Nollo G., Pederzoli C., Ferrari P., Widesott L., Antolini R. Continuous monitoring of myocardial acid-base status during intermittent warm blood cardioplegia. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2002;21:995-1001.
55. Granger D.N., Rutili G., McCord J.M. Superoxide radicals in feline intestinal ischaemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-29.
56. Griffith T.M. Endothelial control of vascular tone by nitric oxide and gap junctions: a haemodynamic perspective. *Biorheology* 2002;39:307-318.
57. Grisotto P.C., dos Santos A.C., Coutinho-Netto J., Cherri G., Piccinato C.E. Indicators of oxidative injury and alterations of the cell membrane in the skeletal muscle of rats submitted to ischemia and reperfusion. *J. Surg. Res.* 2000;92:1-6.
58. Haimovici H. Arterial embolism with massive ischaemic myopathy and myoglobinuria. *Surgery* 1960;47:739-747.
59. Haithcock B.E., Shepard A.D., Raman S.B.K., Conrad M.F., Pandurangi K., Fanous N.H. Activation of fibrinolytic pathways is associated with duration of supraceliac aortic cross-clamping. *J. Vasc. Surg.* 2004;40:325-333.
60. Hamel A.L., Moe J.H. Effect of total ischemia on hind limbs of dogs subjected to hypothermia. *Surgery* 1964;55:274-280.
61. Hardeman M.R., Goedhart P.T., Dobbe J.G.G., Lettinga K.P. Laser-assisted optical rotational cell analyser (L.O.R.C.A.); I. A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin. Hemorheol.* 1994;14:605-618.
62. Hardy G Ifj.. Végtagok érsérüléssel kombinált traumáinak komplex ellátása. 10 év (1991-2000) eseteinek feldolgozása. TDK Pályamunka-diplomamunka, SOTE 2002.
63. Hardy S.C., Homer-Vanniasinkam S., Gough M.J. Effect of free radical scavenging on skeletal muscle blood flow during postischaemic reperfusion. *Br. J. Surg.* 1992;79:1289-1292.
64. Harkin D.W., Barros D'Sa A.A.B., Yassin M.M.I., Young I.S., McEnemy J., McMaster D., McCaigue M.D., Halliday M.I., Parks T.G. Reperfusion injury is greater with delayed restoration of venous outflow in concurrent arterial and venous limb injury. *Br. J. Surg.* 2000;87:734-741.
65. Hartung K.J., Jung K., Minda R., Kuncz W. Mitochondrial respiratory function as indicator of the ischemic injury of the rat kidney. *Biophys. Biochim. Acta* 1985;44:1435-1443.
66. Hayashi M., Hirose H., Sasaki E., Senga S., Murakawa S., Mori Y., Furusawa Y., Banodo M. Evaluation of ischemic damage in the skeletal muscle with the use of electrical properties. *J. Surg. Res.* 1998;80:266-271.
67. Hayhurst J.W., O'Brien B.M., Ishida H., Baxter T.J. Experimental digital replantation after prolonged cooling. *Hand* 1974;6:134-141.

