

Egyetemi doktori (PhD) értekezés

**PERIFÉRIÁS ÉRSZAKASZ MŰVI GRAFTTAL
VALÓ PÓTLÁSÁNAK KLINIKAI TAPASZTALATAI ÉS KÍSÉRLETES
VÉRÁRAMLÁSTANI, MORFOLÓGIAI VIZSGÁLATAI**

Dr. Tóth Csaba Zsigmond

Témavezető:

Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

2015

Tartalomjegyzék

| | |
|--|----|
| 1. BEVEZETÉS..... | 3 |
| 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS..... | 5 |
| 2.1. A perifériás érbetegségek sebészi kezelése..... | 5 |
| 2.2. Véráramlástanai tényezők..... | 18 |
| 2.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás..... | 18 |
| 2.2.2. Vörösvérsejt aggregatio..... | 19 |
| 2.2.3. A vörösvérsejtek mechanikus traumája, membránstabilitási tényezők..... | 19 |
| 2.2.4. Micro-rheológiai vizsgálatok jelentősége az ér-graft beültetés vonatkozásában..... | 22 |
| 3. CÉLKITŰZÉSEK..... | 23 |
| 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK..... | 24 |
| 4.1. Kísérleti állatok és műtéti protokoll..... | 24 |
| 4.2. Posztoperatív fizikális vizsgálatok..... | 24 |
| 4.3. Laboratóriumi vizsgálatok..... | 25 |
| 4.3.1. Laktát koncentráció és vér pH..... | 25 |
| 4.3.2. Coagulációs idő paraméterek és fibrinogén koncentráció..... | 26 |
| 4.3.3. Haematológiai paraméterek..... | 26 |
| 4.3.4. Vörösvérsejt deformabilitás és mechanikai stabilitás teszt..... | 26 |
| 4.3.5. Vörösvérsejt aggregatio..... | 30 |
| 4.4. Szövetteni vizsgálatok..... | 31 |
| 4.5. Statisztikai analízis..... | 31 |
| 5. EREDMÉNYEK..... | 32 |
| 5.1. Postoperatív fizikális vizsgálatok, bőrhőmérséklet..... | 32 |
| 5.2. Laktát koncentráció és vér pH..... | 32 |
| 5.3. Haematológiai paraméterek..... | 33 |
| 5.4. Coagulációs idő paraméterek és fibrinogén koncentráció..... | 35 |
| 5.5. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás..... | 36 |
| 5.6. Vörösvérsejt aggregatio..... | 42 |
| 5.7. Szövetteni vizsgálatok..... | 44 |
| 6. MEGBESZÉLÉS..... | 46 |
| 7. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA..... | 52 |
| 8. Összefoglalás/Summary..... | 53 |
| 9. Irodalomjegyzék..... | 55 |
| 9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke..... | 55 |
| 9.2. Az értekezés alapjául szolgáló és egyéb <i>in extenso</i> közlemények hitelesített listája..... | 63 |
| 10. Tárgyszavak..... | 66 |
| 11. Köszönetnyilvánítás..... | 67 |
| 12. Függelék..... | 68 |

Rövidítések jegyzéke

ABI = ankle brachial index
AFS = arteria femoralis superficialis
AI = aggregációs index
Amp = amplitúdó
ANOVA = analyses of variance
APTI = aktivált parciális thromboplastin idő
CTA = komputertomográf angiográfia
DSA = digitális szubtrakciós angiográfia
EI = elongációs index
Fbg = fibrinogén
Fvs = fehérvérsejt
Hgb = haemoglobin
Htc = haematocrit
LMWH = low molecular weight heparin
MCH = mean corpuscular hemoglobin
MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration
MCV = mean corpuscular volume
MPV = mean platelet volume
MRA = mágneses rezonancia angiográfia
NO = nitrogén-monoxid
O = osmolalitás
PAD = peripheral arterial disease
PI = prothrombin idő
PTA = percutan transluminális angioplastica
PTE = polietilén-tereftalát
PTFE = politetrafluoroetilén
PVP = polyvinylpyrrolidone
RDW-CV = red cell distribution width coefficient of variation
SS = shear stress
TASC = TransAtlantic Inter-Society Consensus
TEA = thrombendarterectomia
Thr = thrombocytá
TIA = transitoricus ischaemiás attack
TTV = thrombotic threshold velocity
VSM = vena saphena magna
Vvs = vörösvérsejt

1. BEVEZETÉS

Napjaink érsebészeti gyakorlatában a nyitott műtéteknek, mint például bypass operációknak még mindig nagy jelentősége van (Silver és Ansel, 2002; Perera és Lyden, 2007; Beard, 2008; Schillinger és Minar, 2008; Setacci és mtsai, 2011). Ezekben az esetekben a beteg valamely epifasciális vénáját használják vagy művi érgraft beültetését alkalmazzák, mely utóbbi készülhet polietilén-tereftalátból (PTE, Dacron) vagy politetrafluoroetilénből (PTFE). Kimutatták, hogy azokban az esetekben, amikor a betegek saját vénája kerül felhasználásra, a nyitvamaradási arány kétszer vagy akár többször is magasabb, mint művi graftok alkalmazása esetén (Takagi és mtsai, 2010; Heise és mtsai, 2003; Lawrence és Chandra, 2010).

Az elmúlt 10-15 év során az infrainguinális bypass műtétek számának csökkenését lehet megfigyelni (Schillinger és Minar, 2008; Setacci és mtsai, 2011). A valódi ok nem ismert, de a rizikófaktorok csökkenése, a műtéttechnikai módosítások és az endovascularis technikák fejlődése (akár többszörös, vagy <15-20 cm hosszúságú elzáródás, illetve krónikus teljes occlusio esetén is) szolgálhat erre magyarázatul. Az általános vélemény szerint a krónikus teljes illetve 20 cm-nél nagyobb occlusio esetén a nyitott műtét az első választás (Schillinger és Minar, 2008; Takagi és mtsai, 2010; Setacci és mtsai, 2011). A vena saphena magna a "gold standard" infrainguinalis bypass műtétek esetén. Amennyiben ez a véna gyengébb minőségű vagy korábban már eltávolításra került (pl. coronaria bypass graft készítés céljából, vagy varicectomia során), az ellenoldali véna alkalmazása merül fel inkább, mintsem más, például alkari vénáké, amelyek felhasználása esetén kisebb nyitvamaradási arányról számolnak be. A térd feletti műtéti beavatkozásoknál inkább a művi érgraft választandó, hiszen a betegség progressziója miatt szükséges lehet újabb beavatkozásokra a térd alatt, ahol inkább a vénás graftok alkalmazása a preferált (Schillinger és Minar, 2008; Takagi és mtsai, 2010; Setacci és mtsai, 2011). Vénás graft hiányában a művi megoldások alkalmazása javallott. Ebben az esetben az úgynevezett vénás "cuff" elkészítése javasolt a művi graft distalis anastomosisánál.

A Joint Vascular Research Group randomizált klinikai vizsgálata szerint a vénás szegment alkalmazásával P3 szinten jelentősen nagyobb nyitvamaradási arányt írtak le a graftoknál, mint a Miller-cuff nélküli femoro-distalis PTFE graft beültetések esetén. A művi graftok száma csökkent a claudicatio intermittens, illetve kritikus végtag ischaemia megoldási lehetőségei között. Az alacsony nyitvamaradási arány és a graft jelenlétével összefüggő infekciók a főbb ellenérvek (Esquivel és Blaisdell, 1986; Rutherford, 2000; Silver és Ansel, 2002; Perera és Lyden, 2007; Beard, 2008; Schillinger és Minar, 2008; Neville és mtsai, 2011; Setacci és mtsai, 2011; Tatterton és mtsai, 2012; Huang és mtsai, 2013).

Az első néhány postoperatív nap mindig kritikus. A korai thrombosis problémája a kis átmérőjű művi graftok esetén még mindig nagy kihívást jelent az érsebészetben (Rutherford, 2000). A művi graft fala sokkal rigidebb, a háromfázisú arteriális véráramlású nyomásgörbe nem figyelhető meg rajta. Művi graft beültetése után számos korai és késői komplikáció merülhet fel. Korai komplikációk: varratelégtelenség, vérzés, graft infekció, sebfertőzés, ér- és idegsérülések, a graft korai elzáródása. Késői szövődmények: pseudoaneurysma képződés a varratelégtelenség miatt, graft obstructio, a neointima okozta stenosis vagy oclusio és késői graft infectio (Esquivel és Blaisdell, 1986; Rutherford, 2000; Neville és mtsai, 2011; Tatterton és mtsai, 2012; Huang és mtsai, 2013). A véráramlási karakterisztika megváltozik az anastomosisoknál és azokon belül, a sejtek mechanikai károsodása léphet fel, s a depozitumok gyakran újabb operációt indikálnak (Esquivel és Blaisdell, 1986; Neville és mtsai, 2011; Song és mtsai, 2011; Huang és mtsai, 2013). Nem teljes mértékben tisztázott még, hogy a megváltozott érgeometria és áramlási tulajdonságok mikor érnek el olyan mértéket, amely már thromboticus szövődmény kialakulásához vezethet.

Ezért e kérdéskör klinikai tapasztalatainak elemzése és kísérletes modellben való további, a véráramlástani tényezőket befolyásoló paraméterekre is fókuszáló részletes vizsgálatai indokoltak.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A perifériás érbetegségek sebészi kezelése

Az érszűkületes, diabeteses betegek száma világszerte, így hazánkban is folyamatosan növekszik. A cardiovascularis megbetegedések vezető halálókként szerepelnek a statisztikákban. A fő rizikófaktorok: dohányzás, elhízás, mozgásszegény életmód, öröklött hajlam, hyperlipidaemia, magas homocystein szint, antifoszfolipid antitest pozitivitás. Társuló rizikó betegségek: diabetes mellitus, hypertonia. Az atherosclerosis az érintett szervnek megfelelően okoz tüneteket. A carotisok esetében TIA, stroke, coronaria sclerosisnál acut myocardialis infarctus, distalis aorta és az alsó végtagok ereinek érintettsége esetén dysbasiás panaszok, ischaemiás tünetek, később trophicus sebek. A perifériás obliteratív arteriális betegség prevalenciája napjainkban 3-10 % között van, azonban a 70 évesnél idősebbek között 15-20 %-ra emelkedik (Criqui és mtsai, 1985; Hiatt és mtsai, 1995; Selvin és mtsai, 2004), az USA-ban több mint 10 millió embert érint (Bhatt és mtsai, 2006). A claudicatio intermittens, bár fő tünete a perifériás verőér megbetegségnek (peripheral arterial disease, PAD), nem minden esetben jósolja meg annak jelenlétét, vagy hiányát.

Az alsó végtagokat érintő PAD klasszifikációjára és stádium beosztására a Fontaine- és a Rutherford-féle beosztás használatos (I. táblázat).

I. táblázat: A perifériás verőérbetegségek klasszifikációja és stádiumbeosztása (Fontaine és mtsai, 1954; Rutherford és mtsai, 1997)

| Fontaine-féle klasszifikáció | | Rutherford-féle klasszifikáció | | |
|------------------------------|---|--------------------------------|-----------|------------------------------|
| Stádium | Klinikai megjelenés | Gradus | Kategória | Klinikai megjelenés |
| I | tünetmentes | 0 | 0 | tünetmentes |
| IIa | enyhe claudicatio (járástávolság >200 m) | I | 1 | enyhe claudicatio |
| IIb | közepes vagy súlyos claudicatio (járástávolság <200 m) | I | 2 | közepes claudicatio |
| | | I | 3 | súlyos claudicatio |
| III | ischaemiás nyugalmi fájdalom | II | 4 | ischaemiás nyugalmi fájdalom |
| IV | ulceratio, gangraena | III | 5 | kismértékű szövetvesztés |
| | | III | 6 | kiterjedt szövetvesztés |

A Fontaine I, IIa stadiumban konzervatív kezelés javasolt: életmódváltás, több mozgás, sportolás, járástorna, dohányzás elhagyása, súlycsökkentés, hypertonia, diabetes kezelése, thrombocytá aggregatio gátló szerek (acetilszalicilsav, clopidogrel), statin, cilostazol szedése. Fontaine IIb stadiumban mérlegelendő, III, IV-es stadiumban a vizsgálati eredményektől függően szükséges az érsebészeti és/vagy intervenciós radiológiai beavatkozás.

A PAD diagnosztikájában a leggyakrabban használt eljárások: fizikális vizsgálat, kézi Doppler, arteriás color-Doppler, a boka-kar index (ankle brachial index, ABI), komputertomográf angiográfia (CTA), mágneses rezonancia angiográfia (MRA) és a digitális szubtrakciós angiográfia (DSA) (1. ábra).

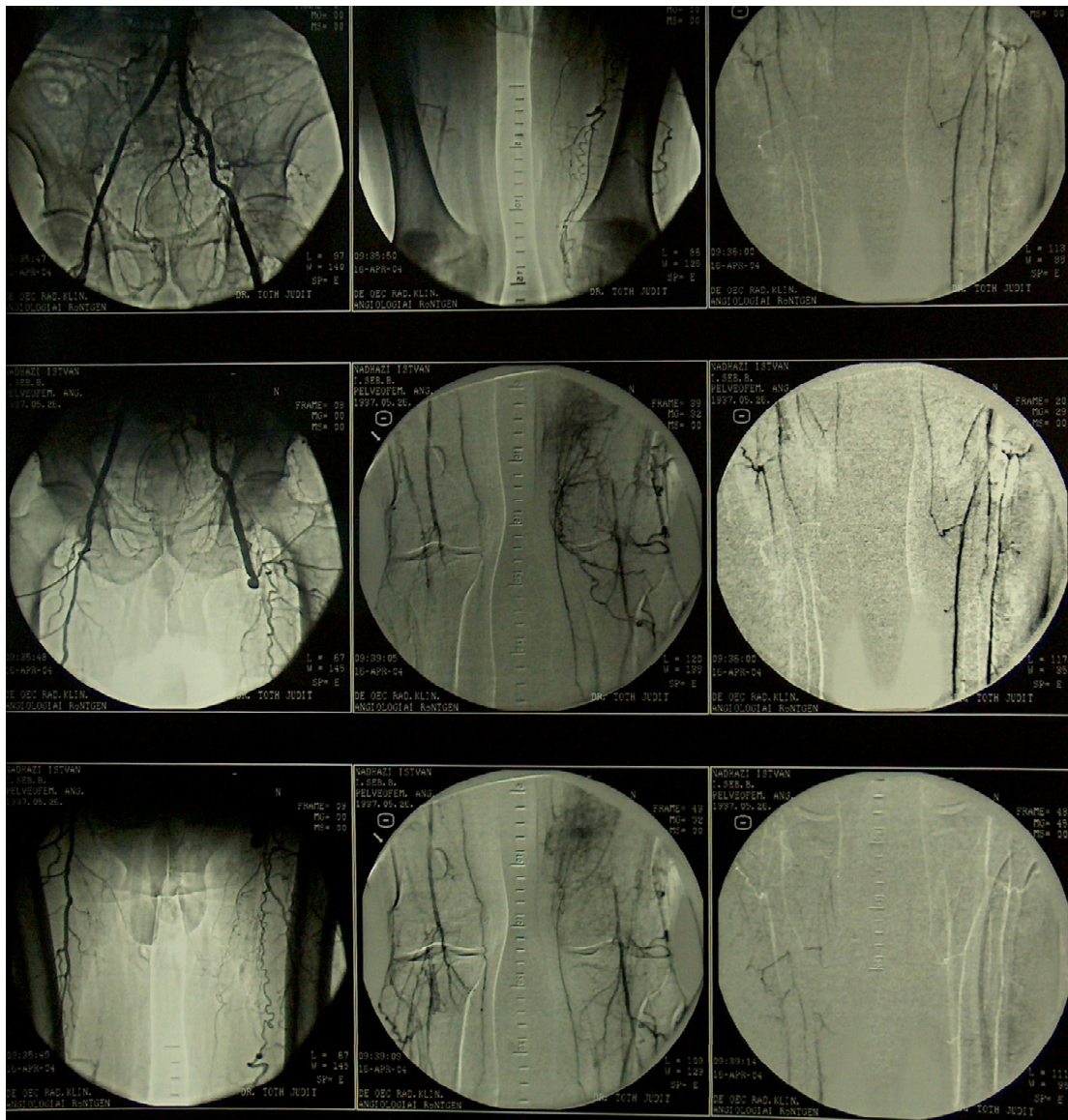
A képalkotó eljárásokkal kapott információ alapján dönt az érsebész a választható megoldások közül, melyek a következők lehetnek:

- nyitott érműtét: thrombendarterectomia (TEA), alsó végtagi bypass
- intervenciós radiológiai beavatkozás: percutan transluminális angioplastica (PTA), stent, vagy stentgraft behelyezése.
- hibrid műtét: pl. arteria iliaca stenteléssel egy ülésben végzett femoro-poplitealis bypass.

Az alsó végtagon az atheroscleroticus elváltozás leggyakrabban az arteria femoralis superficialist érinti, anatómiai helyzete és funkciója miatt (Saxxon és mtsai, 2008).

Az arteria femoralis superficialisban kialakult érszűkület okozhat claudicatio intermittenst, nehezen gyógyuló trophicus sebek alakulhatnak ki, végül kritikus ischaemia tünetei jelentkeznek (Shammas, 2007).

Az atheroscleroticus plakkok hossza, elhelyezkedése alapján a TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) szerint A-D csoportba soroljuk az elváltozásokat (II. táblázat).



1. ábra

Alsó végtagi digitális szubtrakciós angiográfia (DSA) képsorozat.
(A szerző fotóanyagából)

II. táblázat: Az a. femoralis superficialis occlusio TASC (TransAtlantic Inter-Society Consensus) II klasszifikációja (Norgren és mtsai, 2007)

| Típus | Jellemzők |
|----------|--|
| A | szimpla elzáródás, hossza <5 cm |
| B | szimpla elzáródás, hossza <5 cm, erősen calcificált; vagy többszörös elzáródás, hossza egyenként <5 cm; vagy egyszeri elzáródás 5-15 cm hosszúságban |
| C | többszörös elzáródás, >15 cm |
| D | krónikus teljes occlusio, >20 cm |

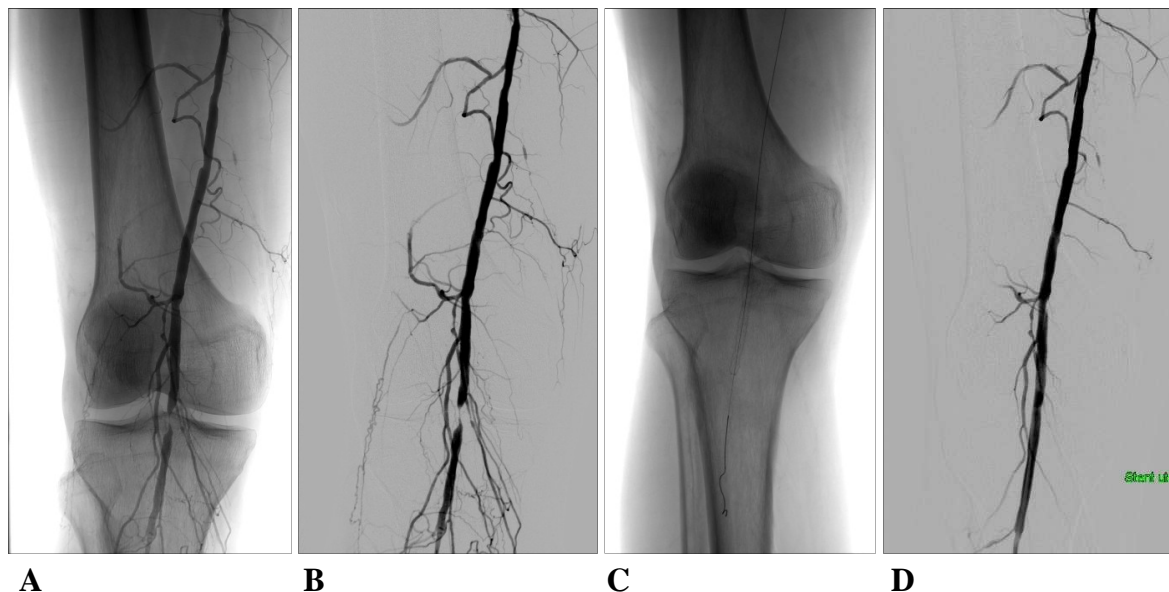
A Fontaine IIb, III-IV-es stadiumban a TASC II besorolás szerinti A,B elváltozások esetén az endovascularis beavatkozások jönnek szóba első választandó eljárásként. A percutan transluminális angioplasticát stenttel vagy anélkül sok intézetben, egyre nagyobb számban, rutinszerűen végzik (Jamsén és mtsai, 2003; Norgren és mtsai, 2007; Scott és mtsai, 2007). Irodalmi adatok szerint az endovascularis beavatkozásokkal az elsődleges nyitvamaradás és a betegek tüneteinek, panaszainak mérséklődése szempontjából a nyitott érműtétekkel összehasonlítva jobb eredményeket érnek el, ugyanakkor az endovascularis beavatkozásokat követően nagyobb arányban alakulnak ki ismét a tünetek (Taylor és mtsai, 2008).

Az a. femoralis superficialis PTA-val történő revascularizációja alternatívája a bypass műtéteknek, technikai sikeressége meghaladja a 95%-ot. (Rocha-Singh és mtsai, 2007; Krankenberg és mtsai, 2007; Baril és mtsai, 2008) (2. ábra). Elsődlegesen választandó, ha a beteg várható élettartama rövid, kísérőbetegségei miatt a nyitott műtét fokozott kockázatú, vagy kontraindikált, illetve ha hiányzik a megfelelő véna (vena saphena magna) a bypass műtétéhez (Beard 2008; Blevins és Schneider, 2010; Bradbury és mtsai 2010).

A beavatkozások ambulanter is elvégezhetőek, költséghatékonyak, kevésbé rontják a funkcionális statust (Akopian és mtsai, 2006; Nolan és mtsai, 2007).

A PTA, stent behelyezés lehetséges szövődményei a vérzés, a dissectio, az elzáródás, a késői időszakban az „in-stent” re-stenosis, oclusio, a stent felett-alatt kialakuló stenosis, *de novo* stenosis valamint a stent törés (Kiguchi és mtsai, 2013)

A stentek mellett ma már az intervenció radiológiában implantálnak PTFE borított, nitinol öntáguló stent-graftokat is az a. femoralis superficialis oclusio műtéti ellátásakor alkalmazott femoro-poplitealis bypass alternatívájaként. Ezen stentgraftok rövid távú primer és szekunder nyitvamaradása hasonló a bypass műtétekhez, de a középtávú primer nyitvamaradása alacsonyabb (Jebran és mtsai, 2013).



2. ábra

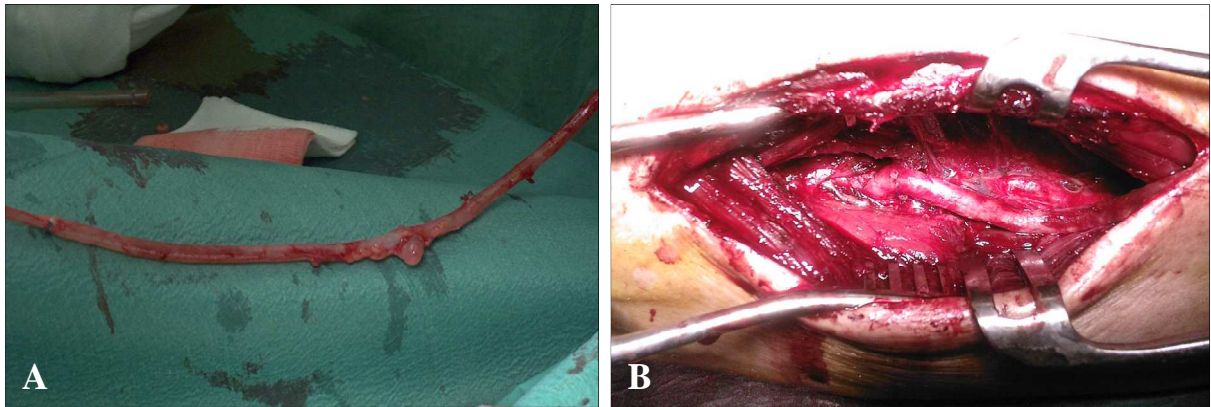
Percutan transluminaris angioplastica DSA képsorozata a. poplitea elzáródás megoldására
(A szerző fotóanyagából)

Az érsebészeti rekonstrukciós műtétek jelentős része az alsó végtagokon történik. A femoro-poplitealis, térd fölé, vagy alá vezetett bypassst (FC-P1, FC-P3) ma is „gold standard”-nak tekintik (Gable, 2011). A műtéteket függetlenül attól, hogy saját vénát, vagy érprotézist ültettek be, jó eredmény és alacsony morbiditás jellemzi (Fujioka és mtsai, 1998; Byrne és mtsai, 1999).

