

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A végtagi ischaemia-reperfusio szöveti perfusióra kifejtett
hatásának és a károsodások csökkentési lehetőségeinek
vizsgálata**

Dr. Körei Csaba László

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2024

A végtagi ischaemia-reperfusio szöveti perfúzióra kifejtett hatásának és a károsodások csökkentési lehetőségeinek vizsgálata

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

Írta: Dr. Körei Csaba László traumatológus szakorvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskolája
(Experimentális és Operatív Orvostudományok Programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert, az MTA doktora

Az értekezés bírálói: Prof. Dr. Szokoly Miklós, PhD

Dr. Tóth Dezső, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Szokoly Miklós, PhD

Dr. Tóth Dezső, PhD

Dr. Ferencz Andrea, az MTA doktora

Prof. Dr. Soltész Pál, az MTA doktora

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Belgyógyászati Intézet „A” épület
előadóterme

2024. március 20., 13:00

1. BEVEZETÉS

Az alsó végtagi keringési rendellenességek az orvostudomány számos területén jelentenek kihívást. A probléma kialakulhat akut módon, de bizonyos betegségek szövődményeként krónikus is lehet. Egyes érsebészeti, traumatológiai vagy ortopédiai műtétek során a végtagi keringés sérül, hypoperfusio vagy ischaemia alakul ki, ami jelentős morbiditással és mortalitással járó ischaemia-reperfusió (I/R) sérüléshez vezet. A becslések szerint az előfordulási gyakoriság 1,5 eset/10000 fő. Éppen ezért fontos a keringés mielőbbi helyreállítása az adott szerv, szövet ischaemiás tolerancia-idején belül. Az emberi izomszövet kritikus ischaemiás ideje meleg ischaemiában körülbelül 2,25 óra, az irreverzibilis izomkárosodás 3 órás ischaemia után kezdődik és 6 óra elteltével majdnem teljes szövetelhalás figyelhető meg. Ischaemiás károsodás nemcsak végtagműtétek során, hanem általános sebészeti beavatkozások, például szervátültetések során is előfordulhat.

A vérellátás zavara következtében jelentősen csökken vagy akár meg is szűnhet a sejtek oxigénnel és tápanyagokkal történő ellátása, amely sejtkárosodáshoz, valamint sejtelhaláshoz vezethet. Az ischaemia során számos sejtszintű elváltozás következik be. A mitochondriális funkció, az iontranszport és az enzimaktivitás károsodhat. A kimutatható változások közé tartozik az ATP gyors defoszforilációja AMP-vé, amelyet további lebomlás követ. A károsodott membránfunkciók felborítják az ionegyensúlyt, megemelkedik a H^+ , Na^+ és Ca^{2+} szint. Az endothel-sejtek dysfunciója alakul ki, szabadgyökök képződnek, amelyek károsítják a szénhidrátokat, lipideket, enzimeket, membránlipideket és DNS-t. Az elhalt sejtekből felszabaduló intracytoplasmaticus komponensek gyulladásozó folyamatokat indítanak el, és citokineket (TNF α , IL-1 β , IL-6) szabadítanak fel.

Kiemelkedően fontos a keringés mihamarabbi helyreállítása, a reperfusio megkezdése. Ugyanakkor paradox módon ez a sejtek károsodását okozhatja. A módosult anyagcserejű sejtek fokozottabb veszélynek vannak kitéve az oxidatív stressz szempontjából, ami a friss, oxigénben gazdag vér megérkezésével, nagy valószínűséggel bekövetkezik. Ezen két folyamatot együttesen ischaemia-reperfusió károsodásnak nevezzük.

Ortopéd-traumatológus sebészként kollégáimhoz hasonlóan mindennapi munkánk során számos műtétet végzünk. Legtöbbször végtagokon, de ha a szükség úgy hozza, egyéb testtájakon is végzünk műtétet. Ezen szerteágazó beavatkozások a csontegyesítő műtétektől, az ér- és idegvarrattól a kiterjedt lágyrészkárosodások műtéti kezeléséig. Szinte bele sem gondolunk, hogy milyen sok tényező van, amely befolyásolja munkánk sikerét és betegeink

felépülését. Elhúzódó sebgyógyulás, műtéti szövődmény, sikertelen kezelés esetén rendkívül sok paramétert kell számításba venni, melyek eltérése, megváltozása, egyensúlyának felborulása megpecsételheti a kezelés sikerét.