68. Hebel R., Stromberg M.W. Anatomy and embryology of the laboratory rat. Wörthsee, BioMed Verlag, 1986.
69. Helfet D.L., Howey T., Sanders R., Johansen K. Limb salvage versus amputation. Preliminary results of the Mangled Extremity Severity Score. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1990;256:80-86.
70. Holloway G.A., Watkins D.W. Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. *J. Invest. Dermatol.* 1977; 69:306-309.
71. Holmberg A., Sandhagen B., Bergqvist D. Hemorheologic variables in critical limb ischemia before and after infrainguinal reconstruction. *J. Vasc. Surg.* 2000;31:691-695.
72. Hvaal K., Svindland A., Nordsletten L., Skjeldal S. No increasing injury during early reperfusion of skeletal muscle. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1996;56:11-16.
73. Ikemoto Y., Kobayashi H., Usui M., Ischii S. Changes in serum myoglobin levels caused by tourniquet ischemia under normothermic and hypothermic conditions. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1988;23:296-302.
74. Imre S., Csornai M., Balázs M. High sensitivity to autoxidation in neonatal calf erythrocytes: possible mechanism of accelerated cell aging. *Mech. Ageing Dev.* 2001;122:69-76.
75. Iwahori Y., Ishiguro N., Shimizu T., Kondo S., Yabe Y., Oshima T., Iwata H., Sendo F. Selective neutrophil depletion with monoclonal antibodies attenuates ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle. *J. Reconstr. Microsurg.* 1998;14:109-116.
76. Jetha K.A., Egginton S., Nash G.B. Increased resistance of neutrophils to deformation upon cooling and rate of recovery on rewarming. *Biorheology* 2003;40:567-576.
77. Johansen K., Daines M., Howey T., Helfet D., Hansen S.T. Jr. Objective criteria accurately predict amputation following lower extremity trauma. *J. Trauma* 1990;30:568-573.
78. Kabaroudis A., Gerassimidis T., Karamanos D., Papaziogas B., Antonopoulos V., Sakantamis A. Metabolic alterations of skeletal muscle tissue after prolonged acute ischemia and reperfusion. *J. Inv. Surg.* 2003;16:219-228.
79. Kayar E., Mat F., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology* 2001;38:405-414.
80. Kirschenbaum L.A., Aziz M., Astiz M.E., Saha D.C., Rackow E.C. Influence of rheologic changes and platelet-neutrophil interactions on cell filtration in sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2000;161:1602-1607.
81. Kksal C., Ercan M., Bozkurt A.K. Hemorheological variables in critical limb ischemia. *Int. Angiol.* 2002;21:355-359.
82. Kleinert H.E., Kleinert J.M., McGabe S.J., Berger A.C. Replantation. *Clinical Symposia*, Vol. 42. Nr.2., CIBA-GEIGY Co., New Jersey, 1991. pp 1-34.
83. Koppensteiner R. Blood rheology in emergency medicine. *Semin. Thromb. Hemost.* 1996;22:89-91.
84. Kugimiya T., Shirabe J., Kusaba E., Hadama T., Kaku K. Myoneuropathic-metabolic syndrome as a complication of cardiopulmonary bypass. *Jpn. J. Surg.* 1983;13:431-437.
85. Kupinski A.M., Bock D.E., Bell D.R. Skeletal muscle ischemia-reperfusion causes transitory increase in microvascular protein permeability. *Am. J. Physiol.* 1997;273:H303-H309.
86. Kupinski A.M., Shah D.M., Bell D.R. Transvascular albumin flux in rabbit hind limb after tourniquet ischemia. *Am. J. Physiol.* 1993;264:H901-H908.
87. Labrador V., Chen K.D., Li Y.S., Muller S., Stoltz J.F., Chien S.. Interactions of mechanotransduction pathways. *Biorheology* 2003;40:47-52.
88. Lai E.W., Toledo-Pereyra L., Walsh J., Lopez-Neblina F., Anaya-Prado R. The role of MAP kinases in trauma and ischemia-reperfusion. *J. Invest. Surg.* 2004;17:45-53.
89. László Gy., Szokoly M. Compartment syndromák és oxyológiai vonatkozásai. *Magyar Mentésügy* 1985;5:132-135.
90. Lecklin T., Egginton S., Nash G.B. Effect of temperature on the resistance of individual red blood cells to flow through capillary-sized apertures. *Pflugers Arch.* 1996;432:753-759.
91. Lowe G.D., Fowkes F.G., Dawes J., Donnan P.T., Lennie S.E., Housley E. Blood viscosity, fibrinogen, and activation of coagulation and leukocytes in peripheral arterial disease and the normal population in the Edinburgh Artery Study. *Circulation* 1993;87:1915-1920.
92. Lumley J.S.P., Green C.J., Lear P., Angell-James J.E. (eds) *Essentials of experimental surgery*. Butterworths, Science and Technology Books, St. Luis, 1997. pp 30.