A TASC A, B elváltozások esetén PTA/S lehet az első választandó eljárás, míg a TASC C,D elváltozások esetén a nyitott érműtét, bypass műtét jön szóba. Intézettől, tapasztalattól függően a TASC C, D elváltozásokat is kezelhetik endovascularisan (PTA/S) (Siracuse és mtsai 2012). Az endovascularis beavatkozáson átesett betegek kevesebb időt töltenek fekvőbeteg intézményben, a nyitott műtéteknél a szövődmény aránya nagyobb, a felületes, graftot nem érintő lágyrész fertőzések miatt (Siracuse és mtsai, 2012).

Statin szedése növeli a graftok nyitva maradását, csökkenti a tünetek visszatérését és növeli a reintervencióig tartó idő intervallumot (Henke és mtsai, 2004; Abbruzzee és mtsai, 2004). Az alsó végtagi bypass műtétek (infrainguinals, femoro-distalis, femoro-poplitealis,

femoro-cruralis) esetén az elsődlegesen választandó graft a beteg saját felületes vénája, a v. saphena magna. A vénát be lehet ültetni a véna billentyűk miatt reverz pozícióban, vagy valvulotommal eltávolítani a billentyűket és *in situ* elvégezni a bypass műtétet (3. ábra).



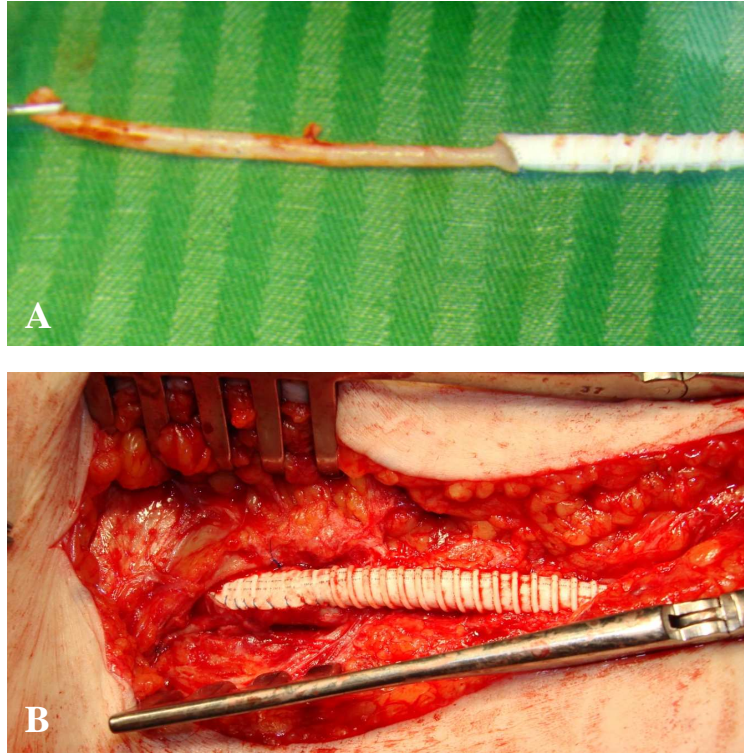
3. ábra

Autológ v. saphena magna (A) felhasználásával készült alsó végtagi bypass műtét (B)
(A szerző fotóanyagából)

Az esetek 20-30 %-ában a saphena magna nem alkalmas graftnak: vagy nem elég hosszú és/vagy az átmérője nem megfelelő (műtét előtti duplex scan szükséges), esetleg varicosus, vagy nem érhető el, amikor korábbi műtét során távolították el (varicectomia, coronaria bypass) (Faries és mtsai, 2000; Schanzer és mtsai, 2007; Arvela és mtsai, 2010).

Amennyiben nem áll rendelkezésre megfelelő hosszúságú és/ vagy átmérőjű vena saphena magna, az érsebész a következő lehetőségek közül választhat:

1. a felső végtag felületes vénái: vena cephalica, vena basilica (Faries és mtsai, 2000; Arvela és mtsai, 2010)
2. az alsó végtagokon a vena saphena parva (Shandall és mtsai, 1987)
3. érprotézisek (Dacron, PTFE), distalis vénás „patch” vagy „cuff” közbeiktatásával, vagy anélkül (Lauterbach és mtsai, 2005; Neville és mtsai, 2001) (4. ábra).
4. Egyes intézetekben lehetőség van cryoprezervált arteria (Albertini és mtsai, 2000), vagy vena (Randon és mtsai, 2010) allograft beültetésére.



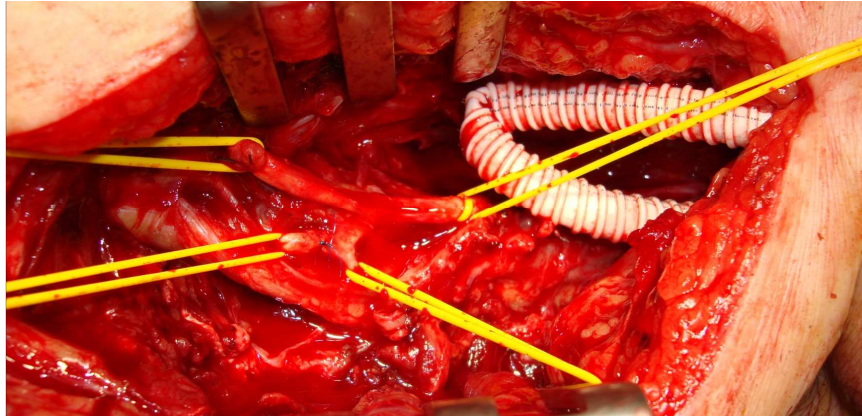
4. ábra

Vénával kombinált érprotézis, kompozit graft (A) és beültetése (B)
(A szerző fotóanyagából)

A Dacron és PTFE graftok között a nyitvamaradás szempontjából nincs szignifikáns különbség (Takagi és mtsai, 2010). A költségek tekintetében, vena saphena magna hiányában a PTFE grafttal, vagy más saját vénával (felkari véna, vena saphena parva) végzett műtétek a legkedvezőbbek (Barshes és mtsai, 2013).

Klinkert és mtsai (2004) adatai szerint a térd fölé vezetett bypass esetén a vena saphena magna graft nyitva maradása (primary patency rate) a műtét után 2 évvel 81 %, míg a PTFE grafté 67 %. Ugyanez 5 év után 74 és 39 % (Klinkert és mtsai, 2004). Térd alá vezetett bypass műtétek esetén szintén a VSM a választandó, mivel a nyitva maradás 50-70 %, 5 évvel a műtét után, míg PTFE graft beültetése esetén 15-30 % (Cavallaro és mtsai, 2013).

A térdízületben létrejövő nagy terjedelmű flexiós-extenziós mozgás miatt a térd alá vezetett bypass-ok esetében kizárólag külső gyűrűvel megerősített protézisek jönnek szóba (5. ábra).

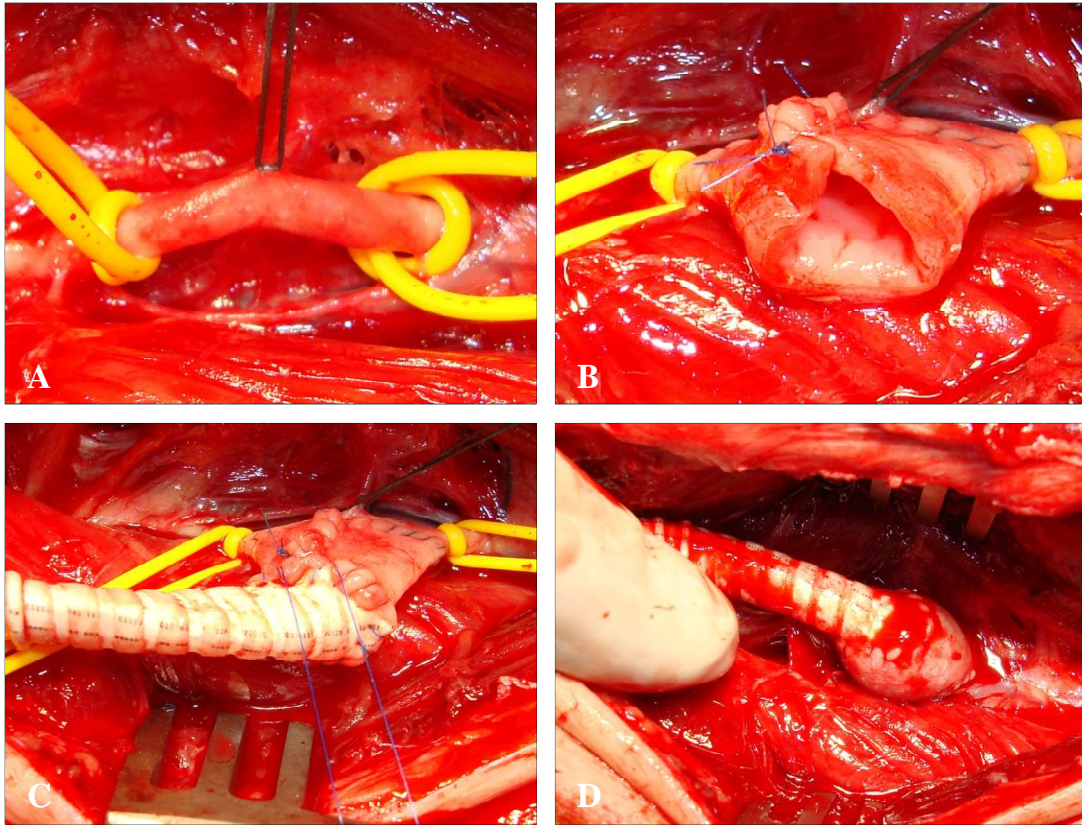


5. ábra

Térd alá vezetett gyűrűs, PTFE graft
(A szerző fotóanyagából)

A thrombosis, graft occlusio megelőzésére a distalis anastomosisban a műér és az arteria közé helyeznek egy vénás foltot (patch), vagy a vénából kialakított gyűrűt (cuff). Ez a vénás szakasz mintegy „puffer”-ként hivatott átvezetni a véráramot a merev falú műérről az arteriára, ezzel növelve a nyitva maradási és csökkentve a thrombosis, a graft occlusio veszélyét. A legismertebb ilyen megoldások a St. Mary’s boot, a Taylor-patch, a Miller-cuff és a Neville-féle distalis vénás patch (DVP) (Neville, Lidsky és mtsai, 2012). A műtét ugyan hosszabb és sebésztechnikailag is bonyolultabb, de a graftok hosszabb ideig maradnak nyitva: az 1 éves nyitva maradás közel 80 %-os, a 4 éves 51 %. (Neville, Capone és mtsai, 2012).

Saját gyakorlatunkban a Miller-cuff-ot alkalmazzuk (6. ábra). Az angiographiás lelettől függően végezzük a distalis feltárást: ha a térd fölötti szakasz megkíméltnék tűnik, a comb distalis harmadában, a Hunter-csatornának megfelelően operálunk. Ha az a. poplitea 3-as szegmentumára tervezzük a distalis anastomosis, térd alatt, medialisan, Szilágyi-metszésből tárjuk fel az arteriát. Amennyiben a lábszári erek proximalis részét szeretnénk elérni, ezt a metszést hosszabbítjuk meg distalis irányba. Ha az angiographia alapján csak a lábszári erek distalis része alkalmas bypass fogadására, föltárjuk az a. tibialis anterior a lábszár lateralis (7. ábra), az a. tibialis posterior a medialis részén.



6. ábra

A. tibialis anteriorra érkeztetett gyűrűs PTFE graft, Miller szerinti vénás cuff közbeiktatásával.
(A szerző fotóanyagából)



7. ábra

A. tibialis anteriorra vezetett vena saphena magna graft.
(A szerző fotóanyagából)

Az a. peronea a lábszár distalis harmadában a fibula resectiójával érhető el. A műtét során inguinalisan feltárjuk az a. femoralis communist, a profundát és a superficialist. A kiválasztott distalis érszakasznak megfelelően distalisan szintén feltárást végzünk, ezt követően az érszakaszt kirekesztéshez előkészítjük. A két terület között, subcutan vagy az izmok alatt tunnelt készítünk. Heparin intravénás adását (2500-5000 NE egy alkalommal, testsúlytól függően) követően kirekesztjük az iliofemorális átmenetet, az a. femoralis superficialist és a profundát. Hosszirányban megnyitjuk az artériát, ha szükséges thrombendarteriectomiát végzünk. Nem felszívódó monofil varróanyaggal, tova futó öltésekkel elkészítjük a bypass induló anastomosisát (aorta 3/0-s, femoralis, carotis 5/0-s, cruralis erek 6/0-s varróanyag). A graftot a tunnelbe behúzzuk, majd a distalis érszakaszt kirekesztjük és megnyitjuk (arteriotomia). Szintén nem felszívódó varróanyaggal, tova futó öltésekkel elkészítjük a distalis anastomosisát. Ezt követően felengedjük a kirekesztést, vérzést csillapítunk, intraoperatív Doppler vizsgálattal, vagy angiographiával kontrolláljuk az elkészített bypassban és a kiáramlási pályában az áramlást. Sebzárást végzünk, majd a posztoperatív időszakban Na-heparin (APTI 2-3-szoros megnyúlás), vagy LMWH (terápiás adagban, testsúlytól függően), aspirin (100 mg/nap) és statin (20-40 mg/nap) adásával védjük a graftot a korai thrombosisától.

Gyakorlatunkban a térd fölé (femoro-poplitealis P1-P2 szakaszra) vezetett bypass műtéteknél érprotézist ültetünk be. A közép- hosszú távú graft nyitvamaradás tekintetében ugyan elmarad a vena saphena magna beültetésekor tapasztaltakkal, azonban az alapbetegség, az atherosclerosis progressziója miatt inkább meghagyjuk a v. saphena magna-t egy későbbi esetleges femoro-poplitealis (P3 szakaszra), vagy femoro-cruralis bypass, vagy egy a graftról indított, térd alá vezetett vénás kiegészítés céljából.

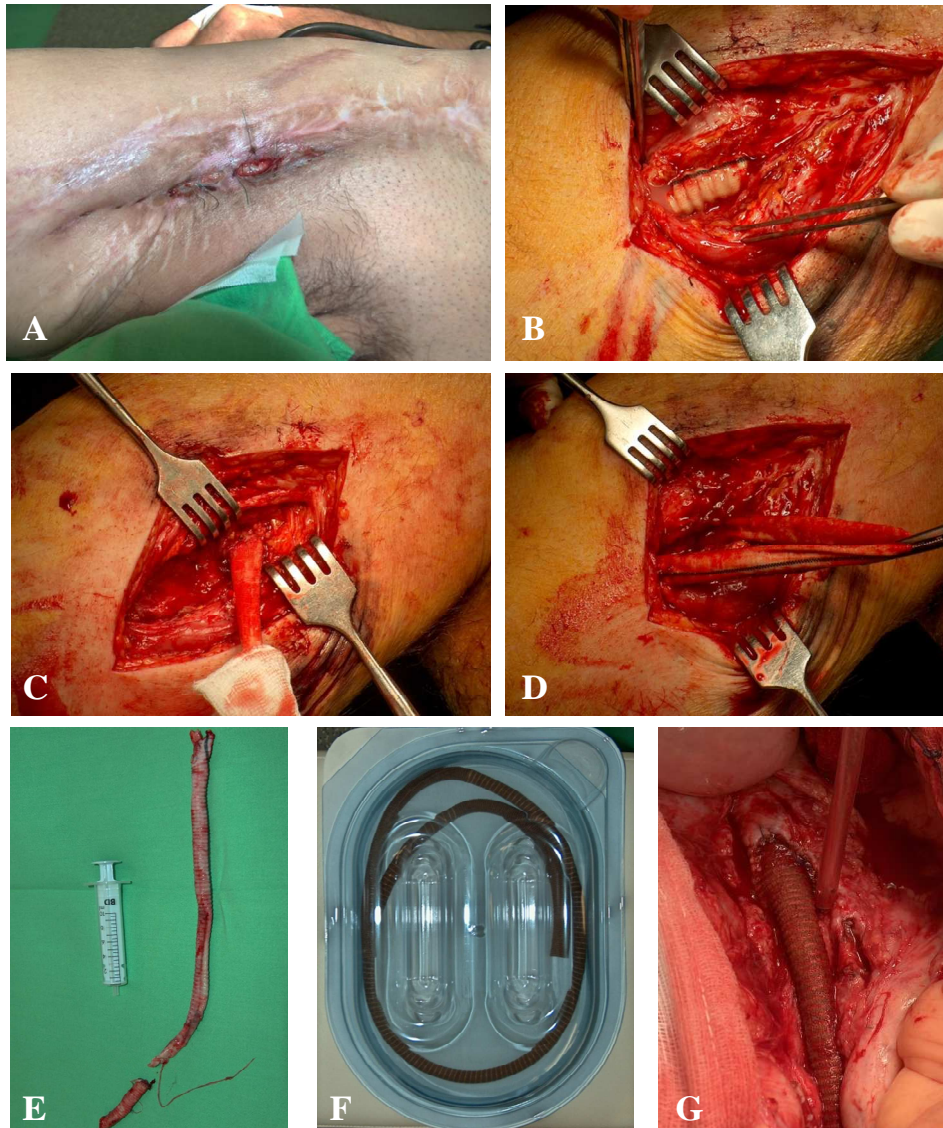
Az alsó végtagi bypass műtétek kapcsán szignifikáns különbségek vannak a különböző országok érsebészeti gyakorlatában, de akár egy országon belül is találkozhatunk jelentős eltérésekkel (Lees és mtsai, 2012).

Érprotézis beültetése után a graft thrombosis és a neointima hyperplasia a leggyakoribb oka az elzáródásnak. A bypass elzáródása függ a graft belfelszíne és a véráram közötti biocompatibilitás hiányától, a megváltozott áramlási viszonyoktól, a véráramlás sebességének változásától, a sebészi technikától (Haraguchi és mtsai, 2003; Lin és mtsai, 2004; Zhan és mtsai, 2010; Cavallaro és mtsai, 2013).

Műér beültetése aktiválhatja a véralvadási kaskád folyamatokat. Sauvage vezette be a thrombotic threshold velocity (TTV) fogalmát: a gyorsabb véráram növeli a nyíróerőket, melyek a graft belfelszínén jelentkeznek, ezzel csökkentve a thrombus kialakulását. A TTV fölötti áramlási sebesség véd a műér elzáródásától, míg a TTV alatti áramlási sebességnél thrombus alakul ki (Sauvage és mtsai 1979). Annak érdekében, hogy a beültetett érprotézisek minél tovább maradjanak nyitva, a gyártók folyamatosan végeznek kísérleteket, új termékeket vezetnek be. Ilyen innováció például a PTFE graft belfelszínének bevonása heparin molekulákkal (HePTFE) (Neville, Capone és mtsai, 2012), vagy a módosított „precuffed” ePTFE graft, melynek a distalis érpályához csatlakozó végét úgy alakítják ki, hogy a véráram haemodinamikája módosuljon, növelje az áramlási sebességet, csökkentve ezáltal a restenosis, a graft occlusio kialakulását (Loh és mtsai, 2013). Ennek érdekében számos gyártó dolgozik a meglévő antithromboticus terápiás lehetőség bővítésén: direkt-indirekt thrombin inhibitorok, nitrogén oxid, tissue factor inhibitor TFPI (rTFPI), Xa factor inhibitor, thrombomodulin és activált Protein C, génterápiával módosított graftok jó példák erre (Tatterton és mtsai 2010, Menu és mtsai, 2013).

A bypass műtétek korai szövődményei a graft elzáródás, vérzés, ér-, idegsérülés, sebgyógyulás, végtagvesztés. Késői szövődmények közé tartozik a thrombus, neointima

kialakulás miatti graft occlusio, graftgennyedés, varrat insufficienica, álaneurysma az anastomosisoknál. Graft gennyedés utáni reoperáció során vagy a beteg vena saphena magna-ját, vagy ennek hiányában ezüst-impregnált protézist ültetünk be (8. ábra).

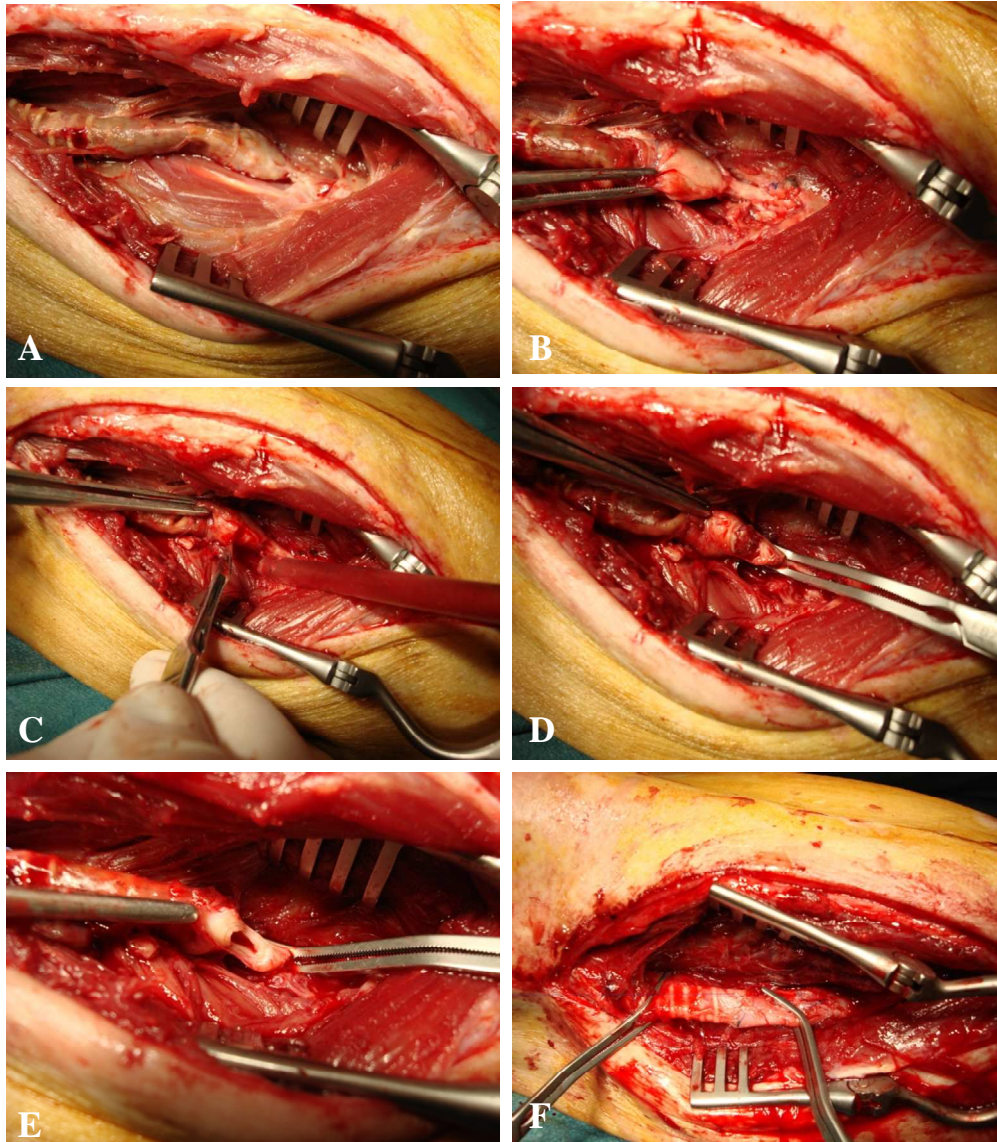


8. ábra

Sipolynyílás a distalis sebben (A), perigraft gennyedés (B), a suppurált műér eltávolítása (C, D, E), ezüst-impregnált graft (F) és annak beültetése (G). (A szerző fotóanyagából)

Graft elzáródás esetén választható műtéti beavatkozás az ún. redo operáció, mechanikus thrombectomia (9. ábra), szükség esetén új bypass készítése, a korábbi műtét kiterjesztése a P3-as szegmentumra, vagy cruralis-pedalis érszakaszra saját v. saphena magna felhasználásával. Ennek hiányában felső végtagi (v. basilica, v. cephalica), vagy alsó végtagi

(v. saphena parva) felületes véna alkalmazható. Emellett katéteres thrombolysis jön szóba, vagy a primer műtét előtt elzáródott a. femoralis superficialis endovascularis módszerrel történő kezelése stent, vagy stent-graft beültetéssel (Lensvelt és mtsai, 2012).