A vér áramlásával, valamint az azt szabályozó komponensekkel foglalkozó tudományág a haemorheologia. A micro-rheológiai paraméterek (vörösvérsejtek deformabilitása és aggregációja) számos patofiziológiai állapotban jelentős változást mutatnak, beleértve olyan állapotokat, mint a szabad gyökök indukálta ártalom, infammatorikus állapotok, szepszis, különböző anyagcserezavarok, valamint hematológiai, cardiovascularis és cerebrovasculáris betegségek.

Az ischaemia-reperfúziós károsodás kiemelkedő jelentőséggel bír, mivel anyagcsere-elváltozások, szabadgyökös reakciók és akut fázis reakciók következtében több támadásponton is hatást gyakorol a micro-rheológiai paraméterekre.

Bár számos tanulmány foglalkozott a vázizmok ischaemia-reperfúziós károsodásának következményeivel, valamint különböző farmakonok, valamint a pre- és poszt-kondicionálás kedvező hatásával, nagyon kevés tanulmány vizsgálta a vázizmok I/R károsodásának a haemorheológiai paraméterekre gyakorolt hatását.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Klinikai vizsgálat

1. Vértelenségben végzett elektív térdműtét kapcsán a beavatkozással együtt járó ischaemia-reperfusio hatásának vizsgálata a haematologiai paraméterekre, a teljes vér viszkozitásra és a micro-rheologiai paraméterekre (vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio).
2. Nátrium-diklofenak, mint non-szteroid gyulladáscsökkentő (NSAID) intraoperatív alkalmazásának és az ischaemiás prekondicionálás hatásának vizsgálata a fenti paraméterekre.

Kísérletes tanulmány

1. Patkány modellen 120 perces, tourniquet-vel előidézett egyoldali alsó végtagi ischaemia-reperfusió károsodás mértékének megítélése haematologiai, micro-rheologiai, mikrokeringési, metabolikus- és vérgáz paraméterek, valamint szövettani vizsgálat alapján.
2. Az ischaemia-reperfusio okozta károsodás mérséklése pre- és poszt kondicionálási technikák segítségével, valamint a két technika hatásosságának összehasonlítása a fenti paraméterek segítségével.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Klinikai vizsgálat

3.1.1. Betegcsoportok

Tizenhét beteget (8 férfi és 9 nő, életkor: $54,41 \pm 22,67$ év; BMI: $26,81 \pm 4,12$ kg/m²) vontunk be a vizsgálatba (Klinikai Etikai Bizottság eng. sz.: DEOEC RKEB/IKEB 3848-2013). Elektív műtét történt egyrészt konzervatív kezelésre rosszul reagáló primer arthrosis miatt, ahol teljes térdízületi protézis (TEP) beültetés történt. A betegek másik csoportjánál korábbi baleset, vagy sportsérülés során elszenvedett elülső keresztszalag szakadást követően arthroscopos elülső keresztszalag (LCA) pótlás történt saját íngraft felhasználásával. A műtétek vértelenségben, a combra felhelyezett mandzsetta alkalmazásával történtek. A teljes műtéti idő $96,94 \pm 24,74$ perc volt, ezen belül az ischaemiás (tourniquet) idő: $93,11 \pm 25,07$ perc. Valamennyi beteg intraoperatív volumenterápiában részesült (Isolyte oldatos infúzió $1400 \text{ ml} \pm 620 \text{ ml}$).

- Control csoport (n=7): a műtéten kívül nem történt egyéb beavatkozás
- NSAID csoport (n=5): i.v. nátrium-diklofenak (4 mg/ttkg) 5-10 perccel a reperfusio kezdete előtt és 6 órával utána
- Prekondicionált csoport (n=5): tourniquet-vel végzett távoli szervi ischaemiás prekondicionálás (3x15 perc ischaemia, 15 perces reperfusiók periódusokkal a felső végtagon) egy nappal a műtét előtt

Mindegyik csoportban vegyesen szerepeltek férfiak és nők, TEP és LCA pótló műtétek.

3.1.2. Mintavételi protokoll

Vérmintákat vettünk az operált oldal femoralis vénájából (BD Vacutainer® csövek, 1,8 mg/ml K3-EDTA; Becton, Dickinson and Company, USA) az ischaemia előtt, a reperfusio 5. és 10. percében, majd az 1. és 2. posztoperatív napon haematologiai paraméterek, teljes vér viszkozitás, vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio meghatározására.

3.2. Kísérletes tanulmány

3.2.1. Kísérleti állatok, anaesthesia, műtéti protokoll

A kísérleteket a megfelelő engedély birtokában (regisztrációs szám: 25/DEMÁB/2016.) a hazai és EU szabályozásnak megfelelően [Magyar Állatvédelmi törvény (XVIII/1998. törvény és a 2010/ irányelv 63/EU)] végeztük.