93. Martini W.Z., Pusateri A.E., Uscilowicz J.M., Delgado A.V., Holcomb J.B. Independent contributions of hypothermia and acidosis to coagulopathy in swine. *J. Trauma* 2005;58:1002-1009.
94. Massberg S., Enders G., de Melo Matos F.C., Tomic L.I.D., Leiderer R., Eisenmenger S., Messmer K., Krombach F. Fibrinogen deposition at the postischemic vessel wall promotes platelet adhesion during ischemia-reperfusion in vivo. *Blood* 1999;94:3829-3838.
95. Mátrai Á., Kollár L. Importance of the preoperative haemoglobin concentration in arterial surgery. *Eur. Surg. Res.* 1987;19:1-5.
96. Mátrai Á., Whittington R.B., Ernst E. A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin. Hemorheol.* 1987;7:261-265.
97. McCord J.M. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 1985;312:159-163.
98. McCutcheon C., Hennessy B. Systemic reperfusion injury during arm replantation requiring intraoperative amputation. *Anaesth. Intensive Care.* 2002;30:71-73.
99. Menger M.D., Barker J.H., Messmer K. Capillary blood perfusion during postischemic reperfusion in striated muscle. *Plast. Reconstr. Surg.* 1992;89:1104-1114.
100. Menger M.D., Steiner D., Messmer K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of 'no-reflow'. *Am. J. Physiol.* 1992;263:H1892-H1900.
101. Mitrev Z., Beyersdorf F., Hallmann R., Poloczek Y., Ihnken K., Herold H., Unkelbach U., Zimmer G., Freisleben H.J., Satter P. Reperfusion injury in skeletal muscle: controlled limb reperfusion reduces local and systemic complications after prolonged ischaemia. *Cardiovasc. Surg.* 1994;2:737-748.
102. Mitsui Y., Schmelzer J.D., Zollman P.J., Kihara M., Low P.A. Hypothermic neuroprotection of peripheral nerve of rats from ischemia-reperfusion injury. *Brain* 1999;122:161-169.
103. Mombouli J.V., Vanhoutte P.M. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999;31:61-74.
104. Mondek P., Sefranek V., Tomka J. Pechan I., Silvanova E., Nosal R., Slysco R. Regional biochemical and hematologic changes in patients after revascularization of the lower extremities in ischemia of the extremities. *Rozhl. Chir.* 2002;81:265-270.
105. Moore C.D., Cardea J.A. Vascular changes in leg trauma. *South Med. J.* 1977;70:1285-1286.
106. Morgan R.F., Reisman N.R., Curtis R.M. Preservation of upper extremity devascularization and amputations for replantation. *Ann. Surg.* 1982;48:481-483.
107. Nagao A., Ishii T., Takechi H. Study of blood cell counting of mouse, rat and rabbit using semiautomated hematology instrument system. *Sysmex Journal* 1987;10:236-243.
108. Nagy D. Morphologiai megfigyelések kísérletes amputációs állatmodellen a hőmérséklet függvényében. TDK Pályamunka-diplomamunka, DEOEC 2003.
109. Nakahara M. Tourniquet effects on muscle oxygen tension in dog limbs. Experiments with cooling and breathing intervals. *Acta Orthop. Scand.* 1984;55:576-578.
110. Nanobashvili J., Neumayer C., Fuegl A., Sporn E., Prager M., Polterauer P., Malinski T., Huk I. Ischaemia/reperfusion injury of skeletal muscle: mechanism, morphology, treatment strategies, and clinical applications. *Eur. Surg.* 2002;34:83-89.
111. Németh N., Lesznyák T., Szokoly M., Furka I., Mikó I. Allopurinol prevents erythrocyte deformability impairing but not the hematological alterations after limb ischemia-reperfusion in rats. *J. Invest. Surg.* 2006;19:47-56.
112. Németh N. Haemorheologiai faktorok és a microcirculatio vizsgálata kísérletes végtagi ischaemia-reperfüziós modelleken. Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés, Debreceni Egyetem OEC, 2004.
113. Németh N., Ács G., Lesznyák T., Bráth E., Imre S., Urbán F., M. Menzel, Furka I., Mikó I. A vörösvérsejtek deformabilitásáról nyert mérési tapasztalatok laboratóriumi állatfajokon. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2004;126:225-230.
114. Németh N., Lesznyák T., Bráth E., Ács G., Nagy A., Pap-Szekeres J., Furka I., Mikó I. Changes in microcirculation after ischemic process in rat skeletal muscle. *Microsurgery* 2003;23:419-423.