9. ábra

Gyűrűs PTFE graft occlusiója (A, B), a műtér megnyitása (C), a thrombus eltávolítása (D, E), a grafton ejtett metszés zárása (F) (A szerző fotóanyagából)

Egy viszonylag új módszerrel, az ún. Jetstream készülékkel is írtak le jó eredményeket az elzáródott graftok desobliterációjakor: a graftba vezetett készülékkel atherectomiát végeznek rotáló-aspiráló technikával (Obon-Dent és Hernandez-Vila, 2013).

Fentiekkel szeretnék átfogó képet nyújtani az alsó végtagi érsebészeti műtétek, endovascularis-, hibrid beavatkozások jelenlegi helyzetéről, szerteágazó szakmai háttéréről. Ezek a beavatkozások szerte a világban jelenleg is az érsebészeti tevékenység nagy részét képezik sokszor jelentős diagnosztikai, műtétttechnikai kihívás elé állítva a kezelőorvost.

Ideális megoldás egyelőre nincs, de a kutatás, fejlesztés a minden szempontból megfelelő érprotézis előállítására folytatódik (Jung és mtsai, 2013; Menu és mtsai, 2013).

2.2. VÉRÁRAMLÁSTANI TÉNYEZŐK

Az előzőekből is kiderül, hogy a graftok hosszú távú nyitvamaradásában vagy éppen a szövődmenylehetőségek kialakulásában a véráramlási tényezőknek komoly szerepe van. A haemorheologia a vér alakos és a sejttes komponenseinek valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal makro- és mikroszkópikus áramlástanának tudománya (Copley, 1985). A macro-rheologiai paraméterek közé a teljes vér és plazma viszkozitás, a haematocrit értékét sorolható, míg a vörösvérsejtek aggregációja és deformabilitása micro-rheologiai paraméter.

2.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás

A deformabilitás a vörösvérsejtek erő határa történő passzív alakváltozási képessége, amelynek mértéke a sejtekre ható nyíróerő irányának és nagyságának függvényében változik. A keringés ún. tömeges áramlási zónájában (érátmérő $>300\ \mu\text{m}$) a sejtek nyíróerő hatására történő elnyúlása csökkenti a vér viszkozitását. A deformabilitási tulajdonság a sejt rugalmasságával hozzájárul az erythrocyta aggregációhoz is. A microcirculatio területén a deformabilitásnak nagy jelentősége van, hiszen a $3\text{-}5\ \mu\text{m}$ átmérőjű microcapillárisokon, csak elnyújtott formában képesek áthaladni. Romló deformabilitás a vér viszkozitásának növekedéséhez és szöveti perfusiós zavarokhoz vezethet (Mohandas és Chasis, 1993; Baskurt és Meiselman, 2003; Popel és Johnson, 2005; Baskurt, 2007).

A vörösvérsejtek deformabilitás fő meghatározói a sejtmembrán viszkozitása, az intracellularis viszkozitás (haemoglobin-tartalom), a sejt térfogat, a felület/térfogat arány, és morfológiai jellemzők (Meiselman, 1981; Chasis és Mohandas, 1986; Hochmuth és Waigh, 1987; Mohandas és Chasis, 1993; Bogár, 1999; de Oliveira és Saldanha, 2010).

2.2.2. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejtek stasis vagy alacsony sebesség-gradiens mellett bekövetkező reverzibilis összekapcsolódása az aggregatio. A folyamat első másodperceiben az egymás mellé kerülő vörösvérsejtek lineális vonalban tapadnak össze, pénztekercsekhez hasonló formát kialakítva („rouleaux”), amelyek különböző méretű és formájú, háromdimenziós aggregatumokká állnak össze. Az aggregatiós folyamat fokozódik amennyiben a disaggregáló erők (a vörösvérsejtek közötti elektrosztatikus repulziós erő, a sejtmembrán elasztikus energiája, és magasabb sebesség-gradiens) eredője kisebb az aggregatio erők (sejtfelszíni glycocalyx összetételéből és a plazma nagy, elágazó térszerkezetű molekuláinak plazma koncentrációja és a membránközeli deplétiós zóna következtében kialakuló ozmotikus gradiens mértéke, a fibrinogén molekulák nem-kovalens kötődése) összeredőjéhez képest (Neu és Meiselman, 2007; Baskurt és mtsai, 2012). A fokozott aggregatio növeli a vér viszkozitását, a microcirculatio területén nagyobb disaggregatiós energiát követel a keringéstől, az axiális áramlás fokozódása révén csökken az érfal mentén a súrlódási ellenállás, csökken a szöveti haematocrit, amelyek összeredőjeként a vascularis rezisztencia fokozódik (Baskurt és Meiselman, 2007; Baskurt, 2008).

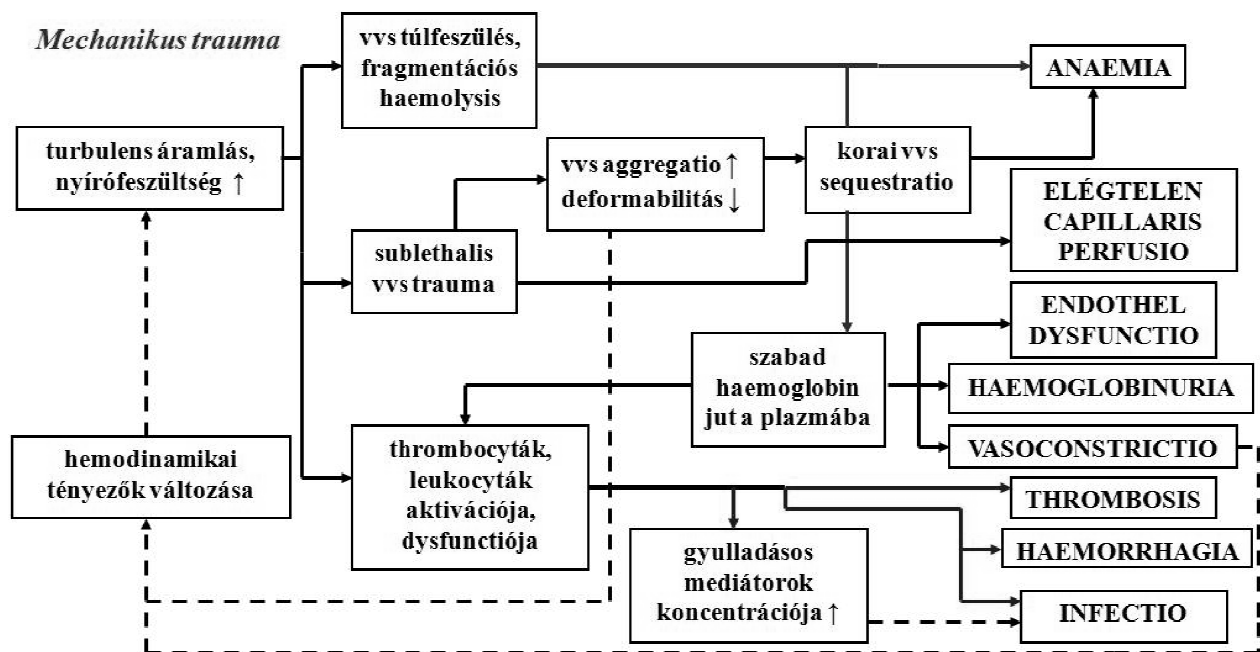
2.2.3. A vörösvérsejtek mechanikus traumája, membránstabilitási tényezők

A vörösvérsejtek a keringésben eltöltött életük során állandó mechanikai hatásnak vannak kitéve a haemodinamikai erők, és az igen széles tartományban változó nyírófeszültség

és sebesség-gradiens értékek által (Lipowsky, 2005; Bhattachariya, 2011; Baskurt és mtsai, 2012; Chandran és mtsai, 2012). A vörösvérsejtek membránstabilitása az a tulajdonság, amely kifejezi, hogy a sejtekre ható erők milyen hatással vannak a deformabilitás változására.

Az extracorporalis keringés, a haemodialysis, a beültetett érgaftok, érprotézisek, műbillentyűk mindegyike a haemocompatibilitási fokuk ellenére olyan mechanikus stresszt okoz, amely jelentősen eltér a fiziológiás körülményektől. A kérdés mindig a tolerálhatóság határa, az extrafiziológiás mechanikus stressz mértéke (Brinsfield és mtsai, 1962; Hirayama és mtsai, 1985; Esquivel és Blaisdell, 1986; Kameneva és mtsai, 1995; Sakota és mtsai, 2008; Chiu és mtsai, 2009; Papp és mtsai, 2011; Menu és mtsai, 2013).

A megnövekedett nyírófeszültség, a kavitáció, a sejtek rigid falhoz való ütközése, a semi-turbulenssé (ritkán turbulenssé) váló áramlás, azok mértékétől függően egymásra kölcsönösen ható folyamatokat indít be (Blackshear és Blackshear, 1987; Yedgar és mtsai, 2002; Kameneva és Antaki, 2007) (10. ábra).



10. ábra

Mechanikus trauma hatására bekövetkező vörösvérsejt károsodáshoz vezető folyamatok és annak következményei (Kameneva és Antaki, 2007)

A trauma mértékétől függően haemolysis, leukocyta és thrombocyta aktiváció, a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenése és aggregációjának növekedése, a sejtek sublethalis traumája következhet be. A sublethalis trauma tartományát a nyírófeszültség nagysága és az expozíciós idő hossza határozza meg (Leverett és mtsai, 1972; Sandza és mtsai, 1974; Kameneva és mtsai, 1995; Lee és mtsai, 2004). Sublethalis trauma során a sejtek haemolysise még nem következik be, de a micro-rheologiai paraméterek romlása már kimutatható, ami a stressz nagyságától függően lerövidíti a vörösvérsejt élettartamát (Baskurt, 2007; Kameneva és Antaki, 2007).

Prof. Oguz K. Baskurt (1956-2013) a membránstabilitás méréséről a következőket jegyezte le: *„A vörösvérsejtek subhaemolyticus károsodásának pontos mennyiségi meghatározása fontos elsősorban olyan tanulmányok esetében, amelyek célja a vérrel érintkező mesterséges szervek és orvosi eszközök által okozott a vérben bekövetkező károsodások kiértékelése. Emellett a vörösvérsejtek subhaemolyticus szintű mechanikai trauma alapján a vizsgálati protokollok és modellek segíthetnek a tervezőknek, hogy - tekintettel a vérsejtek traumájára- a mesterséges keringési rendszerek biztonsági határait fejlesszék.”* (Baskurt, 2012)

A mechanikus stressz okozta micro-rheologiai romlás vizsgálatakor azonban azt is figyelembe kell venni, hogy a mechanikus stressz a vörösvérsejt micro-rheologiai tulajdonságait adott tartományban akár javíthatja is (Bor-Kucukatay és mtsai, 2003), aminek kialakításában a nitrogén-monoxid (NO) játszik szerepet. A deformabilitásra jótékonyan ható NO szintetizálódhat az endothelsejtekben, valamint magukban az erythrocytáknak is (Bor-Kucukatay és mtsai, 2003; Ulker és mtsai, 2009; Meram és mtsai, 2013).

2.2.4. Micro-rheologiai vizsgálatok jelentősége az ér-graft beültetés vonatkozásában

Különböző szintetikus ér-graftok beültetése kapcsán a bio- és haemocompatibilitás kiemelten fontos tényezők (Johnson és mtsai, 2011; Jung és mtsai, 2013; Menu és mtsai, 2013), ugyanakkor a keringő vörösvérsejtekre ható mechanikus stressz megkérdőjelezhetetlen haemorheologiai nézőpontot jelent, főleg a kis-átmérőjű graftok esetén (Esquivel és Blaisdell, 1986; Chiu és mtsai, 2009 és 2011). Művi kis-átmérőjű graftok implantációja után a korai elégtelenség aránya sajnos még mindig magas a klinikai gyakorlatban (e.g., Rutherford, 2000; Tatterton és mtsai, 2012). A graft átmérője, hosszúsága, geometriája, pozíciója, anastomosis viszonyai, esetleges torzulása, csavarodása, valamint a lumen beszűkülése a neointima kialakulása és proliferációjával, és/vagy thrombus képződés révén; mind hatással vannak a mechanikus stressz mértékének kialakításában (Esquivel és Blaisdell, 1986; Rutherford, 2000; McGah és mtsai, 2012).

Feltételeztük, hogy a micro-rheologiai paraméterek, beleértve a vörösvérsejt deformabilitás- és a membrán (mechanikus) stabilitási jellemzőket, romlást mutathatnak a korai posztoperatív időszakban, és jelentőségük lehet a lehetséges komplikációk előrejelzésében illetve kimutathatóságában.

3. CÉLKITŰZÉSEK

1. Célünk az volt, hogy vizsgáljuk a kis kaliberű művi PTFE graft arteria femoralis szakaszba való beültetésének és jelenlétének hatását a haematologiai, coagulációs és haemorheologiai paraméterekre, különös tekintettel a vörösvérsejt aggregációra, deformabilitásra és membrán (mechanikus) stabilitásra két hetes követéses időszakra vonatkozóan beagle kutyákon.
2. A vörösvérsejt mechanikus stabilitási teszt alkalmazásakor vizsgálni kívántuk a különböző nyírófeszültség nagyság és expozíciós idő hatását a mintákra, a sublethális vérsejt trauma micro-rheologiai hatásának jobb tanulmányozhatósága céljából.
3. A két hetes követéses periódus végén a graftokat magába foglaló érszakaszok geometriai és histomorphologiai elemzése.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Kísérleti állatok és műtéti protokoll

Az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” szülő törvény előírásait betartva, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság (DE MÁB) által 20/2011. számon nyilvántartásba vett hatósági engedéllyel végeztük a kísérletet, az érsebészeti jellegű követéses vizsgálatra alkalmas állatfajon.

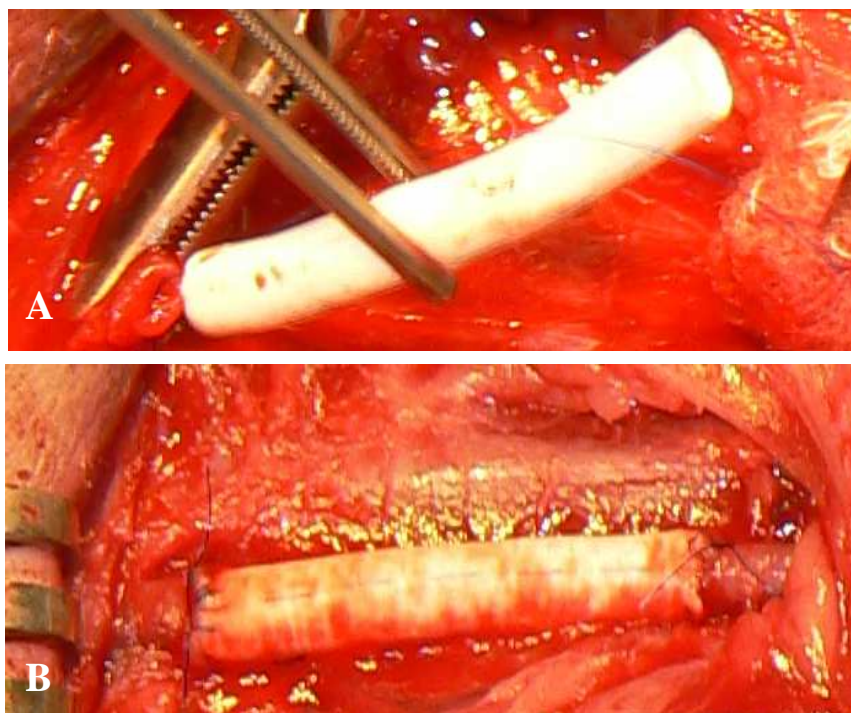
Kilenc felnőtt beagle kutya (származási hely: Wobe Kft., Magyarország; testtömeg: $10,8 \pm 1,3$ kg) került két órás altatásra (10 mg/kg ketamin + 0,1 mg/kg xylazin, i.m.).

Az Érgraft csoportban (n=5) a bal oldalon feltárássra került az arteria femoralis, amelyből egy 3,5 cm-es szakasz eltávolítása után, annak helyére azonos hosszúságú, 3 mm külső átmérőjű politetrafluoroetilén graft (PTFE, Atrium Co.) került beültetésre. A beültetés 6/0-s polypropylen varróanyag használatával, end-to-end anastomosissal történt (11. ábra). Az érkirekesztés időtartama $25 \pm 3,1$ perc volt. A Kontroll csoportban (n=4) csak altatás történt.

Anticoaguláns kezelésként a műtét alatt intravénásan 1000 NE Na-heparint, az 1. és a 3. postoperatív napokon pedig subcutan 500 NE enoxaparint (Clexane[®]) alkalmaztunk mindkét csoportban. Fájdalomcsillapításként 1 ml/10 ttkg metamizolt (1 g / 2 ml Algopyrin[®]) használtunk intramusculárisan, közvetlenül az operáció után és az 1. postoperatív napon.

4.2. Posztoperatív fizikális vizsgálatok

Bőrhőmérséklet mérése a műtét végén, valamint az 1., 3., 5., 7. és 14. postoperatív napon történt a műtött és nem műtött (kontroll oldal) végtagon, mindkét csoportban. Az abszolút értékeken kívül kiszámításra került a műtött és nem műtött végtag bőrhőmérsékletének egymáshoz viszonyított arányszáma is. A naponkénti sebellenőrzés és a kapcsolódó sétáltatás során a járás obszerválása történt lehetséges fájdalomra, keringési problémára utaló jeleket figyelve.



11. ábra

Az a. femoralis egy 3,5 cm-es szakaszának excízióját követően az azonos hosszúságú, 3 mm külső átmérőjű PTFE érgraft pozicionálása (A) és tova futó varratokkal való end-to-end anastomizálása (B)

4.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A vérvételek a mérésekhez a műtét előtt, valamint az 1., 3., 5., 7., és 14. postoperatív napok reggelén, a vena cephalica punctiója révén, zárt rendszerrel történtek mindkét csoportban. A laktát, vér pH, haematologiai és haemorheologiai vizsgálatokra K₃-EDTA-t (1,8 mg/ml, Vacutainer[®]), a coagulációs vizsgálatokra Na-citrátot (0,129 M, Vacutainer[®]) tartalmazó csövekbe vettük a vért.

4.3.1. Laktát koncentráció és vér pH

A laktát koncentráció (mmol/l) és a vér pH meghatározására vérgáz analizátor automatát használtunk (ABL555 Radiometer Copenhagen, Denmark). A vérminták, zárt rendszerben közvetlenül a készülékbe fecskendeztük, kerülve a levegővel való közvetlen érintkezést.

4.3.2. Coagulációs idő paraméterek és fibrinogén koncentráció

A vér coagulációs időparaméterek, mint a prothrombin idő (PI [s]), az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI [s]), továbbá a fibrinogén koncentráció (Fbg [g/dl]) meghatározása Sysmex CA-500 automata coagulométerrel történt (TOA Medical Electronics Co., Japán).

4.3.3. Haematológiai paraméterek

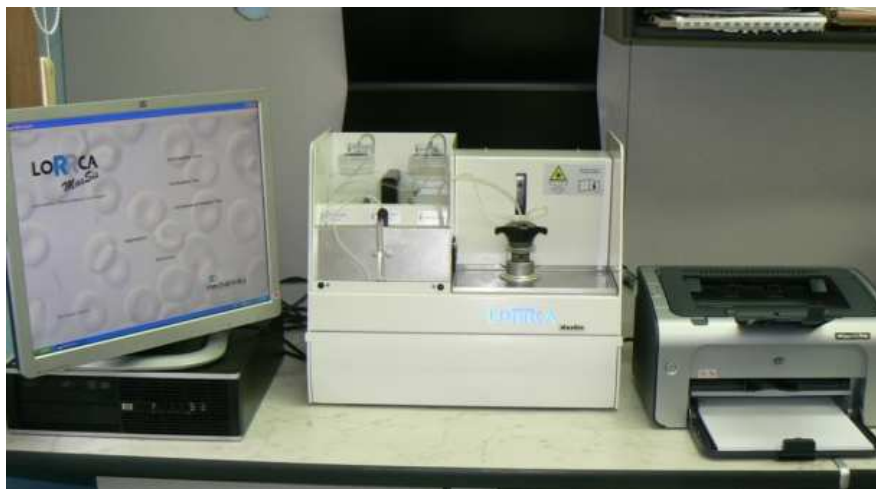
Sysmex F-800 típusú haematológiai automatával (TOA Medical Electronics Co., Japán) határoztuk meg az általános haematológiai paramétereket: fehérvérsejtszám (Fvs [$10^3/\mu\text{l}$]), vörösvérsejtszám (Vvs [$10^6/\mu\text{l}$]), haemoglobin koncentráció (Hgb [g/dl]), haematocrit (Htc [%]), átlagos vörösvérsejt térfogat (mean corpuscular volume, MCV [fl]), átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (mean corpuscular hemoglobin, MCH [pg]), átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC [g/dl]), thrombocyta szám (Thr [$10^3/\mu\text{l}$]), lymphocyta és monocyta + granulocyta %, vörösvérsejt eloszlási szélesség variációs koefficiens (red cell distribution width coefficient of variation, RDW-CV [%]) és átlagos thrombocyta térfogat (mean platelet volume, MPV [fl]).

4.3.4. Vörösvérsejt deformabilitás és mechanikai stabilitás teszt

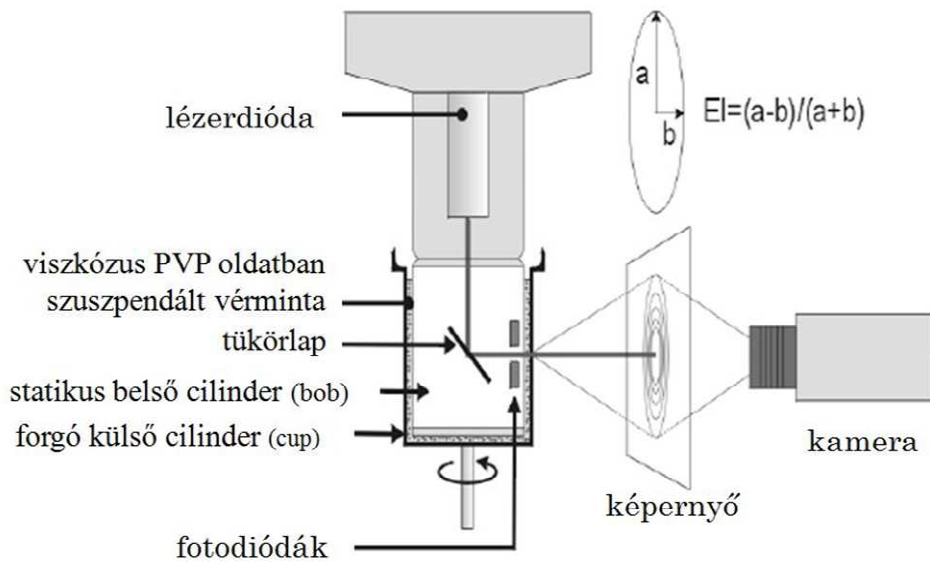
A vörösvérsejt deformabilitást és a membrán stabilitást LoRRca MaxSis Osmoscan (Mechatronics BV, Hollandia) ektacytométerrel mértük (12. ábra A).