Harminc 8 hetes hím Crl:WI patkányt vontunk be a kísérletbe. Standard ketrecekben tartottuk őket váltakozó nappali és éjszakai fényviszonyok között, 12 órás ciklusban. Szabad hozzáférést biztosítottunk az ivóvízhez és a hagyományos rágsálótáphoz.

Anaesthesia során a patkányok ketamin-hidroklorid (100 mg/ttkg, CP-Ketamin) és xilazin (10 mg/ttkg, CP-Xylazin) i.p. injekcióját kapták Atropinnal (0,05 mg/ttkg) kombinálva. Az érzéstelenség fenntartása érdekében a kezdeti adag egyharmadát adtuk be az eljárás folyamán.

Az állatok jobb artéria carotis communisába kanült helyeztünk a vérnyomás monitorozása céljából.

3.2.2. Kísérleti csoportok

Az állatokat véletlenszerűen négy csoportra osztottuk:

- Control (C) csoport (n=8, 320,4±9 g): az arteria carotis communis kanüláláson kívül egyéb beavatkozásra nem került sor.
- Ischaemia-reperfusió (I/R) csoport (n=7, 376,4±42,4 g): egyoldali hátsó végtagi ischaemiát idéztünk elő a comb körül alkalmazott tourniquet segítségével, a jobb inguinális régió alatt. 120 perces ischaemiát követően a leszorítást felengedtük a teljes reperfusio érdekében.
- Prekondicionált (PreC) csoport (n=8, 388,6±39,1 g): három 10 perces ischaemia-reperfusió ciklus (a leszorítás váltakozó meghúzásával, majd felengedésével) történt az elhúzódó ischaemia előtt (ld. I/R csoport).
- Posztkondicionált (PostC) csoport (n=7, 386,7±46 g): a 120 perces ischaemiát követően, a reperfusio kezdetén 3x10 perces ischaemia-reperfusió ciklusokat alkalmaztunk.

Az állatok fájdalomcsillapítás céljából Flunixin A.U.V. injectiót (Norbrook Laboratories Ltd.) kaptak i.m., 10 mg/ttkg dózisban a 2 órás megfigyelési, illetve reperfusió időszakot követően.

3.2.3. Mérési és mintavételi protokoll

A kísérlet során vérmintát vettünk a laterális farokvénából a 120 perces ischaemia előtt (alap), a tourniquet eltávolítása után, azaz a reperfusio kezdetén, illetve a PostC csoportban a posztkondicionálás végén, majd egy héttel később. Alkalmanként 0,3-0,5 ml vért vettünk (véralvadásgátló: 1,8 mg/ml K3-EDTA). A m. biceps femorisból szövettani mintát vettünk egy héttel a beavatkozást követően.

3.2.4. Szövetteni vizsgálat

A kísérleti állatoktól egy héttel a műtét után általános érzéstelenítésben szövetmintákat vettünk a m. biceps femoris izomból. A mintákat 5%-os formaldehidben fixáltuk, felszálló alkoholsorban dehidratáltuk, paraffinba ágyasztuk, 3-5 µm-es metszetekre mikrotomizáltuk, haematoxylinnel és eozinnal (H&E) festettük, majd optikai mikroszkóp alatt értékeltük. Ischaemia szövettani jeleit kerestük, mint sejtduzzadás, sejtmagok duzzadása, normál izomstriáció felbomlása, szarkoplazmatikus myofibrillumok felbomlása, gyulladással infiltráció.

3.2.5. Szöveti microcirculatio mérése

A szöveti microcirculatio non-invazív meghatározására Laser-Doppler elven működő egycsatornás készüléket (LD-01 Laser Doppler Flowmeter, Experimetria Kft.) alkalmaztuk. A készülék a szöveti áramlást BFU-ban (blood flux unit) adja meg, ami a mozgó vörösvérsejtekről visszaverődő lézerefény hullámhosszának változásán alapszik. A BFU a vörösvérsejtek számának (relatív koncentrációjának) és sebességének integráltjaként értelmezhető, dimenzió nélküli szám.

A mérőfejet (NP-100 Standard Pencil Probe, Oxford Optronix-Experimetria Kft.) a lateralis talppárnára helyezve, mindkét talpon a leszorítást megelőző ill a felengedést követő 10. percben, valamint az 1. posztoperatív héten mértünk. A jel stabilizálódását követően 10-20 másodperces szakaszokat regisztráltunk, amit offline elemeztünk.

