

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**ASPLENIÁS-HYPOSPLENIÁS ÁLLAPOTOK JELZÉSÉNEK LEHETŐSÉGE
HAEMORHEOLOGIAI ÉS KÉPALKOTÓ VIZSGÁLÓ MÓDSZEREKKEL
LÉPMEGTARTÓ MŰTÉTEKET KÖVETŐEN ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN**

Dr. Sajtos Erika

Témavezetők: Prof. Dr. Mikó Irén

Prof. Dr. Furka István



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2014

**ASPLENIÁS-HYPOSPLENIÁS ÁLLAPOTOK JELZÉSÉNEK LEHETŐSÉGE
HAEMORHEOLOGIAI ÉS KÉPALKOTÓ VIZSGÁLÓ MÓDSZEREKKEL
LÉPMEGTARTÓ MŰTÉTEKET KÖVETŐEN ÁLLATKÍSÉRLETEKBEN**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Sajtos Erika okleveles orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Klinikai Vizsgálatok programja) keretében

Témavezetők: Prof. Dr. Mikó Irén, az orvostudományok kandidátusa
Prof. Dr. Furka István, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Róth Erzsébet, az MTA doktora
Dr. Mikita János, kandidátus

A doktori szigorlat helye és időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK
Szemészeti Klinika Könyvtára
2014. május 27. 12:00

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Bogár Lajos, az MTA doktora
Dr. Garai Ildikó, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Bogár Lajos, az MTA doktora
Prof. Dr. Róth Erzsébet, az MTA doktora
Dr. Garai Ildikó, PhD
Dr. Mikita János, kandidátus

Az értekezés védésének helye és időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2014. május 27. 14:00

1. BEVEZETÉS

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

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

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

A Sebészeti Műtéttani Tanszéken a lépmegtartást szolgáló sebészi kutatások 1986-ig nyúlnak vissza. Kezdetben keverék kutyákon indultak a vizsgálatok, melynek eredményeként a Furka-féle „lépkötény” technika (Furka's spleen chip technique) világszerte ismertté válhatott. Az eredmények igazolták, hogy a beültetett vékony lépszeletek 4-5 hónap regenerációs időt igényelnek, és mind fény-, mind electronmicroscopos vizsgálatokkal kimutatható volt az eredeti léphez hasonló szövettani szerkezet. Az ultrahangos és scintigraphiás postoperatív vizsgálati módszerek is alkalmazhatónak bizonyultak.

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

Ezen korábbi tanszéki kutatások is igazolták a lépmegtartó műtéti technikák és az aspleniás-hypospleniás állapotok kutatásának aktualitását. Ezért felmerült az igény a hosszú távú követésre alkalmas inbred, nagy laboratóriumi állatokon folytatott vizsgálatokra.

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

2. CÉLKITŰZÉSEK

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

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

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

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

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

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Kísérleti állatok, anesthesia

Kísérleteinket két periódusban, 2005 és 2006 (I. fázis), valamint 2006 és 2008 (II. fázis) között összesen 31 beagle kutyán végeztük el. A kutatás elvégzéséhez rendelkezünk a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottság engedélyével (engedélyszám: 12/2003., 7/2006., 34/2007., DE MÁB).

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

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

3.2. Műtéti csoportok, műtéti technika

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

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

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

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

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

a peritoneum és az izomréteg egyeztetéséhez 1/0-ás nem felszívódó polyamid (Ethilon, Ethicon, Inc., Németország), a bőr zárásához 3/0-ás felszívódó polyglactin (Coated Vicryl, Ethicon, Inc., Németország) fonalakat használtunk.