A *deformabilitás méréshez* a vérmintát (5 μl) nagy viszkozitású isotoniás polyvinyl-pyrrolidon (PVP, 360 kDa) oldatban (1 ml; viszkozitás: 26-28 mPas, osmolalitás: 290-300 mOsm/kg, pH: ~7,3) szuszpendáltuk, majd a mintát a statikus belső és a forgó külső cylinder közötti térbe töltöttük (12. ábra B). A rendszer meghatározott sebesség-gradienssel forgómozgást végez, eközben a mintára lézernyaláb vetül. A nyírófeszültség a viszkózus közegben áttevődik a vörösvérsejtekre, amelyek az erő irányába rendeződnek és elnyúlnak.

Az elongatio során a lézernyaláb sejtekről (sejt-közeg határról) való szórodási iránya megváltozik. A megjelenő diffrakciós mintát kamera rögzíti és a készülék szoftvere analizálja a diffraktogram hosszát (a) és szélességét (b), amelyből adott nyírófeszültség mellett kiszámolja az elongációs indexet (EI): $EI = (a-b)/(a+b)$ (Hardeman és mtsai, 2007; Baskurt, Boynard és mtsai, 2009) (12. ábra B).



A

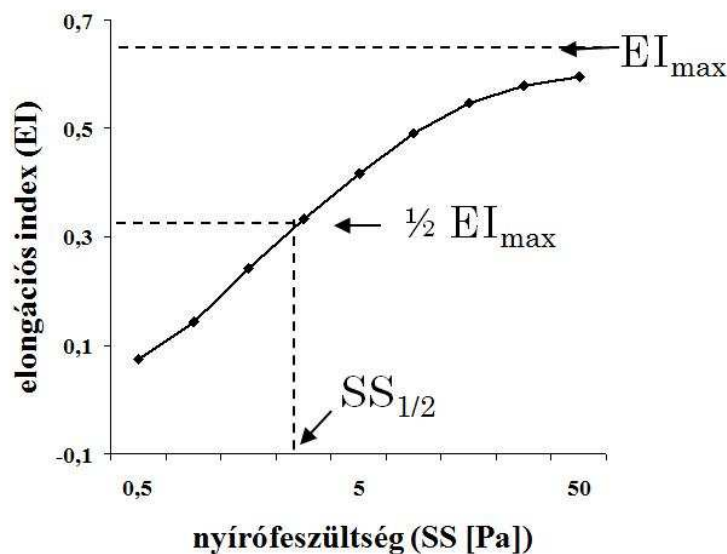


B

12. ábra

A LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometer (A) és működési elve (B) (Hardeman és mtsai, 2007, ábrája alapján)

Adott nyírófeszültségnél a nagyobb elongációs index a sejtek jobb elnyújthatóságát, jobb deformabilitását jelzi. Az elongációs index – nyírófeszültség görbék összehasonlítására a Lineweaver-Burke féle analízist használtuk (13. ábra). A kalkuláció során meghatározásra került a maximális elongációs index (EI_{\max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség (shear stress, SS) érték ($SS_{1/2}$ [Pa]) $1/EI = SS_{1/2}/EI_{\max} \times 1/SS + 1/EI_{\max}$. Deformabilitás romlást jelez az EI_{\max} csökkenése és az $SS_{1/2}$ emelkedése (Baskurt, Hardeman és mtsai, 2009).



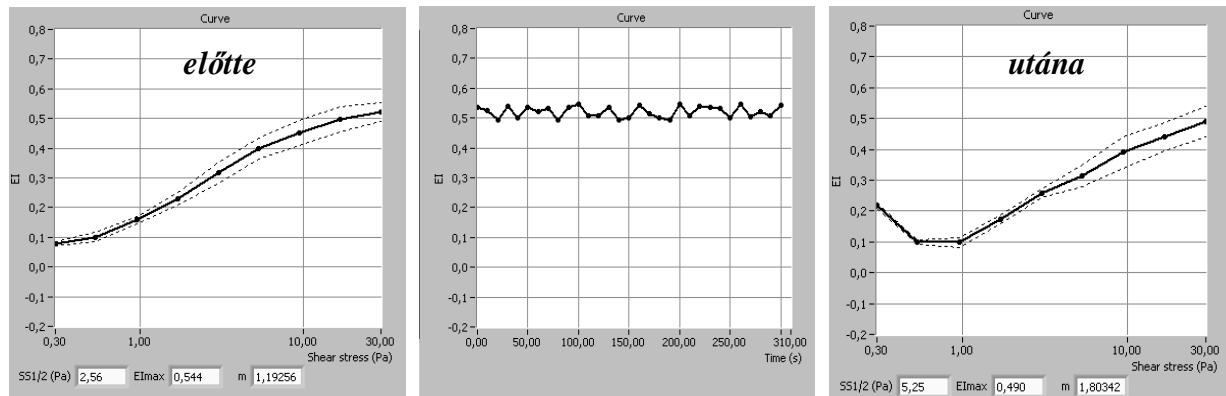
13. ábra

A maximális elongációs index (EI_{\max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ($SS_{1/2}$ [Pa]) értelmezése az ektacytometriás mérések során nyert görbék parametrizálásaként

A *membrán stabilitás (mechanikus stabilitás) teszt* nem azonos a klasszikus mechanikus fragilitás teszttel (Cooper és mtsai, 1968). A mechanikus stabilitás teszt során két hagyományos deformabilitás mérés történik, amelyek között adott nagyságú és időtartamú nyírófeszültséggel zajlik a mechanikus stressz előidézése (Baskurt és Meiselman, 2013) (14. ábra). Az expozíciós idő és a nyírófeszültség nagysága változtatható. Vizsgálataink során két kombinációt alkalmaztunk:

- nagyság: 60 Pa, expozíciós idő: 300 másodperc
- nagyság: 100 Pa, expozíciós idő: 300 másodperc

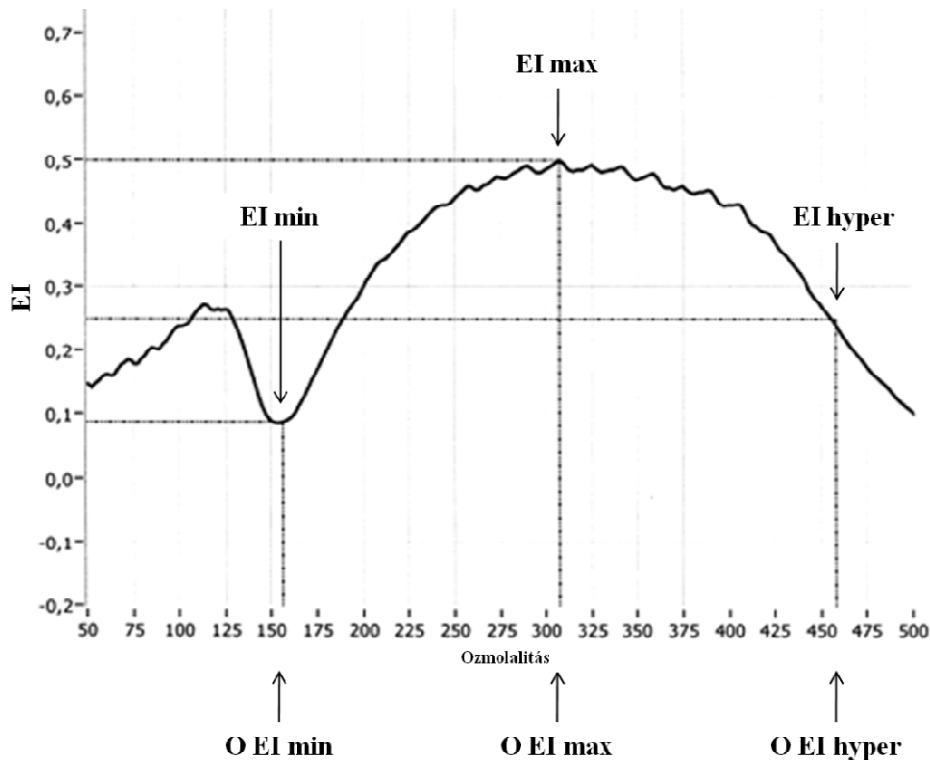
A kapott elongációs index-nyírófeszültség görbék analízise a fentiekben ismertetett módon történik. Kiszámítottuk továbbá a mechanikus stressz előtti és után értékek egymáshoz viszonyított arányát is.



14. ábra

A membránstabilitás teszt alkalmazása során kapott reprezentatív kép: adott időtartamig adott nyírófeszültséggel alkalmazott mechanikus stressz során monitorozott elongációs index értékek (középen), valamint a stressz alkalmazása előtt és után meghatározott elongációs index – nyírófeszültség görbék.

Az ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérésekhez 250 μ l mennyiségű vért szuszpendáltunk 5 ml PVP oldatban. A módszer során az elongációs index mérése állandó nyírófeszültség mellett (30 Pa) történik, miközben a szuszpendáló közeg ozmolalítása változik. Ezt a vér-PVP szuszpenzió, valamint 0 és 500 mOsmol/kg ozmolalítású PVP oldat folyamatos adagolásával éri el a készülék. Az így kapott elongációs index-oszolalítás görbék az alábbi paraméterekkel jellemezhetőek: maximális EI (EI max) –ami nem azonos a Lineweaver-Burke féle analízissel nyert EI_{max} értékkel–, az EI max felét adó EI érték a hyperosmolaris irányban (EI hyper), minimális EI érték a hypoosmolaris irányban (EI min), az ezekhez tartozó ozmolalítás értékek (O EI max, O EI hyper, O EI min), valamint a görbe alatti területből számolt Area (Clark és mtsai, 1983; Hardeman és mtsai, 2007) (15. ábra).



15. ábra

Ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérés által kapott görbe (EI= elongációs index, EI min= minimális EI, EI max= maximális EI, EI hyper= EI max feléhez tartó EI érték magasabb ozmolalítás tartományban, O EI min= ozmolalítás minimális EI-nél, O EI max= ozmolalítás maximális EI-nél, O EI hyper= ozmolalítás EI hyper-nél).

4.3.5. Vörösvérsejt aggregatio

Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometert használtunk a vörösvérsejtek aggregatio meghatározására (Myrenne GmbH, Németország). A módszer a vörösvérsejt aggregatio létrejöttkor a vérminta fényáteresztőképesség változásának mérésén alapul (Schmid-Schönbein módszer). A mérésekhez mindössze 20 μ l anticoagulált vérminta szükséges.

A mérések során a készülék 600 s^{-1} sebesség-gradiensén disaggregatiót végez, majd a sebesség-gradiens hirtelen nullára (M mód) vagy 3 s^{-1} -re (M1 mód) csökken. Stasisnál, illetve alacsony sebesség-gradiensnél megindul a vörösvérsejtek aggregatiója. A vérminta fényáteresztőképességének változása alapján (disaggregatio: alacsony fénytranszmisszió, aggregáló vörösvérsejtek: nagyobb fénytranszmisszió), a készülék aggregációs indexet

számít a folyamat 5., illetve 10. másodpercében. Fokozott vörösvérsejt aggregatio esetén ezek az index paraméterek (M 5s, M1 5s, M 10s, M1 10s) növekednek (Hardeman és mtsai, 2007).

4.4. Szöveti vizsgálatok

A 14. postoperatív napon általános anaesthesiában feltárássra került mindkét oldali femoralis regio és a graft a proximális és disztális anastomosissal és néhány mm-es ép érszakasszal együtt *en block* excisióra került. Az ellenoldali intakt arteria femoralis egy 3-4 cm-es szakasza szintén kimetszésre került. A mintákat 10%-os formalinban fixáltuk, majd a hagyományos dehidrációs és beágyazási protokoll után mikrotómmal 5 µm-es metszetek készültek, majd haematoxylin-eosin festés és CD31 immunohisztokémiai jelölés készült.

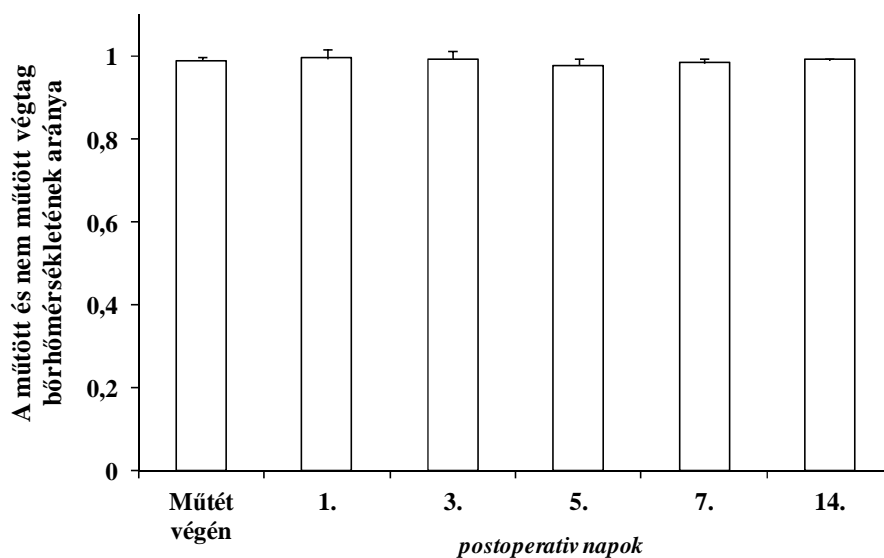
4.5. Statisztikai analízis

A statisztikai elemzést SigmaStat (Systat Software Inc., San Jose, California, USA) szoftverrel végeztük. Az adatokat átlag ± szórás (S.D.) formájában jelenítettük meg. Bár az esetszám állatkíméleti szempontok miatt viszonylag alacsony volt, a csoportok közötti összehasonlításhoz Student-féle t-tesztet vagy Mann-Whitney RS tesztet, a csoportokon belül elemzésre egyirányú ANOVA tesztet (Dunn vagy Bonferroni módszer) használtunk, függően az adateloszlástól. A szignifikancia szintet $p < 0,05$ értéknél állítottuk be.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Postoperatív fizikális vizsgálatok, bőrhőmérséklet

Mindegyik kísérleti állat túlélte a műtétet, a kétételes periódus során nem volt elhullás. Sem korai, sem késői műtéti komplikációt nem tapasztaltunk. Az állatok mozgása normális, zavartalan volt a kétételes követési periódus alatt, végtagkeringési problémára utaló jelet nem láttunk. A műtött és a nem műtött végtag hőmérsékletének aránya gyakorlatilag változatlan volt a megfigyelési időszak alatt (16. ábra).



16. ábra

A műtött és nem műtött végtagok bőrhőmérsékletének egymáshoz viszonyított aránya az Érgraft csoportban.

5.2. Laktát koncentráció és vér pH

A laktát koncentráció a Kontroll csoportban az 1. és a 3. postoperatív napra kismértékben emelkedett. A második hét végére csökkent ($p=0,029$ vs. alap). Az Érgraft csoportban már az 1. napra jelentősen csökkent a laktát koncentráció, és a követéses periódus alatt mindvégig a Kontroll csoport értékeitől szignifikánsan elmaradtak (1. nap: $p<0,001$, 3. nap: $p=0,023$, 5. nap: $p=0,035$) (III. táblázat).

A vér pH egyik csoportban sem változott jelentősen. Kontroll csoportban kismértékű csökkenés látszott az 1. és 3. napon (III. táblázat).

III. táblázat. A laktát koncentráció és a vér pH változása a Kontroll és az Érgraft csoportban

| Paraméter | Csoport | Alap | Postoperatív napok | | | | |
|--------------------|----------|----------------|--------------------|------------------|------------------|----------------|------------------|
| | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| laktát [mmol/l] | Kontroll | 2,42 ± 0,66 | 2,72 ± 0,38 | 2,82 ± 0,98 | 2,2 ± 0,49 | 2,12 ± 0,59 | 1,2 ± 0,27* |
| | Érgraft | 2,16 ± 0,75 | 1,46 ± 0,28 # | 1,48 ± 0,33 # | 1,48 ± 0,33 # | 1,58 ± 0,52 | 1,18 ± 0,19 * |
| pH | Kontroll | 7,31 ± 0,05 | 7,24 ± 0,11 | 7,26 ± 0,04 | 7,29 ± 0,03 | 7,29 ± 0,04 | 7,34 ± 0,02 |
| | Érgraft | 7,29 ± 0,03 | 7,31 ± 0,01 | 7,29 ± 0,03 | 7,3 ± 0,03 | 7,32 ± 0,03 | 7,3 ± 0,01 |

átlag ± S.D., * p<0,05 vs. alap; # p<0,05 vs. Kontroll

5.3. Haematologiai paraméterek

A IV. számú táblázat a haematologiai paraméterek változását foglalja össze.

A fehérvérsejtszám az 1. postoperatív napra mindkét csoportban megemelkedett (p<0,001 vs. alapértékek), az Érgraft csoportban nagyobb mértékben (p=0,002 vs. Kontroll). A Kontroll csoportban a sejtszám hamar normalizálódott, míg az Érgraft csoport értékei emelkedettek maradtak az első hét végéig (3. napon: p=0,019, 5. napon: p=0,0015, 7. napon: p=0,016 vs. alap). A monocyta-granulocyta arány 60-70% között maradt, kivételt az 5. és a 7. nap jelentett, amikor az értékek ennél magasabbak voltak (81,73 ± 3,78 % és 74,3 ± 3,98 %).

A thrombocyta szám az Érgraft csoportban folyamatosan emelkedett a megfigyelési időszak alatt. Az emelkedés szignifikáns volt a 3. postoperatív naptól mind az alapértékekhez (5. napon: p=0,015, 7. napon: p=0,001, 14. napon: p<0,001), mind a Kontroll csoport értékeihez viszonyítva (3. napon: p=0,03, 5. napon: p=0,046, 14. napon: p=0,003).

A vörösvérsejtszám kismértékben csökkent a kétételes követéses periódus során a Kontroll csoportban (az 1. postoperatív napon p=0,002, a 7. napon, p=0,018, a 14. napon p=0,003 az alapértékekhez képest). Az Érgraft csoportban hasonló tendencia mutatkozott (a 3. napon p=0,021, az 5. napon p=0,033, a 7. napon p<0,001, a 14. napon p=0,038 az alapértékekhez képest), mérsékelten alacsonyabb értékeket mutatva a Kontroll csoporthoz képest a 3. napon (p=0,046), valamint a 7. napon (p=0,049).

IV. táblázat. A haematologiai paraméterek változása a Kontroll és az Érgraft csoportban

| Paraméter | Csoport | Alap | Postoperatív napok | | | | |
|-------------------------------|----------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| Fvs [x10 ³ /μl] | Kontroll | 10,82 ± 1,49 | 14,67 ± 2,08 * | 12,91 ± 1,87 | 12,21 ± 2,37 | 13,48 ± 1,34 * | 11,2 ± 0,99 |
| | Érgraft | 11,41 ± 1,27 | 22,49 ± 5,34 *# | 15,46 ± 4,04 * | 14,68 ± 3,1 * | 13,49 ± 2,13 * | 71,2 ± 2,8 |
| Thr [x10 ³ /μl] | Kontroll | 229,5 ± 39,7 | 229 ± 58,7 | 255 ± 70,5 | 300,1 ± 95,1 | 333,1 ± 117,2 | 332,7 ± 100,2 |
| | Érgraft | 284,9 ± 94,3 | 331,2 ± 152,7 | 400,7 ± 145,5 # | 391 ± 82,1 *# | 433,2 ± 77,8 * | 477,9 ± 74,4 *# |
| Vvs [x10 ⁶ /μl] | Kontroll | 7,48 ± 0,67 | 6,68 ± 0,21 * | 7,24 ± 1,23 | 6,85 ± 0,68 | 6,52 ± 0,76 * | 6,28 ± 0,64 * |
| | Érgraft | 6,9 ± 0,45 | 6,49 ± 0,54 | 6,31 ± 0,62 *# | 6,28 ± 0,72 * | 5,85 ± 0,57 *# | 6,38 ± 0,58 * |
| Htc [%] | Kontroll | 51,8 ± 1,96 | 47,35 ± 1,27 * | 47,75 ± 2,11 * | 48,78 ± 3,97 | 45,91 ± 4,74 * | 44,76 ± 3,7 * |
| | Érgraft | 47,75 ± 1,63 | 45,02 ± 2,61 # | 43,45 ± 3,34 *# | 43,57 ± 4,3 *# | 41,34 ± 3,34 *# | 45,41 ± 3,94 |
| MCV [fl] | Kontroll | 70,9 ± 1,59 | 70,83 ± 1,12 | 71,93 ± 2,29 | 71,3 ± 1,74 | 70,5 ± 1,48 | 71,41 ± 2,18 |
| | Érgraft | 69,29 ± 2,33 | 68,28 ± 3,4 | 69,03 ± 2,31 # | 69,53 ± 2,2 | 70,76 ± 2,71 | 71,2 ± 2,8 |
| Hgb [g/dl] | Kontroll | 14,68 ± 0,39 | 14 ± 0,56 | 14,07 ± 0,74 | 14,06 ± 0,91 | 13,33 ± 1,22 * | 13,08 ± 1,02 * |
| | Érgraft | 13,61 ± 0,62 | 13,34 ± 0,99 | 12,5 ± 1,13 # | 11,96 ± 1,35 *# | 11,95 ± 0,96 *# | 12,31 ± 0,79 * |
| MCH [pg] | Kontroll | 19,72 ± 1,41 | 20,93 ± 0,76 | 19,78 ± 2,34 | 20,57 ± 0,93 | 20,51 ± 0,81 | 20,87 ± 0,66 |
| | Érgraft | 19,74 ± 0,79 | 20,01 ± 1,04 | 19,85 ± 0,58 | 19,15 ± 1,78 # | 20,45 ± 0,63 | 19,34 ± 1,06 # |
| MCHC [g/dl] | Kontroll | 27,45 ± 1,34 | 29,56 ± 0,67 | 27,47 ± 2,87 | 28,85 ± 0,95 | 29,1 ± 0,71 | 29,25 ± 0,53 |
| | Érgraft | 28,5 ± 0,69 | 28,8 ± 0,75 | 28,75 ± 0,74 | 27,51 ± 2,37 | 28,93 ± 0,77 | 27,21 ± 1,76 # |
| RDW-CV [%] | Kontroll | 14,21 ± 0,31 | 13,96 ± 0,19 | 14,03 ± 0,5 | 14,18 ± 0,25 | 14,12 ± 0,25 | 14,55 ± 0,38 |
| | Érgraft | 13,84 ± 0,46 | 13,96 ± 0,64 | 14 ± 0,47 | 13,94 ± 0,53 | 14,1 ± 0,54 | 13,94 ± 0,69 |

átlag ± S.D., * p<0,05 vs. alap; # p<0,05 vs. Kontroll

A haematocrit értékek a vörösvérsejtek számbéli változását is tükrözve csökkentek a követéses periódus során mindkét csoportban. A Kontroll csoportban: az alapértékekhez képest $p < 0,001$ az 1. napon, $p = 0,006$ a 3. napon, $p = 0,011$ a 7. napon és $p = 0,002$ a 14. napon; az Érgraft csoportban: $p = 0,016$ az 1. napon, $p = 0,029$ a 3. napon, $p = 0,036$ az 5. napon és $p < 0,001$ a 7. napon. Az Érgraft csoport értékei alulmaradtak a Kontroll csoportéhoz képest a 3., 5. és 7. napon ($p = 0,014$, $p = 0,018$ és $p = 0,029$).