3.2.6. Talphőmérséklet mérése

A szöveti microcirculatio mérésével megegyező időpontokban és pontokon mindkét talpon bőr-hőmérsékletet is mértünk a talp központi részén, fülhőmérő segítségével (ri-thermo® N Professional Clinical Thermometer, Germany).

3.3. Laboratóriumi vizsgálatok

Haematologiai paraméterek

A haematologiai paramétereket Sysmex K-4500 automatával (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japán) állapítottuk meg. Vörösvérsejtszám (RBC [$10^6/\mu\text{l}$]), haematocrit (Hct (%)), haemoglobin (Hgb [g/dl]), fehérvérsejtszám (WBC [$10^3/\mu\text{l}$]), thrombocyták száma (Plt [$10^3/\mu\text{l}$]), 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]), és átlagos thrombocytá térfogat (mean platelet volume, MPV, [fl]), meghatározás történt.

Teljes vér viszkozitás

A teljes vér viszkozitásának (WBV [mPas]) vizsgálatához Hevimet-40 kapilláris viszkozimétert (Hemorex Kft., Magyarország) használtunk. A 90 s^{-1} nyírási sebességnél mért értékeket elemeztük. A mintamennyiség korlátozottsága miatt a plasma viszkozitását nem vizsgáltuk.

Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejtek deformálhatóságának vizsgálatára LoRRca MaxSis Osmoscan (RR Mechatronics BV, Zwaag, Hollandia) ektacytométert használtunk, amely az elongációs indexet (EI) a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében határozza meg. A vizsgálatokhoz polyvinilpirrolidon (PVP), normál foszfát pufferelt sóoldatot (PBS) készítettünk (PVP: 360 kDa, Sigma-Aldrich Co., St. Luis USA; PVP-PBS oldat viszkozitása = 29,5 m Pas, ozmolalitás = 300 mOsmol/kg, pH = 7,2). Az összehasonlításhoz 3 Pa nyírófeszültségnél mért EI értékeket, valamint az EI-SS görbék parametrizálásával (Lineweaver-Burk analízis) nyert maximális elongációs indexet (EI_{\max}), az EI_{\max} feléhez tartozó nyírófeszültséget ($SS_{1/2}$, [Pa]), valamint az EI_{\max} és az $SS_{1/2}$ egymáshoz viszonyított arányát analizáltuk. Deformabilitás romlását jelzi a EI_{\max} csökkenése, illetve az $SS_{1/2}$ emelkedése.

Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt-aggregatiót két különböző módszerrel, Myrenne MA-1 erythrocyta-aggregométerrel (Myrenne GmbH, Németország) és LoRRca készülékkel vizsgáltuk.

A fénytranszmissziós módszer azon alapszik, hogy adott szögsebesség mellett a vörösvérsejtek diszaggregálódnak, ekkor a minta fényáteresztőképessége redukálódik, majd a rotor leállítását követően a sejtek újra összeállnak és a fényáteresztő képesség fokozódik. A készülék M (álló rotor) és M1 (lassú forgás) üzemmódjában, a művelet 5. és 10. másodpercében megállapított eredményekből az M 5s, M 10s, M1 5s és M1 10 s index paramétereket határoztuk meg. Növekedésük az aggregatio fokozódását jelzi.

A LoRRca készülékkel az aggregálódo vérmentárol visszaveródo lézerefény reflexióján alapuló szillektometriai megközelítéssel az aggregatiós indexet (AI [%]), az intenzitásgörbék amplitúdóját (Amp) és a félamplitúdohoz tartozó időt ($t_{1/2}$ [s]) határoztuk meg. Aggregatio fokozódás alkalmával az AI és az Amp növekszik, a $t_{1/2}$ rendszerint csökken. Az 1 ml vért igénylő vizsgálatokat technikai okok és a mintavételi mennyiség korlátozottsága miatt a klinikai vizsgálatok esetében csak a Control és NSAID csoportban vizsgáltuk.

Vérgáz analízis

Epoc® Blood Analysis System (Siemens Healthineers, Erlangen, Németország) berendezés segítségével mértük a vér oxigén- és szén-dioxid telítettségét (pO₂, pCO₂ [mmHg]), pH-ját, valamint különböző elektrolitokat (Na⁺, K⁺, Ca²⁺ és Cl⁻), metabolitokat (glükóz [mmol/L], laktát [mmol/L] és a kreatinin szintet [μmol/L]). A vizsgálat mintávként 0,1 ml natív vért igényelt.