115. Németh N., Soukup J., Menzel M., Henze D., Clausen T., Rieger A., Holz C., Scharf A., Hanisch F., Furka I., Mikó I. Cerebral hyper- and hypoperfusion and its local and systemic hemorheological effects in a porcine model. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2006;35:59-65.
116. Nielsen V.G., Geary B.T. Coagulopathy mediated by hepatoenteric ischemia-reperfusion in rabbits: Role of xanthine oxidase. *Transplantation* 2002;74:1181-1183.
117. Novák Z. Az oxidatív stressz hatása a haemorheológiai paraméterekre, In: Bernát S.I., Pongrácz E. (eds): *A klinikai haemorheológia alapjai*, Kornétás Kiadó, Budapest, 1999, pp. 26-27.
118. Obeid A.N., Barnett N.J., Dougherty G., Ward G. A critical review of laser Doppler Flowmetry. *J. Med. Eng. Technol.* 1990;14:178-181.
119. Olivas T.P., Saylor T.F., Wong H.P., Stephenson L.L., Zamboni W.A. Timing of microcirculatory injury from ischemia reperfusion. *Plast. Reconstr. Surg.* 2001;107:785-788.
120. Osterman A.L., Heppenstall R.B., Sapega A.A., Katz M., Chance B., Sokolow D. Muscle ischemia and hypothermia: A bioenergetic study using <sup>31</sup>phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Trauma* 1984;24:811-816, discussion: 816-817.
121. Ouriel K., Veith F.J. Acute lower limb ischemia: determinants of outcome. *Surgery* 1998;124:336-342.
122. Pipp F., Boehm S., Cai W.J., Adili F., Ziegler B., Karanovic G., Ritter R., Balzer J., Scheler C., Schaper W., Schmitz-Rixen T. Elevated fluid shear stress enhances postocclusive collateral artery growth and gene expression in the pig hind limb. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004;24:1664-1668.
123. Presta M., Ragnotti G. Quantification of damage to striate muscle after normothermic or hypothermic ischemia. *Clin. Chem.* 1981;27:297-302.
124. Quinones-Baldrich W.J. The role of fibrinolysis during reperfusion of ischemic skeletal muscle. *Microcirc. Endothelium Lymphatics* 1989;52:99-314.
125. Rácz B.I., Sarkadi L., Hamar J. A vázizom károsodása ischaemiát követő reperfúzióban. *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet* 1995;4:329-336.
126. Rácz I., Illyés G., Sarkadi L., Hamar J. The functional and morphological damage of ischemic reperfused skeletal muscle. *Eur. Surg. Res.* 1997;29:254-263.
127. Reus W.F., Schlenker J.D. Comparison of blood flow after warm and cool ischemia in island flaps: latissimus dorsi myocutaneous and epigastric flaps in the dog. *Ann. Plast. Surg.* 1983;10:130-134.
128. Róth E.: Oxygen free radicals and their clinical implications. *Acta Chir. Hung.* 1997;36:302-305.
129. Rozsos I., Kollár L., Kiss T., Tanto Z., Molnár L. Data on possibilities of rehabilitation of lower limb amputates. *Orv. Hetil.* 1991;132:2045-2048.
130. Rudigier J.: Amputationsverletzungen. In: Rudigier J.: *Kurzgefäßte Handchirurgie, Klinik und Praxis*. Hippocrates Verlag Stuttgart, 1997. pp 243-263.
131. Sako H., Hadama T., Miyamoto S, Anai H., Wada T., Iwata E., Hamamoto H., Tanaka H., Morita M. Limb ischemia and reperfusion during abdominal aortic aneurysm surgery. *Surg. Today* 2004;34:832-836.
132. Salzano R.P. Jr., Ellison L.H., Altonji P.F., Richter J., Deckers P.J. Regional deep hypothermia of the spinal cord protects against ischemic injury during thoracic aortic cross clamping. *Ann. Thorac. Surg.* 1994;57:65-70.
133. Sapega A.A., Heppenstall R.B., Sokolow D.P., Graham T.J., Maris J.M., Ghosh A.K., Chance B., Osterman A.L. The bioenergetics of preservation of limbs before replantation. The rationale for intermediate hypothermia. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1988;70:1500-1513.
134. Savin E., Kedra A.W., Oliva I., Bonnin P., Martineaud J.P. Comparison of humeral blood flow during rewarming and recooling of the hand in normal subjects or presenting Raynaud's phenomenon. *J. Mal. Vasc.* 1989;14:312-319.
135. Schreiber MA. Coagulopathy in the trauma patient. *Curr. Opin. Crit. Care.* 2005;11:590-597.
136. Seekamp A, Jochum M, Ziegler M, van Griensven M, Martin M, Regel G. Cytokines and adhesion molecules in elective and accidental trauma-related ischemia/reperfusion. *J. Trauma* 1998;44:874-882.