Az MCV értékek nem mutattak jelentős eltéréseket. Az Érgraft csoportban kismértékben alacsonyabb értékeket mértünk az 1. postoperatív héten a Kontrollhoz képest (a 3. napon $p = 0,017$ és az 5. napon $p = 0,083$).

A Kontroll csoport haemoglobin koncentrációja kismértékben csökkent a követéses periódus végére (az alapértékekhez képest $p = 0,015$ a 7. napon és $p = 0,003$ a 14. napon). Az Érgraft csoportban a haemoglobin csökkenés markánsabbnak mutatkozott (az alapértékekhez képest $p = 0,003$ az 5. és 7. napon, valamint $p = 0,028$ a 14. napon). A Kontroll csoportéhoz viszonyítva ezek az értékek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak ($p = 0,004$ a 3. napon, $p = 0,002$ az 5. napon és $p = 0,016$ a 7. napon).

Az MCH értékek nem mutattak jelentős változásokat, kivéve a numerikusan szignifikáns különbségre a két csoport között az 5. napon ($p = 0,05$) és a 14. napon. ($p = 0,003$).

Az Érgraft csoport MCHC értékei csökkentek a megfigyelési időszak végére ($p = 0,054$ vs. alap, és $p = 0,007$ vs. Kontroll). Az RDW-CV% nem mutatott jelentősebb változást.

5.4. Coagulációs idő paraméterek és fibrinogén koncentráció

A prothrombin idő nem változott jelentősen egyik csoportban sem. Az aktivált parciális thromboplastin idő kétszer is megemelkedett az Érgraft csoportban: a 3. postoperatív napon ($p = 0,048$ vs. alap) és a 7. napon ($p = 0,012$). A fibrinogén koncentráció szintén az Érgraft csoportban növekedett, leginkább a korai postoperatív időszakban: az 1. napi magasabb

értékek után fokozatosan csökkenés volt megfigyelhető a második hét végéig. Az értékek ugyan a fiziológiás határok között mozogtak, de szignifikáns különbségeket egészen az 5. napig találtunk (az 1. napon: $p < 0,001$ vs. alap és vs. Kontroll; a 3. napon: $p = 0,023$ vs. alap és $p = 0,002$ vs. Kontroll; az 5. napon: $p = 0,043$ vs. alap és $p = 0,002$ vs. Kontroll) (V. táblázat).

IV. táblázat. A prothrombin idő (PI), az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI) és a fibrinogén koncentráció (Fbg) változása a Kontroll és az Érgraft csoportban

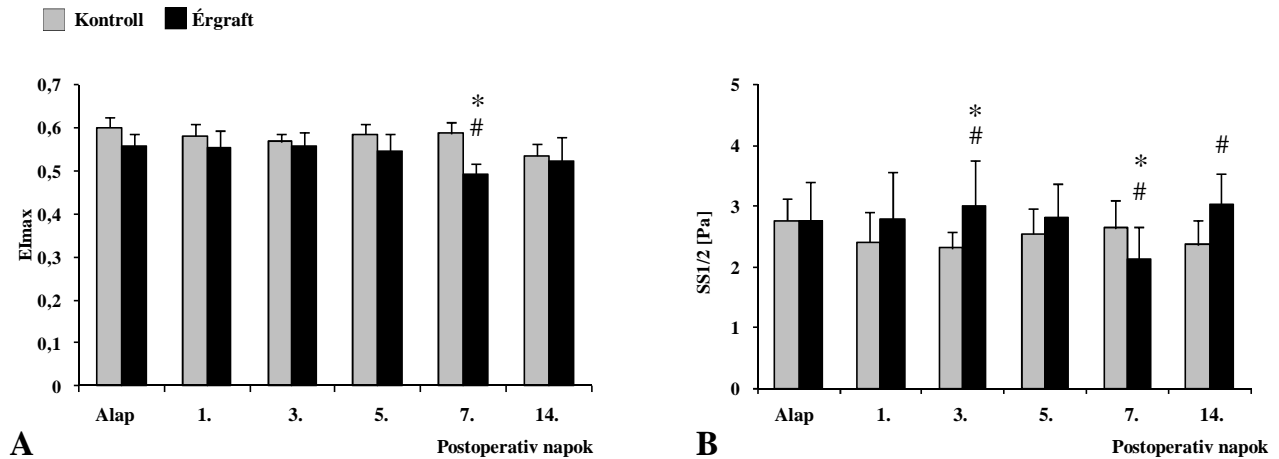
| Paraméter | Csoport | Alap | Postoperatív napok | | | | |
|------------|----------|-----------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------|
| | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| PI [s] | Kontroll | 8,96 ± 0,15 | 8,3 ± 0,7 | 8,2 ± 0,88 | 7,37 ± 0,38 | 8,56 ± 1,49 | 7,33 ± 0,12 * |
| | Érgraft | 8,0 ± 1,18 | 7,37 ± 0,93 # | 7,74 ± 1,17 | 7,04 ± 0,73 | 7,81 ± 1,23 | 7,55 ± 0,47 |
| APTI [s] | Kontroll | 10,51 ± 7,67 | 15,68 ± 12,38 | 13,18 ± 9,75 | 9,77 ± 5,92 | 16,08 ± 9,61 | 17,11 ± 4,51 |
| | Érgraft | 9,18 ± 6,93 | 16,24 ± 9,82 | 22,12 ± 6,44 * | 16,72 ± 3,52 | 25,15 ± 10,89 * | 11,43 ± 5,1 |
| Fbg [g/dl] | Kontroll | 1,86 ± 0,08 | 2,18 ± 0,15 | 2,2 ± 0,85 | 1,97 ± 0,21 | 2,07 ± 0,25 | 2,07 ± 0,28 |
| | Érgraft | 2,1 ± 0,44 | 3,3 ± 0,37 *# | 2,87 ± 0,24 *# | 2,58 ± 0,32 *# | 2,47 ± 0,25 | 2,03 ± 0,21 |

átlag ± S.D., * $p < 0,05$ vs. alap; # $p < 0,05$ vs. Kontroll

5.5. Vörösvérsejt deformabilitás és membránstabilitás

A hagyományos ektacytometriás mérések során az elongációs index értékek kerültek meghatározásra a nyírófeszültség függvényében. Ezekből a görbékből kalkulált EI_{max} folyamatos csökkenést mutatott legnagyobb mértékben az Érgraft csoportban. A 7. postoperatív napon a legalacsonyabb értékeket itt mutatta ($p < 0,001$ vs. alap; $p < 0,001$ vs. Kontroll). A kalkulált $SS_{1/2}$ [Pa] értékek szignifikánsan magasabbak voltak az Érgraft csoportban a 3.. napon ($p = 0,029$ vs. Kontroll), majd a 7. napra csökkent ($p = 0,025$ vs. alap és $p = 0,042$ vs. Kontroll), a 14. napra újra megemelkedett ($p = 0,011$ vs. Kontroll) (17. ábra). A deformabilitás romlással általában EI_{max} csökkenés és $SS_{1/2}$ emelkedés társul. Amennyiben

mindkét érték csökken, az jelezheti az elongációs index-nyírófeszültség görbék morfológiai változását. Így összességében az adatok deformabilitás romlásra jutnak.



17. ábra

A maximális elongációs index (EI_{max}) (A) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték (SS_{1/2} [Pa]) (B) változása a postoperatív napokon a Kontroll és az Érgraft csoportban. átlag ± S.D., *p<0,05 vs. alap; # p<0,05 vs. Kontroll

Az ozmotikus gradiens ektacytometriás (osmoscan) mérések során nyert paraméterek változásait a V. táblázat összegzi.

A maximális elongációs index (EI max) alacsonyabb volt az Érgraft csoportban, ahogy az a hagyományos ektacytometriás mérések eredményeiben is látszott. A minimális elongációs index értékek (EI min) –amikor a sejtek rupturálódni kezdenek hypoosmolaris környezetben– kissé és nem szignifikáns mértékben magasabbak voltak az 1., a 3., 5. és 14. napon az Érgraft csoportban. Ezzel párhuzamosan a vonatkozó ozmolalitás értékek a Kontroll csoporthoz viszonyítva hasonlóak, kismértékben alacsonyabbak vagy éppen magasabbak voltak különösebb összefüggés nélkül. Az elongációs index-ozmolalítás görbe alatti területéből kalkulált area parameter szignifikáns mértékű csökkenést mutatott az Érgraft csoportban a legalacsonyabb értékeket a 7. napon mutatva (a 3. napon p=0,005, az 5. napon p=0,017 és a 7. napon p=0,061 vs. Kontroll; ugyanekkor p=0,056 vs. alap) (V. táblázat).

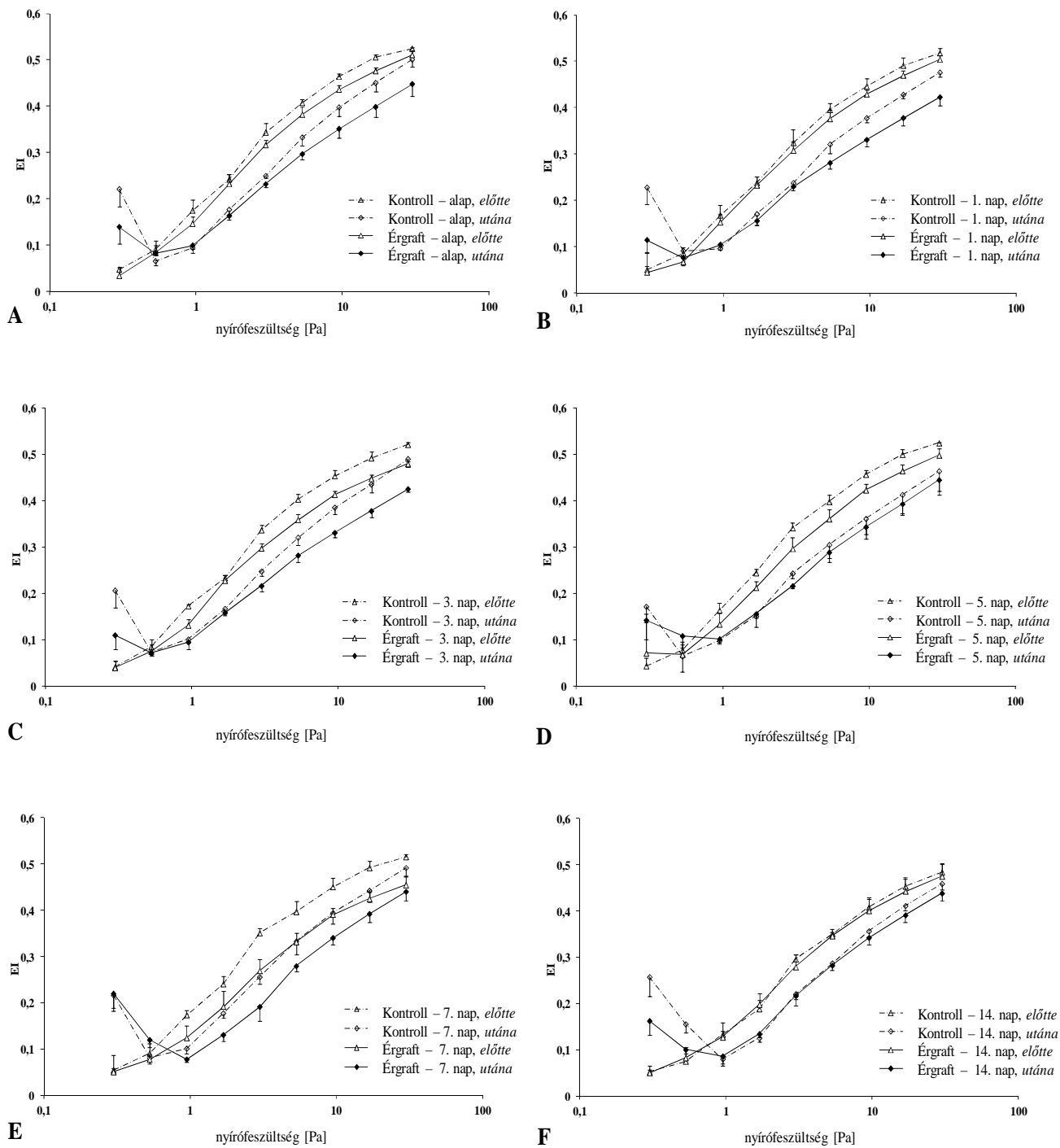
V. táblázat. Az osmoscan paraméterek változása a Kontroll és az Érgraft csoportban

| Paraméter | Csoport | Alap | Postoperatív napok | | | | |
|-----------|----------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| EI max | Kontroll | 0,524 ± 0,005 | 0,517 ± 0,007 | 0,521 ± 0,008 | 0,516 ± 0,014 | 0,501 ± 0,012 | 0,505 ± 0,008 |
| | Érgraft | 0,494 ± 0,007 | 0,493 ± 0,008 | 0,490 ± 0,01 | 0,483 ± 0,011 | 0,484 ± 0,012 | 0,479 ± 0,009 |
| EI min | Kontroll | 0,095 ± 0,008 | 0,088 ± 0,003 | 0,095 ± 0,006 | 0,090 ± 0,005 | 0,102 ± 0,003 | 0,098 ± 0,004 |
| | Érgraft | 0,106 ± 0,007 | 0,096 ± 0,008 | 0,103 ± 0,003 | 0,099 ± 0,008 | 0,095 ± 0,005 | 0,102 ± 0,006 |
| EI hyper | Kontroll | 0,262 ± 0,002 | 0,259 ± 0,003 | 0,260 ± 0,004 | 0,258 ± 0,007 | 0,251 ± 0,006 | 0,252 ± 0,004 |
| | Érgraft | 0,247 ± 0,003 | 0,246 ± 0,004 | 0,245 ± 0,005 | 0,241 ± 0,005 | 0,242 ± 0,006 | 0,239 ± 0,004 |
| O max | Kontroll | 315,25 ± 6,29 | 318 ± 4,24 | 291,75 ± 17,72 | 288,25 ± 11,41 | 305 ± 18,65 | 309,5 ± 11,73 |
| | Érgraft | 274 ± 19,88 | 273 ± 16,68 | 283,8 ± 10,96 | 288,4 ± 14,31 | 297,6 ± 21,29 | 289,6 ± 13,5 |
| O min | Kontroll | 163,25 ± 3,77 | 161,75 ± 3,94 | 153,25 ± 6,02 | 151,5 ± 9,74 | 162 ± 5,47 | 163,33 ± 7,09 |
| | Érgraft | 143,6 ± 5,59 | 142,4 ± 7,12 | 148,8 ± 5,26 | 151,4 ± 5,36 | 153,6 ± 5,72 | 157 ± 6,96 |
| O hyper | Kontroll | 456 ± 6,68 | 450,25 ± 2,87 | 445 ± 16,31 | 437,25 ± 8,05 | 457 ± 2,64 | 457,75 ± 7,5 |
| | Érgraft | 436,8 ± 18,08 | 434 ± 17,01 | 444 ± 9,79 | 445,6 ± 11,86 | 454,8 ± 11,65 | 461,75 ± 13,27 |
| Area | Kontroll | 129,45 ± 4,53 | 124,07 ± 6,37 | 133,82 ± 2,38 | 131,72 ± 3,65 | 126,25 ± 4,34 | 123,75 ± 2,24 |
| | Érgraft | 127,5 ± 4,5 | 124,5 ± 3,62 | 122,5 ± 5,17 # | 122,2 ± 5,08 # | 118,88 ± 5,32 | 121,76 ± 5,15 |

átlag ± S.D., * p<0,05 vs. alap; # p<0,05 vs. Kontroll

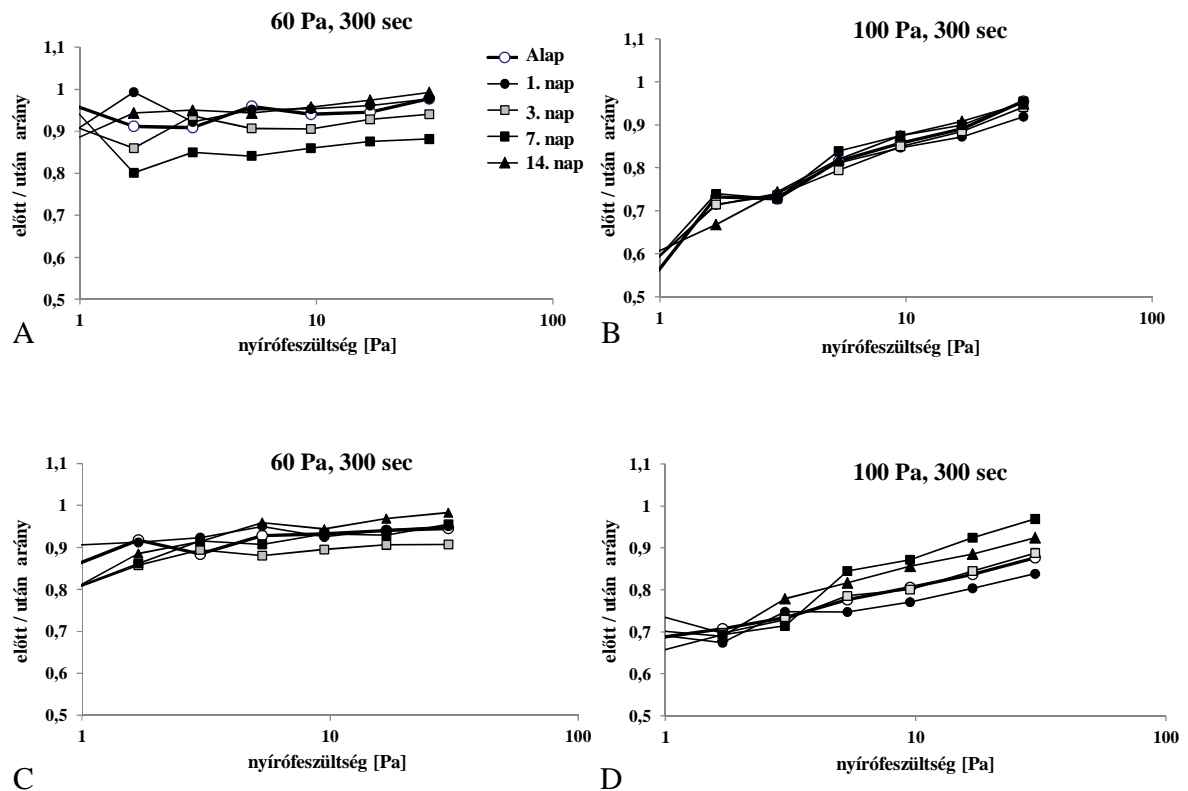
A membránstabilitás vizsgálatához kétféle protokollt használtunk, 60 Pa nyírófeszültség 300 másodpercig, illetve 100 Pa nyírófeszültség 300 másodpercig. Az alkalmazott mechanikus stressz előtt és után elvégzett normál ektacytometriás mérések eredményei kerültek összehasonlításra.

A mechanikus stressz után, ahogyan az várható is volt, az elongációs index értékek minden esetben szignifikánsan alacsonyabbak voltak a stressz előtti állapothoz képest (p<0,001, a 0,95-30 Pa nyírófeszültség tartományban). Ugyanakkor az abszolút elongációs index értékek, valamint a különbség a mechanikus stress alkalmazása előtti és utáni értékek között eltért a csoportok között. Ez a különbség sokkal kifejezettebb volt, amikor a 100 Pa-os protokollt alkalmaztuk (18. és 19. ábra, VI. táblázat).



17. ábra

A membrán stabilitási teszt során nyert elongációs index (EI) értékek a nyírófeszültség függvényében a mechanikus stressz (100 Pa, 300 sec) alkalmazása előtt és után a Kontroll és az Érgraft csoportban: alapmérés során (A), az 1. (B), a 3. (C), az 5. (D), a 7. (E) és a 14. (F) postoperatív napokon átlag ± S.D.



19. ábra

A mechanikus stressz (60 Pa 300 sec ideig vagy 100 Pa 300 sec ideig) alkalmazása után és előtt mért elongációs index értékek aránya a mérési nyírófeszültség függvényében a Kontroll (A, B) és az Érgraft csoportban (C, D) az alapmintákban és a postoperatív napokon

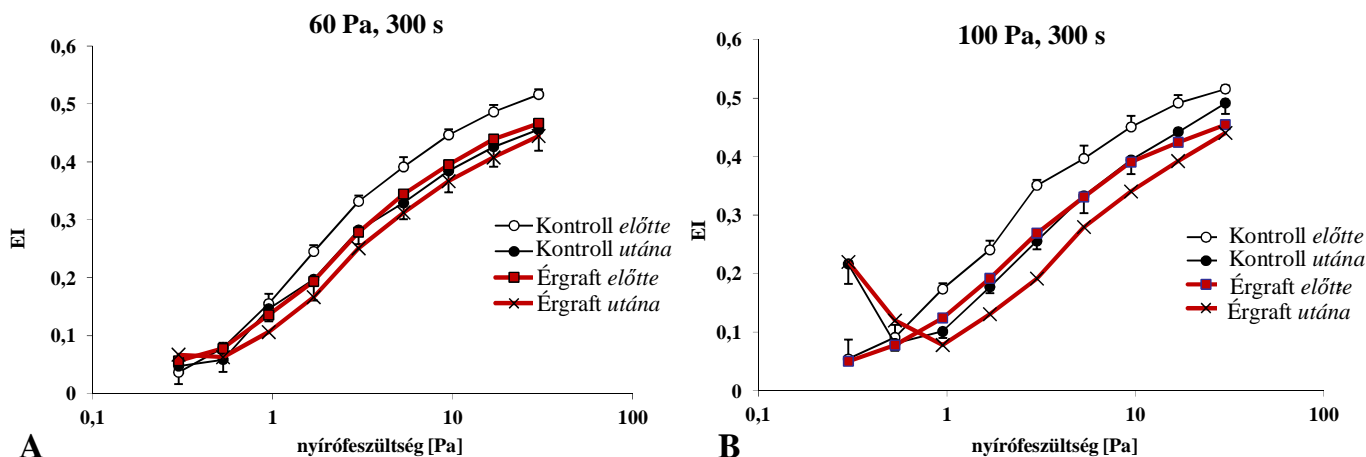
A membránstabilitás vizsgálatok az Érgraft csoportban egyrészt alacsonyabb deformabilitási profilt, másrészt a mechanikus stressz hatására létrejövő beszűkült deformabilitás-változási képességet jeleztek. Az elongációs index-nyírófeszültség görbék morfológiája szintén nagyobb mértékben változott az Érgraft csoportban: 0,95 Pa alatt a görbék torzultak, magas elongációs index értékeket mutatva a legalacsonyabb nyírófeszültség tartományban (0,3 – 0,5 Pa).

Az ektacytometriás méréseknél a legnagyobb változásokat a 7. napon láthattuk. A mechanikus stabilitás eredményeit tovább elemezve a legszembetűnőbb mértékű különbségeket is ezen a napon láttuk (20. ábra).