3.4. Statisztikai analízis

A klinikai tanulmánynál az adatokat átlag±standard deviáció (S.D.) formájában adtuk meg. A csoporton belüli és a csoportok közötti különbségeket kétirányú ANOVA teszttel, majd post-hoc Bonferroni-teszttel vagy Dunn-módszerrel elemeztük. A 0,05-nél kisebb p-értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

A kísérletes munkában az adatokat szintén átlag ± standard deviáció (S.D.) formájában adtuk meg. Azon változóknál, ahol az alapértékek nagy eltérést mutattak, a változások arányát is elemeztük (minden esetben a relatív értékek vs. saját alapérték). A statisztikai elemzéshez GraphPad Prism szoftvert használtunk (Windows 8.0 verzió, GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). A csoporton belüli és a csoportok közötti különbségeket kétirányú ANOVA-val, majd post-hoc Bonferroni-teszttel vagy Dunn-féle módszerrel elemeztük, a normalitásteszt eredményétől függően. A p<0,05 értékeket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Klinikai vizsgálat

4.1.1. Haematologiai paraméterek változásai

A Control csoport fehérvérsejtszáma (WBC [G/l]) szignifikánsan emelkedett 10 perccel a reperfusio megkezdése után ($p=0,001$ vs. alap) és tovább emelkedett az 1. és 2. posztoperatív napon (mindkét napon: $p<0,001$ vs. alap). Az NSAID és a Prekondicionált csoport értékei nem mutattak emelkedést a reperfusio korai perceiben, azonban az 1. és 2. posztoperatív napon emelkedtek (mindkét napon $p<0,001$ vs. alap).

A vörösvérsejtszám (RBC [T/l]), a haemoglobin koncentráció (Hgb [g/dl]) és a haematocrit (Hct [%]) minden csoportban csökkent. Szignifikáns különbségeket találtunk az NSAID csoport vörösvérsejtszámában a 2. posztoperatív napon ($p=0,001$ vs. alap), a haemoglobinn koncentrációban az 1. ($p=0,026$ vs. alap) és 2. napon ($p=0,005$ vs. bázis), a haematocrit érték esetében a 2. napon ($p=0,001$ vs. bázis).

A Prekondicionált csoportban a kezdeti Hct, Hgb és RBC értékek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a Control és a Prekondicionált csoportban (mindkettő: $p<0,001$). Az intraoperatív volumenkorrekciót követően a Hct értékek csökkentek (R-10: $p=0,003$ vs. alap), azonban végig magasabbak maradtak (1. nap: $p<0,001$ vs. bázis, $p=0,006$ vs. NSAID; 2. nap: $p<0,001$ vs. bázis, $p=0,005$ vs. NSAID).

A thrombocytá szám (Plt [G/l]) nem mutatott számottevő különbséget a csoportokon belül és a megfigyelési időszak alatt, azonban csökkenés volt tapasztalható a Prekondicionált csoportban.

4.1.2. Teljes vér viszkozitás változása

A teljes vér viszkozitás értékei (WBV [mPas]) 90 s^{-1} -nél stabilak voltak a megfigyelési időszak alatt a Control és az NSAID csoportban. A Prekondicionált csoport haematocrit száma kezdetben magas volt, azonban a volumenterápiás kezelés hatására az 1. posztoperatív napra csökkent.

4.1.3. Vörösvérsejt deformabilitás változása

A 3 Pa nyomáson mért elongációs index értékek nem változtak szignifikánsan a csoportokban, bár a Prekondicionált csoport értékei végig magasabbak voltak. Az EI_{\max} értékek mérsékelt csökkenése dominánsan a Control csoportban volt megfigyelhető. Az $SS_{1/2}$ értékek folyamatosan emelkedtek a Control csoportban, szignifikáns eltérést mutatva az alapértékhez képest a 2. posztoperatív napon ($p=0,025$). Ennek megfelelően az EI_{\max} és az

SS_{1/2} aránya csökkent a Control csoportban. Ez a változás nem volt megfigyelhető sem az NSAID, sem a Prekondicionált csoportokban.

4.1.4. Vörösvérsejt aggregatio változása

Az aggregációs index értékek mérsékelt csökkenést mutattak az NSAID és a Prekondicionált csoportokban. Az M 5s értékek csökkenése szignifikáns volt mind az 1. posztoperatív napon (NSAID: $p < 0,001$ vs. alap), mind a 2. napon (NSAID: $p < 0,001$ vs. alap, Prekondicionált: $p = 0,024$ vs. alap). Az M 10s értékek hasonló változásokat mutattak az 1. (NSAID: $p = 0,034$ vs. alap, Prekondicionált: $p < 0,001$ vs. alap) és 2. posztoperatív napon (NSAID: $p = 0,011$ vs. alap, Prekondicionált: $p = 0,003$ vs. alap). A Control csoport értékei emelkedettek maradtak, sőt a 2. posztoperatív napra tovább emelkedtek (M 5s: $p = 0,004$, M 10s: $p = 0,009$ vs. Prekondicionált csoport).