137. Seekamp A., van Griensven M., Hildebrandt F., Wahlers T., Tscherne H. Adenosine-triphosphate in trauma-related and elective hypothermia. *J. Trauma* 1999;47:673-683.
138. Shankar V.K., Chaudhury S.R., Uthappa M.C., Handa A., Hands L.J. Changes in blood coagulability as it traverses the ischemic limbs. *J. Vasc. Surg.* 2004;39:1033-1042.
139. Sise M.J., Shackford S.R. Definitive care phase: Vascular injuries. In: Greenfield L.J., Mulholland M.W., Oldham K.T., Zelenock G.B., Lillemoe K.D. (eds.): *Surgery. Scientific principles and practice.* Lippincott Williams&Wilkins, 2001. pp. 362-363.
140. Sjoström M., Neglen P., Friden J., Eklof B. Human skeletal muscle metabolism and morphology after temporary complete ischemia. *Eur. J. Clin. Invest.* 1982;12:69-79.
141. Stern M.D. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 1975;254:56-58.
142. Sternbergh W.C., Adelman B. The temporal relationship between endothelial cell dysfunction and skeletal muscle damage after ischemia and reperfusion. *J. Vasc. Surg.* 1992;16:30-39.
143. Stoltz J.F. Clinical hemorheology: Past, present, perspectives. *Clin. Hemorheol.* 1996;16:87-104.
144. Stuart J. International Committee for Standardization in Haematology: Guidelines for measurement of blood viscosity and erythrocyte deformability. *Clin. Hemorheol.* 1986;6:439-454.
145. Szokoly M. A Trauma score. *Magyar Mentésügy* 2000;20:35-36.
146. Szokoly M. Az amputátumok szállítása. *Magyar Mentésügy* 2000;20:13-14.
147. Szokoly M. Katasztrófákról általában. Első intézkedések a katasztrófa helyszínén. *Magyar Alapellátási Archívum (Archives of Hungarian Primary Health Care)* 2000;3:229-237.
148. Szokoly M., Gorove L. A súlyos sérültek praehospitalis ellátása. In: Balogh S., Morva L. (szerk): *A Magyar Általános Orvosok Tudományos Egyesülete – Alapszintű Sürgősségi Ellátási Munkacsoport. 25 éves jubileumi könyv.* Aftalion, Szeged, 2003. pp. 207-262.
149. Tömböl T., Pataki G., Németh A., Hamar J. Ultrastructural changes of the neuromuscular junction in reperfusion injury. *Cells Tissues Organs*, 2002;170:139-150.
150. Tóth K., Juricskay I. Rheologiai alapfogalmak. In: Bernát S. I., Pongrácz E. (eds): *A klinikai haemorheologia alapjai.* Kornétás Kiadó, Budapest, 1999, pp. 13-24.
151. Tsuchida T., Kato T., Yamaga M., Ikebe K., Oniki Y., Irie H., Takagi K. The effect of perfusion with UW solution on the skeletal muscle and vascular endothelial exocrine function in rat hindlimbs. *J. Surg. Res.* 2003;110:266-271.
152. Tsuchida T., Kato T., Yamaga M., Ikebe K., Oniki Y., Irie H., Takagi K. Effect of perfusion during ischemia on skeletal muscle. *J. Surg. Res.* 2001;101:238-241.
153. Tsuei B.J., Kearney P.A. Hypothermia in the trauma patient. *Injury* 2004;35:7-15.
154. Turchányi B., Rácz I., Hamar J., Vendégh Zs., Tóth B. Érző idegek szerepe a reperfüziós sérülést követő szöveti károsodásban. *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet* 2001;44:3-8.
155. Turchányi B., Tóth B., Rácz I., Vendégh Z., Fűrész J., Hamar J. Ischemia reperfusion injury of skeletal muscle after selective deafferentation. *Physiol. Res.* 2005;54:25-31.
156. Usui M., Ishii S., Muramatsu I., Takahata N. An experimental study on "replantation toxemia". The effect of hypothermia on an amputate limb. *J. Hand Surg. (Am.)* 1978;3:589-596.
157. Weed R.I., La Celle P.L., Merrill E.W. Metabolic dependence of red blood cell deformability. *J. Clin. Invest.* 1969;48:795-809.
158. Weinmann M. Compartment syndrome. *Emerg. Med. Serv.* 2003;32:36-36.
159. Welter H.F., Kettmann R., Grothe A. Acute ischemia of the extremities. As critical as a myocardial infarct. *MMW. Fortschr. Med.* 2002;144:54-56.
160. Wiles C.M., Edwards R.H. The effect of temperature, ischaemia and contractile activity on the relaxation rate of human muscle. *Clin. Physiol.* 1982;2:485-497.
161. Wilson Y.T., Lepore D.A., Riccio M., Hickey M.J., Penington A.J., Hayward P.G., Hurley J.V., Morrison W.A. Mild hypothermia protects against ischaemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle. *Br. J. Plast. Surg.* 1997;50:343-348.
162. Wolf K., Hamar J., Höcherl E., Pfister C. Development and reactivity of the microcirculation in the granulation tissue after distance osteosynthesis. An experimental analysis of laser