VI. táblázat. A mechanikus stress (60 Pa, 300 s vagy 100 Pa, 300 s) alkalmazása előtt és után meghatározott elongációs index- nyírófeszültség adatsorokból kalkulált EI_{\max} és az $SS_{1/2}$ értékek összehasonlítása a Kontroll és az Érgraft csoportban.

| Nyírófeszültség [Pa] – idő [s] beállítás | Paraméter | Csoport | Teszt | alap | Postoperatív napok | | | | |
|--|-----------------|----------|--------|---------------------|------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| | | | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| 60 Pa, 300 s | EI_{\max} | Kontroll | előtte | $0,596 \pm 0,03$ | $0,570 \pm 0,01$ | $0,606 \pm 0,01$ | $0,593 \pm 0,04$ | $0,582 \pm 0,02$ | $0,555 \pm 0,04$ |
| | | | utána | $0,556 \pm 0,02$ | $0,533 \pm 0,02$ | $0,576 \pm 0,07$ | $0,536 \pm 0,03$ | $0,481 \pm 0,07$ | $0,570 \pm 0,06$ |
| | | Érgraft | előtte | $0,503 \pm 0,03$ | $0,548 \pm 0,02$ | $0,517 \pm 0,01$ | $0,565 \pm 0,05$ | $0,513 \pm 0,02$ | $0,547 \pm 0,05$ |
| | | | utána | $0,551 \pm 0,06$ | $0,524 \pm 0,03$ | $0,494 \pm 0,03$ | $0,552 \pm 0,02$ | $0,522 \pm 0,03$ | $0,570 \pm 0,08$ |
| | $SS_{1/2}$ [Pa] | Kontroll | előtte | $2,59 \pm 0,46$ | $2,33 \pm 0,26$ | $2,88 \pm 0,2$ | $2,71 \pm 0,57$ | $262 \pm 0,51$ | $3,34 \pm 0,61$ |
| | | | utána | $2,5 \pm 0,15$ | $2,43 \pm 0,26$ | $3,35 \pm 1,19$ | $2,76 \pm 0,58$ | $256 \pm 0,8$ | $3,91 \pm 0,98$ |
| | | Érgraft | előtte | $2,74 \pm 0,68$ | $2,52 \pm 0,55$ | $2,39 \pm 0,53$ | $3,37 \pm 1,37$ | $281 \pm 0,63$ | $3,24 \pm 1,3$ |
| | | | utána | $3,36 \pm 1,3$ | $2,79 \pm 0,41$ | $3,26 \pm 1,21$ | $3,22 \pm 0,17$ | $403 \pm 0,58^{*}\#$ | $4,43 \pm 2,11$ |
| 100 Pa, 300 s | EI_{\max} | Kontroll | előtte | $0,575 \pm 0,03$ | $0,558 \pm 0,01$ | $0,559 \pm 0,02$ | $0,584 \pm 0,02$ | $0,558 \pm 0,01$ | $0,541 \pm 0,02$ |
| | | | utána | $0,636 \pm 0,1$ | $0,590 \pm 0,04$ | $0,586 \pm 0,05$ | $0,551 \pm 0,09$ | $0,613 \pm 0,03$ | $0,610 \pm 0,07$ |
| | | Érgraft | előtte | $0,577 \pm 0,02$ | $0,550 \pm 0,02$ | $0,568 \pm 0,05$ | $0,579 \pm 0,04$ | $0,533 \pm 0,08$ | $0,558 \pm 0,06$ |
| | | | utána | $0,520 \pm 0,07$ | $0,458 \pm 0,04^{*}\#$ | $0,486 \pm 0,03^{*}\#$ | $0,482 \pm 0,03^{*}$ | $0,562 \pm 0,09$ | $0,496 \pm 0,03\#$ |
| | $SS_{1/2}$ [Pa] | Kontroll | előtte | $2,34 \pm 0,59$ | $2,31 \pm 0,49$ | $2,19 \pm 0,11$ | $2,48 \pm 0,5$ | $214 \pm 0,1$ | $3,03 \pm 0,28$ |
| | | | utána | $5,45 \pm 1,8^{*}$ | $5,00 \pm 0,63^{*}$ | $4,59 \pm 0,65^{*}$ | $4,59 \pm 0,78^{*}$ | $481 \pm 0,72^{*}$ | $6,68 \pm 1,78^{*}$ |
| | | Érgraft | előtte | $2,82 \pm 0,46$ | $2,51 \pm 0,38$ | $3,24 \pm 0,94$ | $3,40 \pm 1,03$ | $369 \pm 2,01\#$ | $3,71 \pm 1,57$ |
| | | | utána | $4,09 \pm 1,04^{*}$ | $3,29 \pm 0,56^{*}\#$ | $3,97 \pm 0,71$ | $3,62 \pm 0,54$ | $6,24 \pm 1,6^{*+}$ | $4,21 \pm 0,45\#$ |

átlag \pm S.D., ⁺ $p < 0,05$ vs. alap, ^{*} $p < 0,05$ vs. *előtte*, [#] $p < 0,05$ vs. Kontroll



20. ábra

A 7. postoperatív napon végzett vörösvérsejt membránstabilitás teszt eredményei kétféle nyírófeszültség-expozíciós idő kombinációt alkalmazva a vérmintákon: 60 Pa 300 s ideig (A) és 100 Pa 300 s ideig (B). Átlag \pm S.D.

A 1-30 Pa nyírófeszültség tartományban: $p < 0,001$ előtte vs. utána; $p < 0,001$ Kontroll vs. Érgraft

5.6. Vörösvérsejt aggregatio

A LoRRca készülék által meghatározott vörösvérsejt aggregációs paramétereket a VII. táblázat összegzi.

Az aggregációs index (AI) az aggregatio nagyságát reprezentálja a vizsgált 120 másodperces időszak alatt, az amplitúdó (Amp) a syllectogramm magasságát jelzi a kiindulási értékekhez képest, míg a $t_{1/2}$ [s] azt az időpontot jelöli, amikor az aggregációs folyamat eléri a teljes aggregációs index értékek felét. Az AI értékek kismértékben emelkedtek az Érgraft csoportban az 1., 3. és az 5. postoperatív napokon, az Amp értékek párhuzamos növekedésével (a 7. napon $p = 0,008$ vs. Kontroll). Az 5. napig a $t_{1/2}$ értékek gyorsabb kinetikájú aggregációra utaltak az Érgraft csoportban.

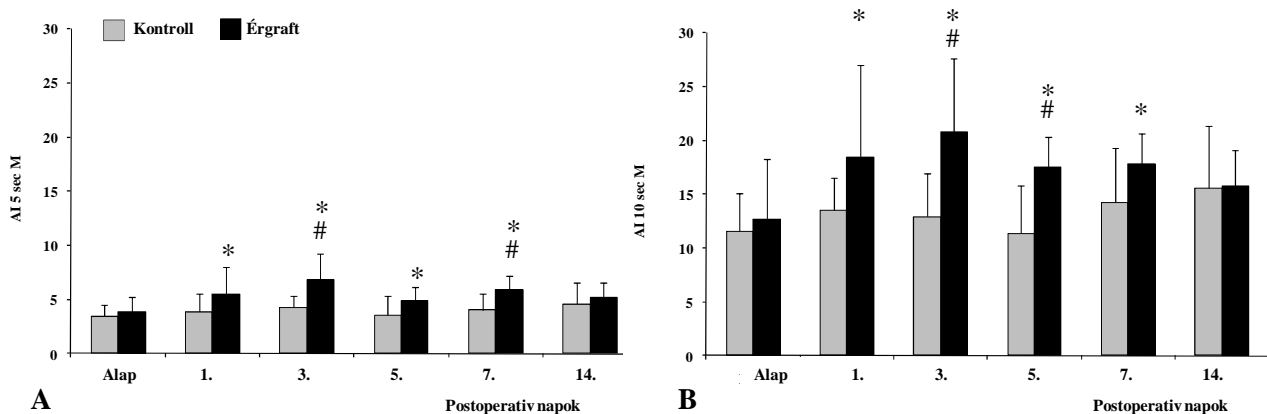
A Myrenne készülékkel mért $M 5 s$ és $M 10 s$ értékek az aggregációs folyamat 5. és 10. másodpercében jelzi a létrejövő vörösvérsejt aggregatio mértékét 0 1/s sebesség-gradiens mellett. Az Érgraft csoportban ezek az értékek szignifikáns mértékű emelkedést mutattak az 1. postoperatív héten. Az $M 5 s$ index értékek szignifikánsan nőttek az 1. postoperatív napra ($p = 0,011$ vs. alap, $p = 0,03$ vs. Kontroll), a 3. napon ($p < 0,001$ vs. alap és vs. Kontroll) az 5.

napon ($p=0,021$ vs. alap) és a 7. napon ($p<0,001$ vs. alap és vs. Kontroll). Az M 10 s index értékek mutatták a legnagyobb Imértékű különbséget a két kísérleti csoport között (az 1. napon $p=0,029$ vs. alap; a 3. napon: $p<0,001$ vs. alap és vs. Kontroll; az 5. napon: $p=0,006$ vs. alap és $p<0,001$ vs., Kontroll; és a 7. napon: $p=0,006$ vs. alap) (21. ábra).

VII. táblázat. Vörösvérsejt aggregációs index (AI), az amplitude (Amp) és az aggregációs félidő ($t_{1/2}$ [s]) értékeinek változásai a Kontroll és az Érgraft csoportokban.

| Paraméter | Csoport | Alap | Postoperatív napok | | | | |
|---------------|----------|------------------|--------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| | | | 1. | 3. | 5. | 7. | 14. |
| AI [au] | Kontroll | 51,35 ± 2,45 | 48,81 ± 9,68 | 50,11 ± 4,02 | 45,2 ± 11,34 | 49,49 ± 3,27 | 50,61 ± 5,49 |
| | Érgraft | 46,27 ± 12,09 | 55,13 ± 12,17 | 57,63 ± 5,57 | 52,21 ± 4,04 | 49,51 ± 8,12 | 48,38 ± 5,64 |
| Amp [au] | Kontroll | 23,82 ± 2,62 | 20,13 ± 5,08 | 24,75 ± 2,61 | 23,71 ± 4,05 | 23,94 ± 1,57 | 23,28 ± 2,99 |
| | Érgraft | 28,71 ± 2,09 | 24,8 ± 5,17 | 29,65 ± 2,34 | 27,88 ± 2,07 | 30,42 ± 3,16 # | 25,08 ± 5,01 |
| $t_{1/2}$ [s] | Kontroll | 3,8 ± 0,4 | 4,46 ± 2,07 | 4,0 ± 0,71 | 3,92 ± 0,64 | 4,07 ± 0,64 | 3,97 ± 0,91 |
| | Érgraft | 4,11 ± 2,15 | 3,55 ± 2,05 | 2,92 ± 0,63 | 3,67 ± 0,62 | 4,26 ± 1,38 | 4,35 ± 1,03 |

átlag ± S.D., # $p<0,05$ vs. Kontroll



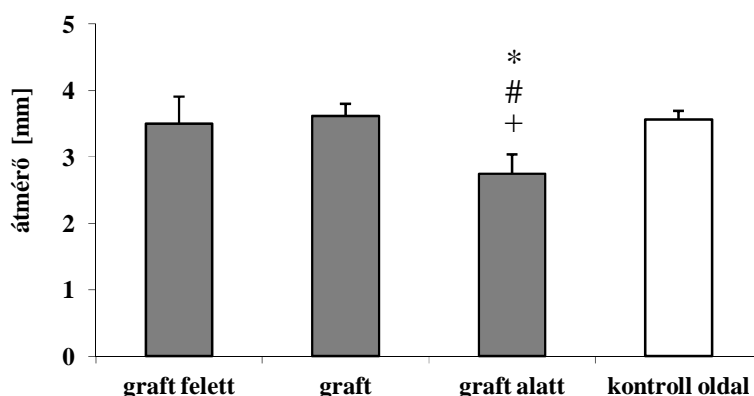
21. ábra

Vörösvérsejt aggregációs index M 5 s (A) és M 10 s (B) értékeinek változásai a Kontroll és az Érgraft csoportokban.

átlag ± S.D., * $p<0,05$ vs. alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll

5.7. Szöveti vizsgálatok

A 14. napon a reoperáció során vett érszakaszok elemzésekor azt találtuk, hogy a Kontroll oldali arteria femoralis átmérője $3,56 \pm 0,13$ mm volt, a graft átmérője $3,62 \pm 0,17$ mm. Közvetlenül az érgraft felett és alatt mért érátmérők jelentősen különböztek egymástól: a graft felett $3,5 \pm 0,41$ mm, a graft alatt $2,75 \pm 0,28$ mm volt ($p < 0,001$ vs. graft, $p = 0,024$ vs. graft felett és $p = 0,016$ vs. kontroll oldali arteria) (22. ábra).



22. ábra

A 14. postoperatív napon eltávolított, a graftot is magába foglaló a. femoralis szakasz átmérője, valamint a nem műtött oldal ép a. femoralisának átmérője
átlag \pm S.D., * $p < 0,05$ vs. graft; # $p < 0,05$ vs. graft felett; + $p < 0,05$ vs. kontroll oldal

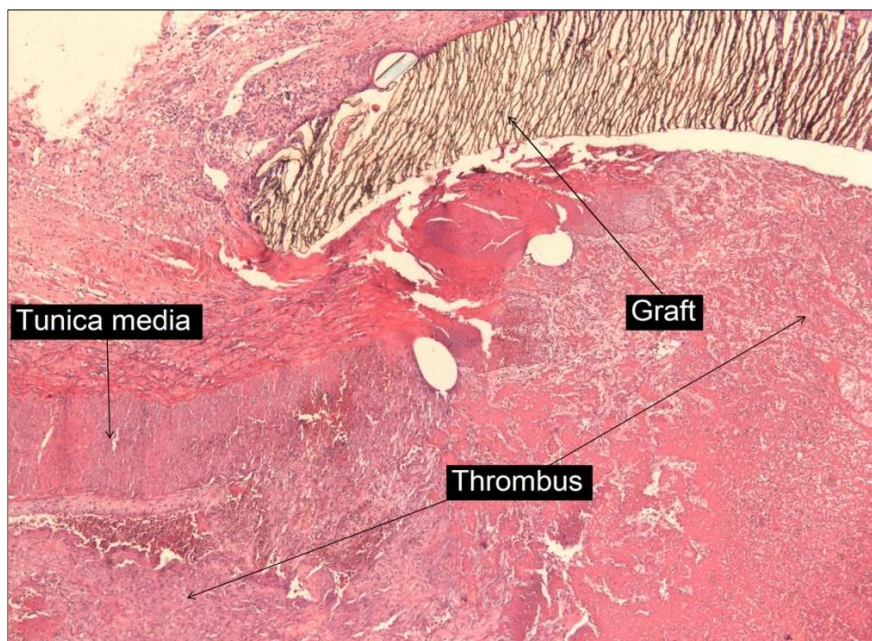
A szövettani vizsgálatok során az anastomosis vetületében a szervülés jeleit mutató thrombus látszott, beszűkítve, elzárva az érlument. Fibrin hálóba, illetve fiatal kötőszövetbe ágyazott, reaktív endothellel bélelt változatos alakú és tágasságú, vörösvérsejtekkel kitöltött újdonszerű kapillaris hálózat volt megfigyelhető. Ez az eredeti arteria intimás belfelszínéhez látszott kötőszövetesen rögzülni, illetve az anastomosis vonalában a graft a tunica adventitia hegesen kiszélesedett felfekvési területének vetületében volt megfigyelhető.

A graft belfelszínén a vérrög kötőszövetes rögzülése nem volt ennyire egyértelmű, itt „szabad” belfelszínnek is láthatók voltak. Distalis irányba haladva a vérrög friss területei voltak láthatóak. Az anastomosis vonalában az adventitiában a varrósál körül idegentest típusú,

óriássejteket tartalmazó vegyes lobos gyulladással szorított szövet volt megfigyelhető, amely folytatódva a graft körül is egy rövid szakaszon jelen van (23. ábra).

Az anastomosis területében a lamina elastica interna kiszélesedése megfigyelhető volt, de endothel bélés nem minden esetben látszott: a thrombus mintha ezen intimális kiszélesedés folytatása lenne. A graft hálószerű falában vörösvérsejtek, valamint chronicus és akut lobsejtek voltak láthatóak. A graft endothelialisációja nem történt meg, amit a CD31 immunhistokémiai vizsgálat is alátámasztott. Pseudointima képződés egyes szakaszokon azonban jól látható volt, különböző thromboticus elemekből felépülve.

A kontroll oldali érkezett arteria részletek szabályos szöveti szerkezetet mutattak. Megállapítható volt tehát, hogy a graft beszűkülése-elzáródása létrejöttében döntően thrombosis, kisebbrészt intima hyperplasia játszott szerepet. A thrombosis kialakulásában az intima sérülés mellett az anastomosis varrat által indukált gyulladás is szerepet játszhatott.



23. ábra

Reprezentatív szövettani kép a graftot magába foglaló
a. femoralis szakaszból a lument beszűkítő érett thrombussal.
H&E festés, eredeti nagyítás: 500X

6. MEGBESZÉLÉS

A kiskaliberű érgraftok a perifériás érbetegségek sebészi kezelésében még napjainkban is fontos szerepet játszanak, ugyanakkor a velük összefüggő, korai graft elzáródás komoly klinikai problémát jelent (Esquivel és Blaisdell, 1986; Rutherford, 2000; Neville és mtsai, 2011; Tatterton és mtsai, 2012; Huang és mtsai, 2013). A kis graft átmérő mellett fontos kérdés a szöveti remodelláció valamennyi nyírófeszültséggel, feszüléssel összefüggő biomechanikai és áramlástani tényezővel együtt (Song és mtsai, 2011; Naito és mtsai, 2011). Az érszakasz helyettesítésekre számos vascularis “tissue engineering” próbálkozás is ismert a lehető legoptimálisabb megoldás megtalálására (Song és mtsai, 2011; Naito és mtsai, 2011; Menu és mtsai, 2013)

Az arteriás graft szervülése egy összetett és hosszú folyamat, amely számtalan tényezőtől, s talán fajok közötti különbségektől is függ. A *Canis lupus familiaris*, mint kísérleti állat, a mai napig fontos információkat nyújthat az érsebészeti kutatásokban a követéses vizsgálatok lehetőségét is adva (Brothers és mtsai, 1990; Kuzuya és mtsai, 2004; Shu és mtsai, 2011; Sousa és mtsai, 2011; de Barros-Marques és mtsai, 2012; Jean-Baptiste és mtsai, 2012; Kasza és mtsai, 2012; Matsunaga és mtsai, 2012). Kuzuya és munkatársai (2004) vizsgálták az ePTFE érgraft (belső átmérő: 5 mm, hossz: 15 cm) szervülési folyamatát különböző intermodális távolságokkal. Tizenkét hétig követték a folyamatot. Azt találták, hogy két héten belül a gyulladásos fázis gyakorlatilag befejeződik és a fibroblast polifерáció majdnem teljessé válik (Kuzuya és mtsai, 2004). Kasza és munkatársai azt találták, hogy perifériás arteriák stent implantációját követően az érfal restitúciója teljessé válik az 1. postoperatív hónap végére (Kasza és mtsai, 2012). Hess kutatócsoportja kimutatta, hogy nagyjából 6 hónap szükséges egy 5 cm-es polyurethane érprotézis komplett endothelializációjához (Hess és mtsai, 1992). Ugyancsak kimutatásra került, hogy egy 6-9-cm-es PTFE graftnak csupán 60%-a endothelizálódik egy éven belül (Clowes és mtsai, 1986).

Az érgraft hossza, átmérője és anyaga nagyban befolyásolja a szervülést és a neointima képződést.

Clowes és munkatársai (1986) majmokon végzett kísérletükben 4-mm átmérőjű, 6-8 cm-es hosszúságú PTFE graftot ültettek az egyik oldali arteria iliaca communisba. Azt találták, hogy az 1. postoperatív hét végére a graft lumen felőli felszíne nagyrészt thrombussal volt fedett, s kisebb foltokban látszott endothelialis sejtcsoport. A 2. héten a thrombus szervülni kezdett, majd a 4-12. hétre a graft lumen felőli felszínének endothel borítása nagyrészt kompletté vált (Clowes és mtsai, 1986).

Hess kutatócsoportja endothel sejtekkel bélelt vagy nem bélelt 3 mm átmérőjű, 5 cm hosszú PTFE graftot ültetett beagle kutyák arteria femoralisába. A graft mérete és lokalizációja is hasonló volt a mi kísérletünkben alkalmazottakhoz. Thrombocytá aggregatio gátló kezelés nélkül az 1. postoperatív héten 7 endothelsejtes graft a 8-ból átjárható volt, míg a hagyományos graftok közül a 8-ból csupán 1 (Hess és mtsai, 1993).

Kísérleteinkben az első két posztoperatív hét változásaira fókuszáltunk. A coagulációs idő paraméterek és a vörösvérsejt aggregatio változásainak nagy része az 1. héten lezajlott. Korábbi tanulmányokban a végtagi ischaemia-reperfusio haematologiai és coagulációs paraméterekre kifejtett hatását is vizsgálták a tanzséken, s amely eredmények szerint is az 1. postoperatív hét jelentősége egyértelmű volt a változások nagyságát illetően (Szokoly és mtsai, 2009). Gyulladásos folyamatok, akut fázis reakciók haemorheologiai változásokhoz vezethetnek a megemelkedett fibrinogen koncentráció, a haemoconcentratio és a szabadgyökök okozta károsodások eredőjeként (Koppensteiner, 1996; Baskurt, 2007; Németh és mtsai, 2014). A korán megemelkedett fibrinogén koncentráció, a coagulációs idő paraméterek kiugrásai, a folyamatosan emelkedő thrombocytá szám együttesen sugallhatja a thromboticus szövődmény kialakulását a 3-7. posztoperatív nap között.

A graft elzáródásához vezető folyamatok összetettek, hiszen a kis átmérőjű, az érfalnál merevebb falú tubus haemodinamikai hatása felszínének tulajdonságai, haemocompatibilitási mértéke, a véralvadási kaszkárendszer aktiválódása és a vörösvérsejtek mechanikus károsodása mind szerepet játszik ebben (Esquivel és mtsai, 1986; Rutherford, 2000; Chiu és mtsai, 2011; Neville és mtsai, 2011; Tatterton és mtsai, 2012; Huang és mtsai, 2013). Az intima károsodása mellett az anastomosis készítéshez használt varróanyag által kiváltott szöveti reakció is hozzájárulhatott a thrombus kialakulásához. A lokális haemodinamikai változások kialakulásánál nem elhanyagolható az a tény sem, hogy a merevebb graftot magába foglaló érszakasz a műtét után elmozdulhat, csavarodhat, megtörhet az állat mindennapi mozgása során. Fontos megjegyezni azonban, hogy nem láttunk végtag keringési zavarra utaló jelet, nem látszott duzzadás, nem jelzett az állat fájdalmat a járása zavartalan volt és a bőrhőmérséklet a műtött és nem műtött végtagon közel azonos volt. Feltételezhető, hogy a szűkülő vagy már elzáródott graft keringését a gluteális régió felőli érösszeköttetések részben kompenzálhatták.

Az általános haematológiai és coagulációs paraméterek változásai mellett a vörösvérsejt aggregatio korai emelkedését is megfigyelhettük. A vörösvérsejt aggregatio számos cellularis (sejt morphologia, deformabilitás, membrán mechanikai sajátságok, sejt felszíni glycocalyx) és plasmaticus faktorok (pl. fibrinogén koncentráció) által determinált (Baskurt, 2007; Neu és Meiselman, 2007; Saldanha, 2013). Az ischaemia-reperfusio és általában a gyulladásszerű folyamatok során felszabaduló szabadgyökök, a mechanikus sejt-károsodás, a vörösvérsejt deformabilitásban bekövetkező változások, a fibrinogén koncentráció eltérései, valamint a mikrokörnyezeti tényezők (pH, osmoralitás) együttesen befolyásolják a vörösvérsejt aggregatio mértékét és dinamikáját (Baskurt, 2007; Németh és mtsai, 2014). A fokozott vörösvérsejt aggregatióknak jelentős hatása van a mikrokeringésre, hiszen a keringő partikulumok méretének növekedésével, az ún. axialis áramlás mértékének

fokozódásával és ezáltal az endothel felszínre kifejtett nyírófeszültség profil módosulása révén, összességében az áramlási ellenállás növekedését idézi elő, hozzájárulva a mikrokeringés zavaraihoz ezáltal is (Baskurt, 2008).