4.2. Kísérletes tanulmány

4.2.1. Haematologiai paraméterek változásai

A fehérvérsejtszám közvetlenül a 120 perces ischaemia után emelkedett az I/R ($p = 0,018$ vs. bázis) és a PreC csoportban ($p < 0,001$ vs. alap), és tovább emelkedett az első posztoperatív (p.o.) hét végére, szignifikáns szintet érve el a PreC ($p < 0,001$ vs. alap) és a PostC csoportban ($p = 0,008$ vs. alap).

A vörösvérsejtszám, a haemoglobin és a haematocrit értékek mérsékelt csökkenést mutattak a reperfusio kezdetén az alapértékekhez képest (RBC az I/R csoportban: $p = 0,021$, a PreC csoportban: $p < 0,001$; Hgb az I/R-ben csoport: $p = 0,009$, a PreC csoportban: $p < 0,001$, a PostC csoportban: $p = 0,004$). További csökkenést figyeltünk meg az első posztoperatív héten (RBC, Hgb és Hct az I/R, PreC és PostC csoportokban: $p < 0,001$). A PostC csoportban a haemoglobin és a haematocrit csökkenése ($p = 0,001$ mindkettőnél), valamint a haematocrit csökkenése az I/R csoportban szignifikánsnak bizonyult a Control csoporthoz képest ($p < 0,001$).

A thrombocytaszám a 120 perces ischaemia után alacsonyabb értékeket mutatott az alapértékekhez képest (Control: $p < 0,001$, I/R: $p = 0,041$, PreC: $p = 0,002$, PostC: $p = 0,001$), és az első p.o. héten emelkedett (Control: $p < 0,001$, I/R: $p < 0,001$, PreC: $p = 0,032$, PostC: $p < 0,001$). Az I/R csoport értékei magasabbak voltak, mint a Control csoporté a reperfusio kezdetén ($p = 0,002$) és az első p.o. héten ($p = 0,006$). A legmagasabb értékeket a PostC csoportban találtuk egy héttel a műtét után ($p < 0,001$ vs. Control).

4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás változása

Az EI értékek alacsonyabbak voltak egy héttel a műtét után az I/R csoportban, és kifejezettebben a PreC csoportban, a különbségek azonban kicsik voltak. A műtét után egy héttel mért EI értékek szignifikáns csökkenést mutattak az I/R csoportban az alaphoz képest ($p=0,048$). A relatív változásokat elemezve nagyobb eltéréseket tapasztaltunk. Az EI csökkenés mértéke a műtét után egy héttel szignifikáns volt a post-ischemiás relatív értékekhez képest (Control: $p=0,012$, I/R: $p=0,005$, PreC: $p=0,025$). Az $SS_{1/2}$ emelkedése az I/R csoportban volt a legmagasabb, ami az $EI_{max}/SS_{1/2}$ arányban is ($p=0,002$) tükröződött.

4.2.3. Vörösvérsejt aggregatio változása

Fokozott vörösvérsejt aggregációt találtunk valamennyi ischaemiás csoportban (I/R, PreC, PostC) egy héttel a műtét után. Az I/R és PreC csoportokban tapasztaltuk a legmagasabb értékeket az M 5s (mindkettőnél $p<0,001$ vs. alap), M1 5s (csak a PreC csoportban: $p=0,038$ vs. alap és $p=0,046$ vs. Control) valamint az M 10s ($p<0,001$ vs. alap mindkettőnél) és az M1 10s értékeknél ($p<0,001$ vs. alap mindkettőnél).