- Doppler flowmetry under the influence of CGRP. *Appl. Cardiopulm. Pathophysiol.* 2000;9:333-342.
163. Woodburn K.R., Rumley A., Lowe G.D., Pollock J.G. Fibrinogen and markers of fibrinolysis and endothelial damage following resolution of critical limb ischemia. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 1995;10:272-278.
  164. Wright J.G., Araki C.T., Belkin M., Hobson R.W. Postischemic hypothermia diminishes skeletal muscle reperfusion edema. *J. Surg. Res.* 1989;47:389-396.
  165. Yassin M.M., Harkin D.W., Barros D'Sa A.A., Halliday M.I., Rowlands B.J. Lower limb ischemia-reperfusion injury triggers a systemic inflammatory response and multiple organ dysfunction. *World J. Surg.* 2002;26:115-121.
  166. Yedgar S., Koshkaryev A., Barshtein G. The red blood cell in vascular occlusion. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2002;32:263-268.

## 7.2. Az értekezés alapjául szolgáló *in extenso* közlemények és könyvfejezetek

1. László Gy., **Szokoly M.** Compartment syndromák és oxyológiai vonatkozásai. Magyar Mentésügy 1985;5:132-135.
2. **Szokoly M.** Kézsebészeti alapismeretek. Magyar Alapellátási Archívum (Archives of Hungarian Primary Health Care) 1999;2:379-384.
3. **Szokoly M.** Katasztrófákról általában. Első intézkedések a katasztrófa helyszínén. Magyar Alapellátási Archívum (Archives of Hungarian Primary Health Care) 2000;3:229-237.
4. Bencze B., **Szokoly M.** Sérültellátás. In: Göbl G. (szerk.): Oxiológia. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest 2001. pp. 501-509.
5. **Szokoly M.**, Gorove L. A súlyos sérültek praehospitalis ellátása. In: Balogh S., Morva L. (szerk.): A Magyar Általános Orvosok Tudományos Egyesülete – Alapszintű Sürgősségi Ellátási Munkacsoport. 25 éves jubileumi könyv. Aftalion, Szeged, 2003. pp. 207-262.
6. **Szokoly M.**, László Gy. A kompressziós tűződrót-rendszer. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet 2002;45:227-232.
7. Németh N., **Szokoly M.**, Ács G., Bráth E., Lesznyák T., Furka I., Mikó I. Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2004;30:133-145.  
**IF:0,630**
8. **Szokoly M.**, Németh N., Bráth E., Ács G., Hamar J., Mikó I., Furka I. Kísérletes „funkcionális amputációs modell” lehetősége az ischaemia-reperfusio tükrében. Magy. Seb. 2005;58:138-143.