Mindemellett a sejtmembrán mechanikai sajátságai is meghatározó szerepet játszanak. A vörösvérsejtek a keringési rendszer szintjein eltérő mértékben, de folyamatosan mechanikus stressznek vannak kitéve életük során. Extra-fiziológiás mechanikus stressz megjelenhet cardiopulmonális bypass, haemodialysis, ér-graft-, stent-, műbillentyűk implantációja során, amelyek a vérsejtek mechanikus traumáját okozhatják (Hirayama és mtsai, 1985; Koppensteiner és mtsai, 1991; Kameneva és Antaki, 2007; Watanabe és mtsai, 2007; Sakota és mtsai, 2008; Papp és mtsai, 2011).

A mechanikus károsodás mechanizmusa magába foglalja a sejtek túlfeszülését és fragmentációját (haemolysis), amely a plazmában szabad haemoglobin megjelenéséhez, valamint membrán-microparticulumok felszabadulásához vezet. A plazmában a szabad haemoglobin haptoglobinhoz kötődik, amely komplexről ismert, hogy a reticuloendothelialis rendszer távolítja el folyamatosan a keringésből (Kameneva és Antaki, 2007).

Kimutatták, hogy az 5-20 Pa közötti nyírófeszültség reverzibilis módon akár javíthatja is a vörösvérsejtek deformabilitását, amely nem alakul ki, ha a mintában magasabb a Ca^{2+} koncentráció (Meram és mtsai, 2013). Ha a nyírófeszültség nagysága és expozíciós ideje nem ölt olyan mértéket, amely már haemolysishez vezet, hanem csupán a sejtek micro-rheológiai tulajdonságainak zavarában nyilvánul meg (csökkent deformabilitás, fokozott aggregatio), a sublethális trauma zónájáról beszélünk (Baskurt, 2007; Kameneva és Antaki, 2007). Ezért elemeztük a vörösvérsejtek mechanikus stabilitását különböző nyírófeszültség-expozíciós idő kombinációkkal.

Arwatz és Smits (2013) szintén kimutatták, hogy a haemolysis 1-2% bekövetkezik, amikor az emberi vörösvérsejteket 50 másodpercen át 50 Pa nyírófeszültségnek teszik ki. 300-

másodperces időtartamnál ugyanez a nyírófeszültség mintegy 5%-ban okoz haemolysist. 300 másodperces 100 Pa-os nyírás már 10-12 %-ban vezet haemolysishoz (Arwatz és Smits, 2013). Baskurt and Meiselman (2013) leírt egy nem-lineáris kapcsolatot a lézer-diffrakció minta területe és a mintában jelenlévő vörösvérsejtek száma között olyan szuszpenziókban, amelyeket 100 Pa nyírófeszültségnek tettek ki (minél magasabb a pixel szám, annál nagyobb a sejtszám). 100 Pa-os nyírófeszültség alkalmazása általános protokoll a vörösvérsejtek mechanikai stabilitási tesztje során annak érdekében, hogy feltárják az erythrocyták sublethális, sub-haemolyticus károsodását (Alexy és mtsai, 2011; Baskurt és Meiselman, 2013).

Vizsgálataink során nemcsak a 100 Pa-os protokollt, hanem egy alacsonyabb nyírófeszültségű beállítást is alkalmaztunk (60 Pa), tekintettel arra a tapasztalati tényre, hogy a canis vörösvérsejtjei a külső környezeti tényezőkkel, fizikai hatásokkal szembeni nagyobb haemolysis hajlammal bírhatnak. Munkánk során nem vizsgáltuk a haemolysis százalékos értékét, a szabad haemoglobin koncentrációt vagy ATP felszabadulás mértékét az alkalmazott mechanikus stabilitási teszt jellegéből adódóan (Wan és mtsai, 2008).

A mechanikus stresszt követő deformabilitás mérésnél tapasztalt, 0,95 Pa alatti nyírófeszültségnél mért magasabb EI értékek magyarázata a károsodott, fragmentálódott vörösvérsejtek jelenléte lehet. A LoRRca készülék a nyírófeszültség profilt az alacsony értékektől a magasabbak irányába generálja, ezért a nyírás megindításakor a fragmentálódott sejteknek először a nyíróerő irányába kell rendeződniük. Ez a kezdeti orientáció eredményezheti a magasabb EI értékeket, hiszen a különböző irányultságú sejtekről visszaverődő lézernyaláb diffraktogramja szélesedhet. A legalacsonyabb nyírófeszültség tartományban mért EI értékek így torzíthatják a deformabilitási eredményeket, ezért a 0,95 Pa alatt mért értékek kihagytuk az EI_{max} és $SS_{1/2}$ paraméterek kalkulációjából.

Művi érgraftok, prothesisek a keringésbe ültetése esetén nemcsak a hemodinamikai hatásokkal kell számolni, hanem a lehetséges thromboticus szövődeményekkel. Ismert, hogy

kis átmérőjű (<6 mm) graftok esetén nagyobb az esélye a thrombus korai kialakulásának (Esquivel és Blaisdell, 1986; Rutherford, 2000). Fleser és mtsai (2004) közölték, hogy speciális NO-donor bevonatú vascularis graftoknál a korai vérrögképződés nagyobb eséllyel előzhető meg, a hosszútávú átjárhatóság jobban biztosítható (Fleser és mtsai, 2004).

A thrombus képződés során feltételezhető, hogy a lument szűkítő hatás révén szintén változhat, növekedhet az átáramló vörösvérsejtekre ható nyírófeszültség mértéke is. A kísérletünk végén a graftok eltávolításra kerültek és longitudinális thrombusokat találtunk a graftokban. Feltételezzük, hogy a thrombus képződés már a korai postoperatív napokban megkezdődhetett és a 7. napra érhetette el azt a mértéket, amikor már micro-rheológiai változásokat is előidézett. Ahogy jeleztük, keringési zavarra utaló jeleket nem észleltünk az állatokon. Az Érgraft csoportban nemcsak csökkent deformabilitást láthattunk ekkor, hanem a vörösvérsejtek a mechanikus stresszel szembeni csökkent rezisztenciáját.

A haemoglobin a haematocrittal együtt mindkét csoportban csökkent, legkifejezettebben az Érgraft csoportban. A csökkenés részbeni magyarázata mindkét csoportnál a rendszeres vérvétel is lehetett, bár alkalmanként csupán 6-8 ml vér vételére került sor. Ez az állat teljes keringő vérmennyiségnek kb. 1%-át teszi ki. Ezért is fontos a Kontroll csoporthoz való viszonyítás a teljes kísérleti periódusban. A Érgraft csoportban az implantált graft jelenlétéből fakadó, feltételezhető mechanikus trauma is hozzájárulhatott a haematocrit csökkenéséhez a haemolysis fokozódása révén.

A PTFE graft beültetése az arteria femoralis érszakasz pótlására jelentős változásokat eredményezett tehát a haemorheológiai, haematológiai és coagulációs paraméterekben. A kis átmérőjű érgraftok korai thromboticus szövődményeihez vezető tények feltárása további tanulmányokat igényel, keresve a graft geometriai (hosszúság, átmérő, alak, pozíció) és az ezzel összefüggő haemodinamikai és haemorheológiai faktorok optimális kombinációját.

7. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Állatkísérletes modellben két hetes követéses vizsgálat során kimutattuk, hogy az arteria femoralis érszakasz 3,5 cm hosszúságú, 3 mm átmérőjű PTFE grafttal való pótlásakor, az első postoperatív héten nagyrészt lezajlanak a haematologiai, vörösvérsejt aggergatiós és coagulatiós időparaméterek szignifikáns változásai. A legnagyobb emelkedést az aktivált parciais thromboplasint idő mutatta a 3. és 5. postoperatív napon.
2. Az Érgraft csoportban a vörösvérsejt aggregatio az 1-3. napon volt jelentősen fokozott. A Kontroll csoporthoz viszonyítva a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékű romlást mutatott a 3., az 5. és főként a 7. posztoperatív napon a PTFE graft beültetését követően.
3. A vörösvérsejt mechanikus stabilitási teszt ezeken a napokon jól kimutatható különbségeket mutatott: az Érgraft csoportban a deformabilitás kisebb mértékben csökkent a membránstabilitás teszt során, amely a sejtek mechanikus stresszel szembeni csökkent tűrőképességét tükrözheti, együttesen az eleve rosszabb deformabilitási értékekkel.
4. A 7. nap során mért legrosszabb deformabilitási paraméterek egybeeshettek a graftot kritikusan szűkítő, illetve elzáró thrombus kialakulásával, amelyet az utólag végzett szövettani vizsgálatok megerősítettek. Ez felhívhatja a figyelmet a vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt mechanikus stabilitás mérésének fontosságára az érgraft beültetését követő korai posztoperatív napok monitorozásakor. Ezért a részletes micro-rheologiai vizsgálatok ajánlottak lehetnek a különböző méretű és geometriájú graftok követéses vizsgálataiban.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjaink érsebészeti gyakorlatában a nyitott műtétek közül a bypass operációk, graft beültetések még mindig nagy jelentőséggel bírnak. Az első néhány postoperatív nap azonban mindig kritikus. A korai thrombosis problémája a kis átmérőjű művi graftok esetén még mindig nagy kihívást jelent. Nem teljes mértékben tisztázott még, hogy a megváltozott érgeometria és áramlási tulajdonságok mikor érnek el olyan mértéket, amely már thromboticus szövődmény kialakulásához vezethet. Ezért a kérdéskör klinikai tapasztalatainak elemzése és kísérletes modellben való további, a véráramlástan tényezőket befolyásoló paraméterekre is fókuszáló részletes vizsgálatai indokoltak. Feltételeztük, hogy a micro-rheológiai paraméterek, beleértve a vörösvérsejt deformabilitás- és a membrán (mechanikus) stabilitási jellemzőket, romlást mutathatnak a korai postoperatív időszakban, és jelentőségük lehet a lehetséges komplikációk előrejelzésében illetve kimutathatóságában kísérletes modellben.

A kísérleteket beagle kutyákon végeztük (engedélyszám: 20/2011/DEMÁB). A Kontroll csoportban (n=4) 2 órás altatás történt. Az Érgraft csoportban (n=5) altatásban feltárással került a bal oldali arteria femoralis, amelyből 3,5 cm-es excíziót végeztünk, helyére azonos hosszúságú, 3 mm átmérőjű politetrafluoretilén (PTFE) graft került beültetésre end-to-end anastomosisokkal. A műtétet követően, valamint az 1., 3., 5., 7. és 14. postoperatív (p.o.) napon mindkét hátsó végtag bőrhőmérsékletét mértük, az állatok mozgását-járását figyeltük, a vena cephalica-ból vérvétel történt haematológiai, haemostaseológiai és komplett haemorheológiai vizsgálatokra.

A műtött állatok mozgásában, járásában nem látszott akadályozottság, a műtött és nem műtött végtagok bőrhőmérséklete nem tért el egymástól. Az Érgraft csoportban az első p.o. héten alacsonyabb volt a laktát koncentráció változatlan vér pH mellett. Ebben a csoportban az 1-5. p.o. napon emelkedett volt a fibrinogén koncentráció (főleg az 1-3. napon). A prothrombin idő nem mutatott változást, az aktivált parciális thromboplastin idő az első héten volt megnyúlt az alapértékekhez és a Kontroll csoporthoz képest. A fehérvérsejt szám csak a műtétet követő 1. napon volt emelkedett, a thrombocyták szám azonban a két hetes periódus során emelkedett volt. A vörösvérsejt aggregatio kismértékben fokozott az 1-5. p.o. napokon. A Kontroll csoporthoz viszonyítva a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékű romlást mutatott a 3., az 5. és főként a 7. p.o. napon a PTFE graft beültetését követően. A mechanikus stabilitási teszt ezeken a napokon jól kimutatható különbségeket mutatott: az Érgraft csoportban a deformabilitás kisebb mértékben csökkent a membránstabilitás teszt során, amely a sejtek mechanikus stresszel szembeni csökkent tűrőképességét tükrözheti.

A 7. p.o. nap során mért legrosszabb deformabilitási paraméterek egybeeshettek a graftot kritikusan szűkítő, illetve elzáró thrombus kialakulásával, amelyet az utólag végzett szövettani vizsgálatok megerősítettek. Ez felhívhatja a figyelmet a vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt mechanikus stabilitás mérésének fontosságára, érgraft beültetését követő korai postoperatív napok monitorozásakor.

SUMMARY

Still nowadays bypass operation and graft implantation have importance in open vascular surgical practice. However the first couple of postoperative days are always critical. The problem of the early thrombosis in case of small-caliber artificial grafts is still a huge challenge. It is not completely revealed so far that from what magnitude the alteration of vascular geometry and flow properties can lead to thrombotic consequences. Therefore the analysis of clinical experiences and further detailed investigations –also focusing on parameters influencing blood flow properties– in experimental model are justified. We hypothesized that the micro-rheological parameters, including red blood cell deformability and membrane (mechanical) stability properties, may show impairment in the early postoperative period, and they might have significance in the prediction and detection of possible complications.

The research was conducted on healthy beagle dogs (permission number: 20/2011/DEMÁB). In the Control group (n=4) a 2-hour anesthesia was induced. In the Grafted group (n=5) under general anesthesia the left femoral artery was prepared from which a 3.5 cm segment was excised and, as a replacement, a PTFE graft of 3 mm in diameter and equal in length was implanted with end-to-end anastomoses. After the operation and on the 1st, 3rd, 5th, 7th and 14th postoperative (p.o.) days skin temperature on both hind limbs was measured, the moving-walking of animals was checked, blood sampling was done from the cephalic vein for hematological, hemostaseological and complete hemorheological investigations.

Impairment in the movement, walking of the operated animals was not noticed, skin temperature of the operated and non-operated limbs did not show difference. Lactate concentration was lower in the Grafted group during the first p.o. week with unchanged blood pH level. In this group fibrinogen concentration was increased on the 1st-5th p.o. days (mainly on the 1-3 days). Prothrombin time did not show important alterations, while the activated partial thromboplastin time was elongated on the first week compared to the base levels and the Control group. Leukocyte count was elevated only on the 1st p.o. day but platelet count was elevated during the two-week period. Red blood cell aggregation was increased on the 1st-5th p.o. days. Compared to the Control group red blood cell deformability showed significant decrease on the 3rd, 5th and mainly on the 7th p.o. day after the implantation of the PTFE graft. Mechanical stability test showed well-detectable differences on these days: in the Grafted group deformability decreased with a smaller magnitude during membrane stability test that may reflect the decreased resistance capacity of cells against mechanical stress.

On the 7th day the worst deformability parameters were measured that can be in concordance with the development of the critically graft stenotizing or occluding thrombus that was strengthened by the later performed histological investigations. This can raise the attention to the importance of red blood cell deformability and mechanical stability measurements in the monitoring during the early postoperative days after vascular graft implantation.

9. IRODALOMJEGYZÉK

9.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Abbruzzee TA, Havens J, Belkin M, Donaldson MC, Whittemore AD, Liao JK, Conte MS. Statin therapy is associated with improved patency of autogenous infrainguinal bypass grafts. *J Vasc Surg* 2004;39:1178-1185.
2. Akopian G, Katz SG. Peripheral angioplasty with same day discharge in patients with intermittent claudication. *J Vasc Surg* 2006;44:115-118.
3. Albertini JN, Barral X, Branchereau A, Favre JP, Guidicelli H, Magne JL, Magnan PE. Long-term results of arterial allograft below-knee bypass grafts for limb salvage: a retrospective multicenter study. *J Vasc Surg*. 2000;31:426-435.
4. Alexy T, Baskurt OK, Nemeth N, Uyklu M, Wenby RB, Meiselman HJ. Effect of lanthanides on red blood cell deformability and response to mechanical stress: role of lanthanide ionic radius. *Biorheology* 2011;48:173-183.
5. Arvela E, Söderström M, Albaeck A, Aho PS, Venermo M, Lepaentalo M. Arm vein conduit vs prosthetic graft in infrainguinal revascularization for critical leg ischemia. *J Vasc Surg* 2010;52:616-623.
6. Arwatz G, Smits AJ. A viscoelastic model of shear-induced hemolysis in laminar flow. *Biorheology* 2013;50:45-55.
7. Baril DT, Marone LK, Kim J, Go MR, Chaer RA, Rhee RY. Outcomes of endovascular interventions for TASC II B and C femoropopliteal lesions. *J Vasc Surg*. 2008;48:627-633.
8. Barshes NR, Ozaki CK, Kougiass P, Belkin M. A cost-effectiveness analysis of infrainguinal bypass in the absence of great saphenous vein conduit. *J Vasc Surg* 2013;57:1466-1470.
9. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Hardeman MR, Jung F, Liao F, Meiselman HJ, Nash G, Nemeth N, Neu B, Sandhagen B, Shin S, Thurston G, Wautier JL; International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;42:75-97.
10. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyklu M, Ulker P, Cengiz M, Nemeth N, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ. Parameterization of red blood cell elongation index – shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest* 2009;69:777-788.
11. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:435-450.
12. Baskurt OK, Meiselman HJ. In vivo hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (szerk.). IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007. pp. 322-338.
13. Baskurt OK, Meiselman HJ. Red blood cell mechanical stability test. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;55:55-62.
14. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ. Determinants of red blood cell aggregation. In: *Red Blood Cell Aggregation*, Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ (szerk.). CRC Press, Boca Raton, USA, 2012. pp. 9-29.
15. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology* 2008;45:629-638.
16. Baskurt OK. Mechanisms of blood rheology alterations. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (szerk.). IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007. pp. 170-190.
17. Baskurt OK. Red blood cell mechanical stability. *Engineering* 2012;5:8-10.

18. Beard JD. Which is the best revascularization for critical limb ischemia: endovascular or open surgery? *J Vasc Surg* 2008;48:S11-S16.
19. Bhatt DL, Steg PG, Ohman EM, Hirsch AT, Ikeda Y, Mas JL, Goto S, Liao CS, Richard AJ, Röther J, Wilson PW; REACH Registry Investigators. International prevalence, recognition and treatment of cardiovascular risk factors in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* 2006;295:180-189.
20. Bhattacharya A. Red blood cell mechanics. *J Indian Med Assoc* 2011;109:668-670.
21. Blackshear PL, Blackshear GL. Mechanical hemolysis. In: *Handbook of Bioengineering*, Skalak R, Chien S (szerk.). McGraw-Hill, New York, USA, 1987. pp. 15.1-15.19.
22. Blevins WA Jr, Schneider PA. Endovascular nabagement of critical limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010;39:756-761.
23. Bogár L. Diagnosztika. In: Bernát SI, Pongrácz E. (szerk.) *A klinikai haemorheologia alapjai*. Kornétás Kiadó, Budapest, 1999. pp. 33-50.
24. Bor-Kucukatay M, Wenby RB, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H1577-H1584.
25. Bradbury AW, Adam DJ, Bell J, Forbes JF, Fowkes FG, Gillespie I, Raab G, Ruckley CV. Multicentre randomised controlled trial of the clinical and cost-effectiveness of a bypass-surgery-first versus a balloon-angioplasty-first revascularisation strategy for severe limb ischaemia due to infrainguinal disease. The Bypass versus Angioplasty in Severe Ischaemia of the Leg (BASIL) trial. *Health Technol Assess* 2010;14:1-210.
26. Brinsfield DE, Hopf MA, Geering RB, Galletti PM. Hematological changes in long-term perfusion. *J Appl Physiol* 1962;17:531-534.
27. Brothers TE, Stanley JC, Burkel WE, Graham LM. Small-caliber polyurethane and polytetrafluoroethylene grafts: a comparative study in a canine aortoiliac model. *J Biomed Mater Res* 1990;24:761-771.
28. Byrne J, Darling RC 3rd, Chang BB, Paty PS, Kreienberg PB, Lloyd WE, Leather RP, Shah DM. Infrainguinal arterial reconstruction for claudication: is it worth the risk? An analysis of 409 procedures. *J Vasc Surg* 1999;29:259-267.
29. Cavallaro A, Sterpetti AV, DiMarzo L, Sapienza P. Worsening of preoperative foot ischemia after occlusion of polytetrafluoroethylene femorotibial grafts: a comparison with saphenous vein grafts. *Ann Vasc Surg* 2013;27:634-637.
30. Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP: *Biofluid Mechanics*. CRC Press, Boca Raton, 2012, p. 85.
31. Chasis JA, Mohandas N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J Cell Biol* 1986;103:343-350.
32. Chiu JJ, Chien S. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Rev* 2011;90:327-387.
33. Chiu JJ, Usami S, Chien S. Vascular endothelial responses to altered shear stress: pathologic implications for atherosclerosis. *Ann Med* 2009;41:19-28.
34. Clark MR, Mohandas N, Shohet SB. Osmotic gradient ektacytometry: comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance. *Blood* 1983;61:899-910.
35. Clowes AW, Kirkman TR, Reidy MA. Mechanisms of arterial graft healing. Rapid transmural capillary ingrowth provides a source of intimal endothelium and smooth muscle in porous PTFE prostheses. *Am J Pathol* 1986;123:220-230.
36. Cooper RG, Kahn RA, Cornell CN, Muhrer ME. Erythrocyte mechanical fragility test. *J Clin Pathol* 1968;21:781-783.
37. Copley AL. The history of clinical haemorheology. *Clin Hemorheol* 1985;5:765-812.

38. Criqui M, Fronek A, Barrett-Connor E, Klauber MR, Gabriel S, Goodman D. The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation* 1985;71:510-551.
39. de Barros-Marques SR, Marques-Lins E, de Albuquerque MC, de Andrade-Aguiar JL. Sugarcane biopolymer patch in femoral vein angioplasty on dogs. *J Vasc Surg* 2012;55:517-521.
40. de Oliveira S, Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:63-74.
41. Esquivel CO, Blaisdell FW. Why small caliber vascular grafts fail: a review of clinical and experimental experience and the significance of the interaction of blood at the interface. *J Surg Res* 1986;41:1-15.
42. Faries PL, Logerfo FW, Arora S, Hook S, Pulling MC, Akbari CM, Campbell DR, Pomposelli FB Jr. A comparative study of alternative conduits for lower extremity revascularization: all-autogenous conduit versus prosthetic grafts. *J Vasc Surg* 2000;32:1080-1090.
43. Fleser PS, Nuthakki VK, Malinzak LE, Callahan RE, Seymour ML, Reynolds MM, Merz SI, Meyerhoff ME, Bendick PJ, Zelenock GB, Shanley CJ. Nitric oxide-releasing biopolymers inhibit thrombus formation in a sheep model of arteriovenous bridge grafts. *J Vasc Surg* 2004;40:803-811.
44. Fontaine R, Kim M, Kieny R. Surgical treatment of peripheral circulation disorders. *Helv Chir Acta* 1954;21:499-533.
45. Fujioka K, Esato K, Zempo N, Katoh T, Fujimora Y, Yoshimura K. Arterial reconstruction: justified for patients with intermitten claudication? *World J Surg* 1998;22:1039-1042.
46. Gable D. Role of total endoluminal superficial femoral artery bypass. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 2011;52:683-700.
47. Haraguchi H, Teraoka S. Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts. A review. *J Artif Organs* 2003;6:227-235.
48. Hardeman MR, Goedhart PT, Shin S. Methods in hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (szerk.). IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007. pp. 242-266.
49. Heise M, Schmidt S, Krüger U, Pfitzmann R, Scholz H, Neuhaus P, Settmacher U. Local haemodynamics and shear stress in cuffed and straight PTFE-venous anastomoses: an in-vitro comparison using particle image velocimetry. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003;26:367-373.
50. Henke PK, Blackburn S, Proctor MC, Stevens J, Mukherjee D, Rajagopalin S, Upchurch GR Jr, Stanley JC, Eagle KA. Patients undergoing infrainguinal bypass to treat atherosclerotic vascular disease are underprescribed cardioprotective medications: effect on graft patency, limb salvage, and mortality. *J Vasc Surg* 2004;39:357-365.
51. Hess F, Jerusalem C, Steeghs S, Reynders O, Braun B, Grande P. Development and a long-term fate of a cellular lining in fibrous polyurethane vascular prostheses implanted in the dog carotid and femoral artery. *J Cardiovasc Surg* 1992;33:350-365.
52. Hess F, Steeghs S, Jerusalem R, Reijnders O, Jerusalem C, Braun B, Grande P. Patency and morphology of fibrous polyurethane vascular prostheses implanted in the femoral artery of dogs after seeding with subcultivated endothelial cells. *Eur J Vasc Surg* 1993;7:402-408.
53. Hiatt W, Hoag S, Hamman R. Effect of diagnostic criteria on the prevalence of peripheral arterial disease. The San Luis Valley Diabetes Study. *Circulation* 1995;91:1472-1479.