4.2.4. Vérgáz, sav-bázis paraméterek, elektrolitok és metabolitok változásai

A pO_2 , pCO_2 értékek nem változtak szignifikánsan. A pH csökkent a PreC és PostC csoportban a reperfusio kezdetén, és normalizálódott az 1. posztoperatív héten. A nátrium-, kalcium- és kloridion-koncentrációk nem mutattak jelentős változást. Közvetlenül az ischaemia után a káliumion-koncentráció minden csoportban szignifikánsan megemelkedett az alaphoz képest, nagyobb mértékben az ischaemiás csoportokban (Control: $p=0,01$, I/R: $p<0,001$, PreC: $p=0,011$, PostC: $p<0,001$; az alaphoz képest). A p.o. 1. heti kálium koncentráció alacsonyabb volt az I/R és a PostC csoportban a Controlhoz képest ($p=0,007$ és $p=0,004$). A glükózkoncentráció növekedését figyeltük meg minden ischaemia-reperfusió csoportban. Az emelkedés szignifikáns volt a PostC csoportban ($p=0,002$ vs. alap, $p=0,039$ vs. Control). Az 1. p.o. héten ezek az értékek szignifikánsan csökkentek ezekben a csoportokban az alaphoz (I/R: $p=0,001$, PreC: $p=0,001$, PostC: $p=0,006$) és a Control csoportéhoz képest (I/R: $p=0,01$, PreC: $p=0,004$, PostC: $p=0,013$). A laktát-koncentráció jelentősen megnőtt az 1. p.o. héten az I/R ($p=0,019$), PreC ($p=0,037$) és PostC ($p=0,041$) csoportban a Controlhoz képest. A kreatinin koncentráció csak a PreC ($p=0,002$ vs. alap) és PostC ($p=0,017$ vs. alap, $p=0,008$ vs. Control, $p=0,038$ vs. I/R) csoportban nőtt szignifikánsan közvetlenül a reperfusio után.

4.2.5. Szöveti microcirculatio változásai

Az ischaemiás csoportokban jelentősen csökkent a keringés a jobb hátsó végtagon az ischaemia végére, valamint a reperfusio kezdetén is alacsonyabbak maradtak az értékek. A csökkenés legkifejezettebben a PreC csoportban volt megfigyelhető. Mivel nulla BFU értéket sehol sem regisztráltunk a leszorított jobb hátsó végtagon, kijelenthető, hogy teljes ischaemia nem alakult ki, feltehetően a kollaterális keringés megléte miatt.

4.2.6. Talphőmérséklet változásai

A talphőmérséklet relatív értékeinek változását vizsgálva azt állapítottuk meg, hogy az ischaemiás csoportokban az értékek a Control csoporthoz viszonyítva csökkentek közvetlenül a leszorítás felengedése előtt és azt követően a jobb alsó végtagon. Az I/R csoportban mérsékelt emelkedést észleltünk a műtét utáni 1. héten.

4.2.7. Szövetteni vizsgálat eredményei

Fénymikroszkóppal egyik csoportban sem észleltünk ischaemiának tulajdonítható szövettani eltérést. A posztoperatív mintákban az izomrostok megtartott striációja, normál kontúrú rostozottság, továbbá a lekerekített, hipertrófiás rostok hiánya és a sejtmagok normális elrendeződése látszott. A szarkoplazmában a myofibrillumok dezorganizációja nem fordult elő. Duzzanat és intenzív gyulladáshoz infiltráció nem volt kimutatható. Nekrotikus izomrost szakaszok nem voltak jelen, és nem észleltünk kaliberingadozást sem. A prekondicionált állatoknál szubakut gyulladás és friss vérzés jelei voltak észlelhetők a perimysiumban, ami a leszorítás miatt alakulhatott ki.

5. MEGBESZÉLÉS

Az erek átmeneti leszorítását a sebészet számos területén alkalmazzák, így különböző ortopédiai, rekonstrukciós vagy érsebészeti eljárások során, mint a végtagok revascularisatioja, replantáció, szabadlebens-transzfer vagy vértelenségben végzett elektív műtétek. A beavatkozások alatt a vázizmok hosszantartó ischaemiának lehetnek kitéve és a későbbi reperfusio súlyos szövődeményeket okozhat, beleértve az izomnekrózist és az izomműködési zavarokat, nem beszélve a szisztémás hatásról, amikor távoli szervek is károsodhatnak, mint például a vese, máj, tüdő.

Kísérletes tanulmányokban számos stratégiát dolgoztak ki az ennek kapcsán fellépő ischaemia-reperfusio sérülés csökkentésére, de csak nagyon kevés jutott el a klinikai

gyakorlatban történő alkalmazásig. A sebészi megközelítések közül a pre- és poszt-kondicionálás ígéretes módszerek. Lényegük, hogy a beavatkozást megelőzően, illetve azt követően rövid ischaemiás időszakokat idéznek elő a célszerv ellátó artériájának váltakozó leszorításával/felengedésével, ami a célszerv ischaemiás toleranciáját növeli.