9. **Szokoly M.**, Németh N., Hamar J., Furka I., Mikó I. Early systemic effects of hind limb ischemia-reperfusion on hemodynamics and acid-base balance in the rat. Microsurgery 2006;26:585-589.  
**IF: 0,757**

## 7.3. Az értekezés témájával összefüggő egyéb *in extenso* közlemények

1. Nemes Gy., **Szokoly M.** A közlekedési balesetek körülményeinek és biomechanikájának ismerete, mint fontos tényező a diagnosztikai hibák elkerülésében. Magyar Mentésügy 1984;4:163-169.
2. **Szokoly M.** Az amputátumok szállítása. Magyar Mentésügy 2000;20:13-14.

3. Németh N., Lesznyák T., **Szokoly M.**, Bráth E., Pető K., Szabó Gy., Gulyás A., Kiss F., Imre S., Furka I., Mikó I. A haemorheológiai vizsgálatok jelentősége kísérletes végtagi ischaemia-reperfúziós károsodások kapcsán. *Magy. Seb.* 2005;58:144-147.
4. Németh N., Lesznyák T., **Szokoly M.**, Furka I., Mikó I. Allopurinol prevents erythrocyte deformability impairing but not the hematological alterations after limb ischemia-reperfusion in rats. *J. Invest. Surg.* 2006;19:47-56. **IF: 0,857**

#### **7.4. Egyéb *in extenso* közlemények**

1. László Gy., **Szokoly M.**, Belicza M., Göndöcs Zs. A végtagtörésekhez társuló perifériás keringési zavarok. *Magyar Mentésügy* 1989;9:61-64.
2. **Szokoly M.** Az oxológia kézsebészeti vonatkozásai. *Magyar Mentésügy* 1994;14:1-7.
3. Verebélyi T., **Szokoly M.** Hús évünk húsz percben. *Magyar Mentésügy* 1998;18:42-44.
4. **Szokoly M.** A radiocarpalis instabilitás utóvizsgálata, subtotálisan amputált kéz esetében. *Magyar Mentésügy* 1998;18:63-65.
5. **Szokoly M.** A Trauma score. *Magyar Mentésügy* 2000;20:35-36.
6. **Szokoly M.** A koponya és nyaki gerincsérültek helyszíni ellátása. *Magyar Alapellátási Archívum (Archives of Hungarian Primary Health Care)* 2002;5:139-145.
7. **Szokoly M.** Sebellátás az alapellátás gyakorlatában. *Magyar Alapellátási Archívum (Archives of Hungarian Primary Health Care)* 2002;5:177-185.

#### **7.5. Egyéb könyvfejezetek**

1. Gorove L., Szegeczky D., **Szokoly M.** Polytraumatizáltak és súlyos sérültek helyszíni ellátása. In: Göbl G. (szerk.): *Oxiológia*. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest 2001. pp.511-526.