3.3. A prae- és postoperatív vizsgálatok protokollja

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

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

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

Az első postoperatív év végén lett esedékes a kísérleti állatok kötelező vakcinálása, és ekkor a szokásos évenkénti oltási protokollnak megfelelően inaktivált veszettség vírust tartalmazó Rabigen Mono (Virbac S.A.) illetve élő, attenuált kutya szopornyica vírust, élő, attenuált kutya adenovírust, élő, attenuált kutya parainfluenza vírust, élő, attenuált kutya parvovírust tartalmazó Vanguard Plus5 (Pfizer Animal Health S.A) vakcinákkal immunizáltuk az I. és II. kísérleti fázis állatait. Ezt megelőzően és ezt követően egy héttel vérvételeket végeztünk, a kiváltott immunválasz mértékének az összehasonlítása céljából.

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

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

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

3.3.1. Laboratóriumi vizsgálatok

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

3.3.1.1. Haematologiai paraméterek meghatározása

A haematologiai paraméterek meghatározása 1,5M K_3 -EDTA-val (BD Vacutainer[®], Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintákból történt a Coulter-elv alapján működő Sysmex F-800 microcell counter (TOA Medical Electronics Co., Japán) használatával.

3.3.1.2. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata

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

3.3.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás mérése

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

3.3.1.2.1.1. Filtrometria

A filtrometriás mérésekhez 143 IU Na-heparinnal (BD Vacutainer[®], Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintát használtunk.

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

A folyadékoszlop haladási sebességéből meghatározható a kezdeti relatív filtrációs ráta (initial relative filtration rate, IRFR), majd ebből -az alábbi képlet alkalmazásával $RCTT =$

$((IRFR^{-1} - 1) / Htc) + 1$, ahol a Htc a sejt szuszpenzió haematocritja- a relatív sejt tranzit idő (relative cell transit time, RCTT).

3.3.1.2.1.2. Ektacytometria

A vörösvérsejt deformabilitás ektacytometria módszerével történő meghatározása során 1,5M K₃-EDTA-val (BD Vacutainer[®], Belliver Industrial Estate, Anglia) anticoagulált vérmintákat használtunk. A mérések nem igényeltek a filtrometriánál szükségeshez hasonló előkészítést, a meghatározás közvetlenül a teljes vérmintából történik. A mérések során RheoScan D-200 slit-flow ektacytometert (Sewon Meditech Inc., Dél-Korea) használtuk.

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

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

3.3.1.2.2. Leukocyta antisedimentációs ráta meghatározása

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

3.3.2. Képpalkotó vizsgálatok

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

3.3.2.1. Colloid scintigraphia

A kísérleti állatoknak narcosisban 80-110 MBq aktivitású ^{99m}Tc-mal jelölt Na-fyticum (Fyton, Izotóp Intézet Kft., Magyarország) került beadásra a v. cephalicán keresztül. 20 perc

elteltével SPECT begyűjtést kezdtünk gamma kamerával (Cardio-C, Mediso Kft., Magyarország) “step and shoot” módban, 3 fokként. A kísérleti állatok háton fekvő helyzetben voltak a vizsgálat alatt. A beadott colloidot a reticuloendothelialis sejtek phagocytálják, így az aktivitásfokozódás a májban és a lép régiójában volt várható. A felvételek megjelenítése „browser view” módban látható, a kiválasztott pontoknak megfelelően a transaxialis, sagittalis és coronalis síkokban. A vizsgálatokat a DE OEC Nukleáris Medicina Intézetben végeztük.

3.3.2.2. Lép-specifikus scintigraphia

Az eljárás alapja a humán lép-specifikus scintigraphia, módosítva a beagle kutyákhoz szükséges változtatásokkal. A vörösvérsejtek jelzése a DE OEC Nukleáris Medicina Intézetben történt.

A leképezések (SPECT) narcosisban történtek, a kísérleti állatok bal oldali fektetésével, kétdetektoros gamma-kamerával (AnyScanSC, Mediso Kft, Magyarország), 5 fokként (a detektorok beállítása 180°), a vörösvérsejt szuszpenzió beadást követően 30 perc múlva. A felvételek megjelenítése a kiválasztott pontoknak megfelelően a transaxialis, sagittalis és coronalis síkokban történt.