54. Hirayama T, Yamaguchi H, Allers M, Roberts D, William-Olsson G. Changes in red cell deformability associated with anaesthesia and cardiopulmonary bypass in open-heart surgery. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1985;19:257-262.
55. Hochmuth RM, Waugh RE. Erythrocyte membrane elasticity and viscosity. *Annu Rev Physiol* 1987;49:209-219.
56. Huang C, Wang S, Qiu L, Ke Q, Zhai W, Mo X. Heparin loading and pre-endothelialization in enhancing the patency rate of electrospun small-diameter vascular grafts in a canine model. *ACS Appl Mater Interfaces* 2013;5:2220-2226.
57. Jamsén TS, Manninen HI, Tulla HE, Jaakkola PA, Matsi PJ. Infrainguinal revascularisation because of claudication: total long-term outcome of endovascular and surgical treatment. *J Vasc Surg* 2003;37:808-815.
58. Jean-Baptiste E, Blanchemain N, Martel B, Neut C, Hildebrand HF, Haulon S. Safety, healing, and efficacy of vascular prostheses coated with hydroxypropyl- β -cyclodextrin polymer: experimental in vitro and animal studies. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2012;43:188-197.
59. Jebran AF, Popov AF, Zenker D, Bireta C, Friedrich M, Danner BC, Bougioukas I, Schoendube FA, Stojanovic T. Is there an alternative to the surgical above-knee bypass in treatment of superficial femoral artery disease? Experience with Viabahn stent graft. *Vasc Endovasc Surg* 2013;47:502-506.
60. Johnson CA Jr, Vandenberghe S, Daly AR, Woolley JR, Snyder ST, Verkaik JE, Ye SH, Borovetz HS, Antaki JF, Wearden PD, Kameneva MV, Wagner WR. Biocompatibility assessment of the first generation PediaFlow pediatric ventricular assist device. *Artif Organs* 2011;35:9-21.
61. Jung F, Braune S, Lendlein A. Haemocompatibility testing of biomaterials using human platelets. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;53:97-115.
62. Kameneva MV, Antaki JF. Mechanical trauma to blood. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (szerk.). IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007. pp. 206-227.
63. Kameneva MV, Antaki JF, Borovetz HS, Griffith BP, Butler KC, Yeleswarapu KK, Watach MJ, Kormos RL. Mechanisms of red blood cell trauma in assisted circulation. Rheologic similarities of red blood cell transformations due to natural aging and mechanical stress. *ASAIO J* 1995;41:M457-M460.
64. Kasza G, Kollár L, Róth E, Vincze A, Gömöri E. Histological examination of vascular lesions caused by stent implantation in humans and in comparative experimental animal model. *Acta Biol Hung* 2012;63:1-14.
65. Kiguchi MM, Marone LK, Chaer RA, Winger DG, Shi ZY, Celis RI, Makaroun MS, Rhee RY. Patterns of femoropopliteal recurrence after routine and selective stenting endoluminal therapy. *J Vasc Surg* 2013;57:37-43.
66. Klinkert P, Post PN, Breslau PJ, van Bockel JH. Saphenous vein versus PTFE for above-knee femoropopliteal bypass. A review of the literature. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2004;27:357-362.
67. Koppensteiner R. Blood rheology in emergency medicine. *Semin Thromb Hemost*. 1996;22:89-91.
68. Koppensteiner R, Moritz A, Schlick W, Fenzl G, Roedler S, Ehringer H, Wollner E. Blood rheology after cardiac valve replacement with mechanical prostheses or bioprostheses. *Am J Cardiol* 1991;67:79-83.
69. Krankenberg H, Schlüter M, Steinkamp HJ, Bürgelin K, Scheinert D, Schulte KL, Minar E, Peeters P, Bosiers M, Tepe G, Reimers B, Mahler F, Tübler T, Zeller T. Nitinol stent implantation versus percutaneous transluminal angioplasty in superficial

- femoral artery lesions up to 10 cm in length: the femoral artery stenting trial (FAST). *Circulation* 2007;116:285-292.
70. Kuzuya A, Matsushita M, Oda K, Kobayashi M, Nishikimi N, Sakurai T, Komori K. Healing of implanted expanded polytetrafluoroethylene vascular access grafts with different internodal distances: a histologic study in dogs. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;28:404-409.
 71. Lauterbach SR, Torres GA, Andros G, Oblath RW. Infragenicular polytetrafluoroethylene bypass with distal vein cuffs for limb salvage: a contemporary series. *Arch Surg* 2005;140:487-493.
 72. Lawrence PF, Chandra A. When should open surgery be the initial option for critical limb ischaemia? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010;39:S32-S37.
 73. Lee SS, Ahn KH, Lee SJ, Sun K, Goedhart PT, Hardeman MR. Shear induced damage of red blood cells monitored by the decrease of their deformability. *Korea-Austr Rheol J*. 2004;16:141-146.
 74. Lees T, Troeng T, Thomson IA, Menyhei G, Somi G, Beiles B, Jensen LP, Palombo D, Venermo M, Mitchell D, Halbakken E, Wigger P, Heller G, Björck M. International variations in infrainguinal bypass surgery – a VASCUNET report. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2012;44:185-192.
 75. Lensvelt MMA, Wikkeling ORM, Van oostayen JA, Roukema JG, Zeebregts CJ, Reijnen MMPJ. The use of endografts to create an endoluminal femoropopliteal bypass after failed above-knee femoropopliteal open bypass surgery. *Vas Endovasc Surg* 2012;46:338-341.
 76. Leverett LB, Hellums JD, Alfrey CP, Lynch BC. Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J* 1972;12:257-273.
 77. Lin PH, Chen C, Bush RL, Yao Q, Lumsden A, Hanson SR. Small-caliber heparin-coated ePTFE grafts reduce platelet deposition and neointimal hyperplasia in a baboon model. *J Vasc Surg* 2004;39:1322-1328.
 78. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 2005;12:5-15.
 79. Loh SA, Howell BS, Rockman CB, Cayne NS, Adelman MA, Gulkarov I, Veith FJ, Maldonado TS. Mid- and long-term results of the treatment of infrainguinal arterial occlusive disease with precuffed expanded polytetrafluoroethylene grafts compared with vein grafts. *Ann Vasc Surg* 2013;27:208-217.
 80. Matsunaga K, Takasawa C, Seiji K, Takese K, Takahashi S, Matsuhashi T, Nakamura Y, Fujisihima F. Endovascular aneurismal models at the external iliac artery of dogs. *J Vasc Surg* 2012;55:1742-1748.
 81. McGah PM, Leotta DF, Beach KW, Zierler RE, Riley JJ, Aliseda A. Hemodynamic conditions in a failing peripheral artery bypass graft. *J Vasc Surg* 2012;56:403-409.
 82. Meiselman HJ. Morphological determinants of red cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest* 1981;Suppl 156:27-34.
 83. Menu P, Stoltz JF, Kerdjoudj H. Progress in vascular graft substitute. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;53:117-129.
 84. Meram E, Yilmaz BD, Bas C, Atac N, Yalcin O, Meiselman HJ, Baskurt OK. Shear stress-induced improvement of red blood cell deformability. *Biorheology* 2013;50:165-176.
 85. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 1993;30:171-192.

86. Naito Y, Shinoka T, Duncan D, Hibino N, Solomon D, Cleary M, Rathore A, Fein C, Church S, Breuer C. Vascular tissue engineering: Towards the next generation of vascular grafts. *Adv Drug Deliv Rev* 2011;63:312-323.
87. Németh N, Furka I, Mikó I. Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: An overview on our experimental surgical data. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014;57:215-225.
88. Neu B, Meiselman HJ. Red blood cell aggregation. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ (szerk.). IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2007. pp. 114-136.
89. Neville RF, Capone A, Amdur R, Lidsky M, Babrowicz J, Sidawy AN. A comparison of tibial artery bypass performed with heparin-bonded expanded polytetrafluorethylene and great saphenous vein to treat critical limb ischaemia. *J Vasc Surg* 2012;56:1008-1014.
90. Neville RF, Elkins CJ, Alley MT, Wicker RB. Hemodynamic comparison of differing anastomotic geometries using magnetic resonance velocimetry. *J Surg Res* 2011;169:311-318.
91. Neville RF, Lidsky M, Capone A, Babrowicz J, Rahbar R, Sidawy AN. An expanded series of distal bypass using the distal vein patch technique to improve prosthetic graft performance in critical limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2012;44:177-182.
92. Neville RF, Tempesta B, Sidway AN. Tibial bypass for limb salvage using polytetrafluorethylene and a distal vein patch. *J Vasc Surg* 2001;33:266-271.
93. Nolan B, Finlayson S, Tosteson A, Powell R, Cronenwett J. The treatment of disabling intermittent claudication in patient with superficial femoral artery occlusive disease—decision analysis. *J Vasc Surg* 2007;45:1179-1184.
94. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG, TASC II working group. Inter-Society Consensus for the management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg* 2007;45Suppl:S5-S68.
95. Obon-Dent M, Hernandez-Vila E. Jetstream atherectomy for subacutely or chronically occluded femoro-popliteal prosthetic bypass grafts: a report of three cases. *Catheter Cardiovasc Interv* 2013;82:E529-E534.
96. Papp J, Tóth A, Sándor B, Kiss R, Rábai M, Kenyeres P, Juricskay I, Késmárky G, Szabados S, Tóth K. The influence of on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting on hemorheological parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;49:331-346.
97. Perera GB, Lyden SP. Current trends in lower extremity revascularization. *Surg Clin N Am* 2007;87:1135-1147.
98. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and hemorheology. *Ann Rev Fluid Mech* 2005;37:43-69.
99. Randon C, Jacobs B, De Ryck F, Beele H, Vermassen F. Fifteen years of infrapopliteal arterial reconstruction with cryopreserved venous allografts for limb salvage. *J Vasc Surg* 2010;51:869-877.
100. Rocha-Singh KJ, Jaff MR, Crabtree TR, Bloch DA, Ansel G, VIVA Physicians Inc. Performance goals and endpoint assessments for clinical trials of femoropopliteal bare nitinol stents in patients with symptomatic peripheral arterial disease. *Catheter Cardiovasc Interv* 2007;69:910-919.
101. Rutherford R. Graft thrombosis. In: *Vascular surgery*, Rutherford R (szerk). 5th Edition. Saunders, Philadelphia, USA, 2000. pp. 719-725.
102. Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, Johnston KW, Porter JM, Ahn S, Jones DN. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. *J Vasc Surg* 1997;26:517-538.

103. Sakota D, Sakamoto R, Sobajima H, Yokoyama N, Waguri S, Ohuchi K, Takatani S. Mechanical damage of red blood cells by rotary blood pumps: selective destruction of aged red blood cells and subhemolytic trauma. *Artif Organs* 2008;32:785-791.
104. Saldanha C. Fibrinogen interaction with the red blood cell membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;53:39-44.
105. Sandza JG Jr, Clark RE, Weldon CS, Sutura SP. Subhemolytic trauma of erythrocytes: recognition and sequestration by the spleen as a function of shear. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1974;20B:457-462.
106. Sauvage LR, Walker MW, Berger K, Robel SB, Lischko MM, Yates SG, Logan GA. Current arterial prostheses. Experimental evaluation by implantation in the carotid and circumflex coronary arteries of the dog. *Arch Surg* 1979;114:687-691.
107. Saxxon RR, Dake MD, Vogelzang RL, Katzen BT, Becker GJ. Randomized multicenter study comparing expanded polytetra-fluorethylen-covered endoprosthesis placement with percutaneous transluminal angioplasty in treatment of superficial femoral artery occlusive disease. *J Vasc Interv Radiol* 2008;19:823-832.
108. Schanzer A, Hevelone N, Owens CD, Belkin M, Bandyk DF, Clowes AW, Moneta GL, Conte MS. Technical factors affecting autogenous vein graft failure: observations from a large multicenter trial. *J Vasc Surg* 2007;46:1180-1190.
109. Schillinger M, Minar E. Claudication: treatment options for femoropopliteal disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2011;54:41-46.
110. Scott EC, Biuckians A, Light RE, Scibelli CD, Milner TP, Meier GH 3rd, Panneton JM. Subintimal angioplasty for the treatment of claudication and critical limb ischaemia: 3 year results. *J Vasc Surg* 2007;46:959-964.
111. Selvin E, Erlinger T. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Circulation* 2004;110:738-743.
112. Setacci C, de Donato G, Teraa M, Moll FL, Ricco JB, Becker F, Robert-Ebadi H, Cao P, Eckstein HH, De Rango P, Diehm N, Schmidli J, Dick F, Davies AH, Lepäntalo M, Apelqvist J. Chapter IV: Treatment of critical limb ischaemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2011;42 Suppl 2:S43-S59.
113. Shammass SW. Epidemiology, classification, and modifiable risk factors of peripheral arterial disease. *Vasc Health Risk Manag* 2007;3:229-234.
114. Shandall AA, Leather RP, Corson JD, Kupinski AM, Shah DM. Use of the short saphenous vein in situ for popliteal-to-distal artery bypass. *Am J Surg* 1987;154:240-244.
115. Shu C, Guo Y, Zhou X, Wan H, Yan J, Yuan L. Effect of postoperative fractionated radiotherapy on canine ePTFE graft neointima and anastomotic stoma healing: a preliminary experimental study. *Asian J Surg* 2011;34:121-127.
116. Silver MJ, Ansel GM. Femoropopliteal occlusive disease: diagnosis, indications for treatment, and results of interventional therapy. *Catheter Cardiovasc Interv* 2002;56:555-561.
117. Siracuse JJ, Giles KA, Pomposelli FB, Hamdan AD, Wyers MC, Chaikoff EL, Nedeau AE, Schermerhorn ML. Results for primary bypass versus primary angioplasty/stent for intermittent claudication due to superficial femoral artery occlusive disease. *J Vasc Surg* 2012;55:1001-1007.
118. Song Y, Feijen J, Grijpma DW, Poot AA. Tissue engineering of small-diameter vascular grafts: A literature review. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;49:357-374.
119. Sousa LH, Ceneviva R, Coutinho Netto J, Mrué F, Sousa Filho LH, Castro e Silva Od. Morphologic evaluation of the use of a latex prosthesis in videolaparoscopic inguinoplasty: an experimental study in dogs. *Acta Cir Bras* 2011;26 Suppl 2:84-91.

120. Szokoly M, Nemeth N, Furka I, Miko I. Hematological and hemostaseological alterations after warm and cold limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Acta Cir Bras* 2009;24:338-346.
121. Takagi H, Goto S, Matsui M, Manabe H, Umemoto T. A contemporary meta-analysis of Dacron versus polytetrafluorethylene grafts for femoropopliteal bypass grafting. *J Vasc Surg* 2010;52:232-236.
122. Tatterton M, Wilshaw SP, Ingham E, Homer-Vanniasinkam S. The use of antithrombotic therapies in reducing synthetic small-diameter vascular graft thrombosis. *Vasc Endovascular Surg* 2012;46:212-222.
123. Taylor SM, Kalbaugh CA, Healy MG, Cass AL, Gray BH, Langan EM 3rd, Cull DL, Carsten CG 3rd, York JW, Snyder BA, Youkey JR. Do current outcome justify more liberal use of revascularisation for vasculogenic claudication? A single center experience of 1.000 consecutively treated limbs. *J Am Coll Surg* 2008;206:1053-1062.
124. Ulker P, Sati L, Celik-Ozenci C, Meiselman HJ, Baskurt OK. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes. *Biorheology* 2009;46:121-132.
125. Wan J, Ristenpart WD, Stone HA. Dynamics of shear-induced ATP release from red blood cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:16432-16437.
126. Watanabe N, Sakota D, Ohuchi K, Takatani S. Deformability of red blood cells and its relation to blood trauma in rotary blood pumps. *Artif Organs* 2007;31:352-358.
127. Yedgar S, Koshkaryev A, Barshtein G. The red blood cell in vascular occlusion. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32:263-268.
128. Zhan F, Fan Y, Deng X. Swirling flow created in a glass tube suppressed platelet adhesion to the surface of the tube: its implication in the design of small-caliber arterial grafts. *Thromb Res* 2010;125:413-418.



9.2. Az értekezés alapjául szolgáló és egyéb *in extenso* közlemények hitelesített listája

DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/57/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Tóth Csaba

Neptun kód: XLQEQ1

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Tóth, C.**, Klárik, Z., Kiss, F., Tóth, E., Hargitai, Z., Németh, N.: Early postoperative changes in hematological, erythrocyte aggregation and blood coagulation parameters after unilateral implantation of polytetrafluoroethylene vascular graft in the femoral artery of beagle dogs. *Acta Cir. Bras.* 29 (5), 320-327, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502014000500006>
IF:0.57 (2013)

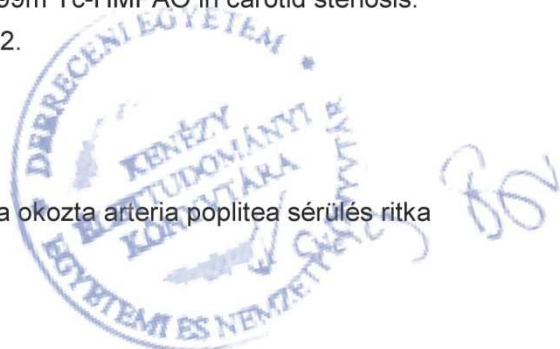
2. **Tóth, C.**, Kiss, F., Klárik, Z., Gergely, E., Tóth, E., Pető, K., Ványolos, E., Mikó, I., Németh, N.: Following-up changes in red blood cell deformability and membrane stability in the presence of PTFE graft implanted into the femoral artery in a canine model. *Korea-Aust. Rheol. J.* 26 (2), 209-215, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s13367-014-0023-3>
IF:0.632 (2013)





További Közlemények

3. Daróczy J., Kovács L.A., **Tóth C.**, Szolnok G., Csernus M., Hunyadi J., Sugár I., Bihari I., Mecsek L., Szokoly M.: A nem gyógyuló (krónikus) bőrsebek ellátásának irányelve II. rész. *Érbetegségek*. 21 (4), 123-135, 2014.
4. **Tóth C.**, Lőrincz Á., Olvasztó S., Garai I., Kálvin B.: A 18-Fluorodeoxyglucose PET szerepe a graftsuppuratio pontosabb diagnózisában. *Érbetegségek*. 16 (3), 79-84, 2009.
5. Garai I., **Tóth C.**, Szabados L., Sóvágó J., Tóth L., Csiki Z.: A metabolikus képalkotás - PET, PET/CT - onkosebészeti vonatkozásai =Metabolic imaging - PET, PET/CT - in oncology. *Magyar Seb.* 61 (4), 217-224, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/maseb.61.2008.4.2>
6. Papp L., Litauszky K., Bodnár F., Olvasztó S., Kosztyu L., **Tóth C.**: A rupturált abdominalis aorta aneurysma (RAAA) kezelési elveiről: Szükséges-e a szemléletváltozás az endovascularis érában. *Anaesthesiol. Intenziv Ther.* 37 (1), 8-16, 2007.
7. Litauszky K., **Tóth C.**, Bodnár F., Magyar T., Papp L.: Az arteria carotis extracranialis szakaszának aneurysmáiról-electiv és rupturált aneurysma-esetünk kapcsán. *Érbetegségek*. 14 (4), 139-144, 2007.
8. Garai I., Varga J., Szomják E., **Tóth C.**, Csiki Z., Olvasztó S., Galuska L.: Az agyi vérátfolyás rezerv kapacitásának mérése 99mTc HMPAO-val carotis angioplasztikán átesett betegeknél. *Érbetegségek*. 10 (3), 63-68, 2003.
9. Garai I., Varga J., Szomják E., **Tóth C.**, Bánk J., Ficzer A., Olvasztó S., Galuska L.: Quantitative assessment of blood flow reserve using 99m Tc-HMPAO in carotid stenosis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 29 (2), 216-220, 2002.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00259-001-0688-y>
IF:3.568
10. **Tóth C.**, Olvasztó S., Dinya T.: Femurcondylus exostosis okozta arteria poplitea sérülés ritka esete:(Esetismertetés). *Magyar Seb.* 54, 115-117, 2001.





11. Olvasztó S., Litauszky K., Rácz T., Kosztyu L., **Tóth C.**, Antek C.: Fejlődés és szemléletváltás az arteria carotis sebészetében Debrecenben.
Magyar Seb. 54, 105-109, 2001.
12. Garai I., Szomják E., **Tóth C.**, Varga J., Bánk J., Ficzere A., Olvasztó S., Csiki Z., Galuska L.:
Kvantitatív agyi vérátfolyás rezerv vizsgálatok 99mTc-HMPAO SPECT-tel nyaki verőér szűkületben.
Érbetegségek. 8 (3), 75-79, 2001.
13. Litauszky K., Olvasztó S., Rácz T., Kosztyu L., **Tóth C.**: Leriche syndroma és zsigeri arteriás kompresszió együttes kezelési stratégiája..
Érbetegségek. 7 (4), 123-126, 2000.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 4,77

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
1,202**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2015.03.06.



10. Tárgyszavak

perifériás érszakasz pótlás

művi PTFE érgraft

kisátmérőjű érgraft

korai graft elzáródás

állatkísérletes modell

micro-rheologia

vörösvérsejt deformabilitás

vörösvérsejt mechanikus stabilitás

vörösvérsejt aggregatio

peripheral vascular prosthesis

artificial vascular PTFE graft

small caliber graft

early graft failure

experimental animal model

micro-rheology

red blood cell deformability

red blood cell mechanical stability

red blood cell aggregation

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Németh Norbert Tanár Úrnak, a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Műtéttani Tanszék vezetőjének, hogy tanszékén az értekezés alapjául szolgáló kísérletet elvégezhettem. Végig nagy segítségemre volt, a haemorheológiában kiemelkedő tudományos munkássága, tapasztalata, ötletei alapvetően hozzájárultak a közlemények illetve az értekezés megszületéséhez.

Köszönet illeti támogatásukért és segítségükért Dr. Lampé Zsoltot, a Kenézy Gyula Kórház és Rendelőintézet Főigazgatóját és Dr. Mikó Lászlót, a kórház Orvosigazgatóját.

Köszönöm Dr. Damjanovich László Professzor Úrnak, a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Sebészeti Intézet igazgatójának útmutatását, javaslatait.

Külön köszönetem fejezem ki a Sebészeti Intézet, Érsebészeti Tanszékén dolgozó Dr. Olvasztó Sándor Főorvos Úrnak, akitől az érsebészeti tudásom jelentős részét sajátítottam el. Csaknem húsz éve számíthatok szakmai segítségére, tanácsaira. Kiváló emberi és szakmai kvalitásai megkérdőjelezhetetlenek.

Hálás köszönetem a Kenézy Kórház Végtagsebészeti Osztály, a Sebészeti Intézet Érsebészeti Tanszék és a Sebészeti Műtéttani Tanszék összes dolgozójának munkájukért, segítségükért, támogatásukért.

Utoljára, de nem utolsósorban hálás vagyok a Családomnak mindenért, amit tőlük kaptam!

12. Függelék

Az értekezés alapját képző *in extenso* közlemények másolata