***Megjelent in extenso közlemények impakt faktora összesen: 2,244***

## 8. TÁRGYSZAVAK

végtagi sérülések	injuries of extremities
amputatio	amputation
replantatio	replantation
revascularisatio	revascularisation
ischaemia-reperfusio	ischemia-reperfusion
lokális hűtés	local cooling
haemorheologia	hemorheology
vörösvérsejt deformabilitás	red blood cell deformability
sav-bázis egyensúly változásai	changes in acid-base balance

## 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Harminc éves orvosi pályafutásomat meghatározta első munkahelyem, ahol Dr. Monszpart László főorvos úr irányítása alatt végeztem az első műtéteimet. Alapossága és szigorú következetessége végigkíséri életemet.

A Mentőkórházban töltött évtizedek alatt Dr. László Gyula főorvos úrral számtalan revascularisatiós- és kézműtétet végeztünk. Magyarországon elsőként foglalkoztunk a compartment szindrómával és dolgoztunk ki műtéti megoldást annak kezelésére. Első tudományos előadásaim és publikációim az ő segítségével készültek. Műhelymunkánk eredményeként fejlesztettük ki a kompressziós tűződrót-rendszert. Segítőkész, baráti kapcsolatunk életre szóló hatást gyakorolt tevékenységemre.

Osztályvezető főorvosi kinevezésem után barátaim, kollégáim segítettek szakmai céljaim elérésében. Hálával gondolok Dr. Göbl Gáborra, Dr. Tury Peregrinre, Dr. Verebélyi Tiborra, Dr. Gorove Lászlóra, Dr. Szebeny Miklóusra és a többiekre. Dr. Gamal E. Mohamed barátom biztatása sokat jelentett számomra.

Különleges szerencsének tartom, hogy megismerhettem Prof. Dr. Furka Istvánt, aki lehetővé tette, hogy a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Sebészeti Műtéttani Tanszékén Ph.D. kutatásaimat elkezdjem. A hat év alatt atyai jóbarátként adott tanácsokat és ötleteket egy-egy kiforratlan elképzelésemhez.

Hasonlóan szeretetteljes bánásmódban részesített Prof. Dr. Mikó Irén. Kettejük irányítása alatt bontakozott ki a Ph.D. értekezés tárgyát képező gondolat- és kísérletsorozat. Ők tették lehetővé, hogy a kutatás mellett az oktatásba is bekapcsolódhassak.

Messzemenő készségéért és segítségéért külön hálával tartozom Dr. Németh Norbert adjunktus úrnak, akivel több hazai és külföldi kongresszuson ismertettük közös kutatásaink eredményeit. Az együtt végzett munka szorosra fűzte barátságunkat is.

Példamutató volt számomra Dr. Pető Katalin, Dr. Bráth Endre, Dr. Lesznyák Tamás, valamint Dr. Sefcsik István főállatorvos úr több mint kollegiális segítsége és barátsága.

Köszönettel tartozom a Sebészeti Műtéttani Tanszék összes dolgozójának, akik mindig segítőkész szeretettel támogattak.

Az Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet főigazgatója, Dr. Szita János elegendő időt biztosított számomra a kutatáshoz, a kísérletekhez és az oktatáshoz, amelyért ezúton is köszönetet mondok.

Hálás köszönettel és nagyrabecsüléssel gondolok Prof. Dr. Hamar Jánosra, aki az Intézet Kísérleti Laboratóriumában lehetővé tette a kisállat-kísérletek elvégzését, mely alapjául szolgálhatott néhány tudományos közleményemnek.

Ugyancsak köszönet illeti az Intézet kollektíváját, elsősorban Prof. Dr. Renner Antalt, szakmai támogatásáért és barátságáért, Dr. Pestessy József főorvos urat értékes útmutatásaiért.

Dr. Aradi Petra önzetlen baráti és technikai segítsége, jótanácsai nélkülözhetetlenek voltak számomra.

Külföldi és hazai kollaborációs partnereimet, akik segítsége sokat jelentett munkám elkészítésénél, szintén köszönet illeti.

Hálás szeretettel gondolok szüleimre, akiket korán elveszítettem. Családom megértő támogatása, türelme és állandó szeretete segített a Ph.D. értekezés elkészítésében és az ehhez vezető nehéz, de szép úton.

## **10. FÜGGELÉK**

**Az értekezés alapjául szolgáló megjelent közlemények másolata**