3.3.3. Laparoscopos vizsgálatok

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

3.3.4. Morphologiai vizsgálatok

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

3.3.5. Statisztikai analízis

Laboratóriumi utánvizsgálatainknál az erythrocyta deformabilitás vizsgálata során kapott

eredményeket átlag \pm S.D. formátumban jelenítettük meg. A statisztikai analízis során Mann-Whitney rank sum tesztet és one-way ANOVA on ranks tesztet (Dunn's method) alkalmaztunk csoportokon belüli és azok közötti összehasonlításra.

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

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

4. EREDMÉNYEK

4.1. Laboratóriumi vizsgálatok

4.1.1. Haematologiai paraméterek

A tervezett postoperatív vizsgálati protokoll részeként megtörténtek a haematologiai vizsgálatok, azonban ezek önálló részletes elemzését nem kívánjuk bemutatni. A vörösvérsejtek jellemzésére használt paraméterek a deformabilitásnál, a fehérvérsejt vonatkozású paraméterek a LAR eredményeknél, azokkal való összefüggéseikben kerülnek prezentálásra.

4.1.2. Haemorheologiai paraméterek

4.1.2.1. Erythrocyta deformabilitás

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

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

4.1.2.1.1. Filtrometria mérési eredmények

A relatív sejt tranzit idő (RCTT) értékek változása az alábbiak szerint alakult vizsgálataink során:

Az alapértékek valamennyi csoportban hasonlóak voltak, ehhez képest a 2. postoperatív

hónapban az RCTT értékek egy enyhén emelkedett, de közel azonos értéket mutattak valamennyi műtéti csoportban.

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

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

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

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

A postoperatív 20. hónapban az áloperált kontrol csoport értéke nem változott jelentősen és a splenectomia csoport esetében továbbra is az alapértékekhez képest szignifikánsan magasabb RCTT értéket mérhettünk. A lép autotransplantatio csoportok értékei az áloperált kontrol csoport szintéhez közeli értékeket mutattak ekkor is.

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

A filtrometriás méréseink eredményeiről *összességében* elmondható, hogy a splenectomia csoportban folyamatosan egy magas RCTT értéket láthattunk, amíg a lép autotransplantatio csoportok kapcsán egy csökkenő tendenciát figyelhettünk meg enyhe fluktuációval. Látható volt továbbá, hogy a lép autotransplantatio csoportok értékei az áloperált kontrol csoport értékeit közelítik a postoperatív 6. hónaptól kezdődően, melynek eredményeként a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értékei a postoperatív 12. hónaptól, az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értékei a postoperatív 20 hónaptól el is érik azt. A postoperatív 12. hónaptól már igen kifejezett szignifikáns különbség látható a splenectomia és a lép autotransplantatio csoportok között, mely utóbbiak az áloperált kontrol csoport értékeivel azonos alacsony értékeket mutatnak, szemben a splenectomia csoport igen magas értékeivel.

4.1.2.1.2. Ektacytometria mérési eredmények

Az ektacytometriás méréseink eredményeit a maximális elongációs index (EI_{max}) és az ezek feléhez tartozó nyírófeszültségek ($SS_{1/2}$) összevetésével végeztük el, illetve elemeztük a görbék elfutását.

A postoperatív 20. és 24. hónapokban az elongációs index-nyírófeszültség görbék profilja a splenectomia csoportokban a szokásostól eltérő és a lép autotransplantatio csoportokétól is különböző lefutást mutatott. Bár a görbe meredeksége enyhén magasabb volt a splenectomia csoportban, mint a lép autotransplantatio csoportokban, de 5-6 Pa nyírófeszültség felett mégis megközelítette, vagy akár el is maradt ezekhez a csoportokhoz képest. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index mindkét mérési időpontban szignifikánsan alacsonyabb volt, mind a splenectomia, mind a lép autotransplantatio csoportokban az áloperált csoporthoz képest.

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

A $SS_{1/2}$ értékek esetében is hasonló eredményeket kaptunk a két vizsgálati időpontunkban. A legalacsonyabb értéket a splenectomia csoport kapcsán mérhettük minden

esetben, ez a különbség szignifikáns az ép kontrol és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoporthoz képest a postoperatív 20. hónapban, illetve mindkét lép autotransplantatio csoporthoz képest a postoperatív 24. hónapban. A kontrol csoportok és a lép autotransplantatio csoportok közel azonos értékeket mutattak a mérések során mindkét időpontban.

4.1.2.2. Leukocyta antisedimentációs ráta

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

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

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

Vakcinációt követően az áloperált kontrol csoport ($10,74 \pm 0,41 \times 10^3/\mu\text{l}$) és az 5 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport értéke nem változott jelentősen ($16,08 \pm 0,34 \times 10^3/\mu\text{l}$). A splenectomia és a 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált csoport esetében (SE: $12,23 \pm 0,66 \times 10^3/\mu\text{l}$; AU10: $12,41 \pm 0,48 \times 10^3/\mu\text{l}$) egy enyhe csökkenést figyelhattunk meg a vakcináció előtti állapothoz képest.

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

A vakcinációt követően, valamennyi csoportban a LAR emelkedését láthattuk, azonban ez a változás nem azonos mértékű volt a különböző csoportok esetében. A splenectomia csoport kapcsán mérhettük a legmagasabb értéket ($16,56 \pm 6,4\%$) és itt volt legnagyobb a változás is vakcináció előtti értékhez képest, annak ellenére, hogy a fehérvérsejtszám tekintetében nem tapasztaltunk ilyen mértékű változást. Az autotransplantatio csoportokban a

növekedés nem volt ilyen kifejezett, de szintén emelkedés volt megfigyelhető a vakcináció előtti állapothoz képest (AU5: 13,34±3,95%; AU10: 12,62±5,62%).

4.2. Képkalkotó vizsgálatok eredményei

4.2.1. Colloid scintigraphia

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

Az áloperált kontrol állat (kísérleti állat jelzése: ÁL-3 [99]) felvételén a mindhárom síkban készült metszeten a legnagyobb aktivitást a máj mutatta. A lép valamennyi síkban készült metszeten, a szokványos helyen, kis aktivitással ábrázolódt.

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

Azon állat esetében, ahol a lép autotransplantációt követően 10 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU10-2 [128]), a scintigraphiás vizsgálat során a legnagyobb aktivitást valamennyi síkban készült metszeten szintén a máj mutatta. A cseplez régiójában pontszerű dúsulások voltak azonosíthatóak, amelyek feltételezhetően a beültetett lépdarabkák reticuloendothelialis sejtjeinek phagocytá működését jelezték. A felvételeken egyértelműen megfigyelhetőek a lép autotransplantatumoknak véleményezett dúsulások.

4.2.2. Lép-specifikus scintigraphia

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

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

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

Azon állat esetében, ahol az autotransplantációt követően 10 szeletke került visszahelyezésre (kísérleti állat jelzése: AU10-2 [128]), egyrészt a mellkasban, a szív és

nagyerek régiójában figyelhető meg egy összefüggő, nagy aktivitású terület, azonban a cseplész régiójában is jól körülhatárolható dúsulásokat találtunk, melyek megbízhatóan jelzik a lép autotransplantatumok működését.

4.3. Laparoscopos vizsgálatok eredményei

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

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

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

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

A II. fázis során a postoperatív 24. hónapban került sor a diagnosticus laparoscopiára az autotransplantatio csoportok valamennyi, illetőleg az áloperált kontrol és splenectomia csoport 2-2 kísérleti állatán.

Az autotransplantált csoportba tartozó kísérleti állatokon elvégzett diagnosticus laparoscopia során, két esetet kivéve, valamennyi lép autotransplantatum azonosítható volt és egy esetben sem találtunk számottevő adhaesiót.

Az 5 lépszeletke beültetésével autotransplantált állatok kapcsán a beavatkozások során egy kísérleti állat esetében csak 4 lép autotransplantatumot tudtunk azonosítani (kísérleti állat jelzése: AU5-1 [41]). A többi kísérleti állat esetében sikerült látótérbe hozni valamennyi beültetett lépszeletkét. Ezek többségében jól fejletteknek látszottak, egyedül egy kísérleti állat kapcsán (kísérleti állat jelzése: AU5-3 [40]) észleltünk 2 hypotrophizálnak tűnő autotransplantatumot, melyek környezetében egy feltűnően jól fejlett lépszeletke is megfigyelhető volt.

A 10 lépszeletke visszaültetésével autotransplantált állatok között összességében 3

esetben valamennyi lépszövetke azonosítható volt, igen fejlett érellátással. Egy kísérleti állat kapcsán (kísérleti állat jelzése: AU10-4 [32]) csak 8 autotransplantatum volt megtalálható, melyek kissé hypotrophizáltak látszódtak.

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

4.4. Morphologiai vizsgálatok eredményei

Az I. fázis kísérleti állatainak esetében a műtétek során eltávolított és az utánkövetési idő végén a lép autotransplantatumok eltávolítása után megtörténtek a szövettani feldolgozások.

A transplantatumokból készített metszeteken már 40X nagyításnál is jól fejlett folliculusokat, bevérzett vörös pulpát és kissé rendezetlen trabecularis állományt láthatunk. A nagyobb nagyítással készült felvételen szintén ehhez hasonló kép látható.

Ezek alapján megállapítható volt, hogy a regenerálódott „kis lépek” szövettani szerkezete az ép lépéhez hasonló.

5. MEGBESZÉLÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

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

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

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

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

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

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

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

A regenerált lépdarabkák azonban szövettani szerkezet vonatkozásában az ép léphez hasonlóak.

6. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

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

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

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

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

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

7. IRODALOMJEGYZÉK



DEBRECENI EGYETEM EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA

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

Jelölt: Sajtos Erika

Neptun kód: NWC8GS

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

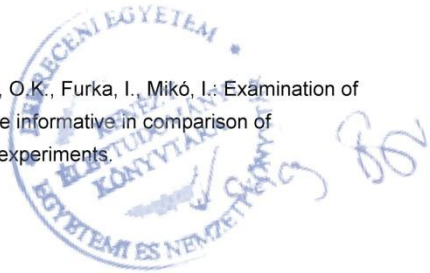
A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

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



További Közlemények

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



10. Kiss, F., **Sajtos, E.**, Mátyás, L., Magyar, Z., Furka, I., Mikó, I., Németh, N.: Testing red blood cell deformability of laboratory animals by slit-flow ektactometry in various viscosity media: Inter-species and gender differences.
Korea-Aust. Rheol. J. 22 (2), 113-118, 2010.
IF:0.948

11. Németh, N., Baskurt, O.K., Meiselman, H.J., Kiss, F., Uyuklu, M., Hevér, T., **Sajtos, E.**, Kenyeres, P., Tóth, K., Furka, I., Mikó, I.: Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations: Inter-species differences and the effects of duration and temperature.
Korea-Aust. Rheol. J. 21 (2), 127-133, 2009.
IF:0.965

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 16.059

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

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

Debrecen, 2014.02.13



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

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

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

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

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

Köszönöm *Prof. Dr. Galuska László*, a DE OEC Nukleáris Medicina Intézet korábbi tanszékvezető professzorának, hogy hozzájárult ahhoz, hogy a képalkotó vizsgálatokat elvégezhessük és szakmai tanácsaival segítette azt. Köszönöm *Dr. Varga József* egyetemi docens úrnak, az intézet jelenlegi igazgatójának és *Dr. Fodor Zoltánnak* a kollaboráció során munkájukat, mely nélkül a scintigraphiás vizsgálatok nem valósulhattak volna meg.

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