Ugyanakkor még mindig sok a megválaszolatlan kérdés, nemcsak a kondicionálás optimális időzítésével, de a ciklusok számával és időtartamával kapcsolatban is. Lényeges szempont, hogy a prekondicionálás alkalmazhatósága a klinikai gyakorlatban limitált, mivel csak tervezett műtétek esetén jöhet szóba. A poszt-kondicionálás előnye, hogy egyszerűen alkalmazható akár sürgősségi helyzetekben is. Mindkét módszer hátrányaként említhető, hogy megnövelik a műtéti időt, ami az idős, rosszabb fizikai állapotban lévő, esetleg egyszerre több, az altatást befolyásoló rizikófaktorral rendelkező betegek esetében a műtéti kockázatot is növeli. Azt is számításba kell venni, hogy invazív technikák lévén nem mentesek a szövődeményektől. Károsodott érfal esetén alkalmazásuk nem javasolt.

A felmerülő kérdések tisztázásához elengedhetetlen az I/R károsodással járó funkcionális és strukturális változások ismerete. Bár a végtagok ischaemia-reperfúziós károsodásának szakirodalmi megközelítése kiterjedt, nagyon kevés adat áll rendelkezésre többek közt a micro-rheológiai paraméterek változásairól mind a végtagok ischaemia-reperfúziós károsodása, mind a károsodást csökkenteni hivatott sebészi kondicionáló eljárások vonatkozásában.

5.1. Klinikai vizsgálat

A patomechanizmus ismeretében gyulladáscsökkentő szerek alkalmazása, antioxidáns terápia és különböző kondicionáló eljárások (farmakológiai, sebészeti) megelőzhetik vagy csökkenthetik a beavatkozást kísérő ischaemia-reperfúziós károsodást.

A számos, különböző támadásponttal rendelkező farmakológiai szer közül (pl. értágítók, szabadgyökfogók, antikoaguláns szerek, leukocita gátlók) vizsgálatunkhoz a non-szteroid gyulladásgátló (NSAID) gyógyszercsoportot választottuk. Ide tartoznak a szalicilátok, arilalkánsavak, 2-arilpropionsavak, fenaminsavak, pirazolidin-származékok, oxikámok. Ezek közül az arilalkánsavak közé tartozó diklofenakot alkalmaztuk, amely erős gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító és lázcsillapító hatással rendelkezik. Intra- és posztoperatív módon alkalmaztuk, intravénásan beadva.

A sebészi módszerek közül az ischaemiás prekondicionálás (lokális, távoli, korai vagy késleltetett hatású) számos beavatkozás és célszerv esetében előnyösnek bizonyult. Bár az eljárást illetően ellentmondóak az eredmények, több kísérleti és klinikai tanulmány

bizonyította hatásosságát végtag ischaemia kapcsán is. Ugyanakkor számos kérdés továbbra is tisztázatlan. Az optimális protokoll még nem ismert az egyes szervek/szövetek, illetve végtagok esetében, sem az időzítés, sem a ciklusok száma, illetve időtartama tekintetében. Leurcharusmee és munkatársai anaesthetikumok és tourniquet együttes alkalmazását vizsgálták, ugyanakkor hatásos dózist vagy protokollt nem sikerült megállapítani. A térdprotézis beültetések során sikerült bizonyítani az IPC védő hatását akár génextpresszió szintjén is, a korai válasz védőmechanizmusok beindításával.

Klinikai vizsgálatunkban súlyos fokú arthrosis miatt végzett elektív térdműtét kapcsán, a beavatkozáshoz szükséges vértelenség következtében fellépő ischaemia-reperfusio hatását vizsgáltuk különböző laboratóriumi paraméterekre, elsősorban a haemorheológiai paraméterekre fókuszálva. Ezen túlmenően egy farmakológiai és egy sebészi módszer, azaz a non-szteroid gyulladáscsökkentő készítmények csoportjába tartozó Na-diklofenak és távoli szervi prekondicionálás hatását vizsgáltuk ugyanazon paraméterek nyomon követésével.

Vizsgálatunk során 3x15 perces prekondicionáló protokollt alkalmaztunk egy nappal az alsó végtagi beavatkozást megelőzően a felső végtagon, vérnyomásmérő mandzsetta segítségével. A haematológiai paraméterek közül a fehérvérsejtszám a Control csoportban már a reperfúziót követő 10 percben szignifikánsan emelkedett. Ez a NSAID és Prekondicionált csoportban csak az 1. és 2. posztoperatív napon volt megfigyelhető. A micro-rheológiai paraméterek tekintetében azt tapasztaltuk, hogy míg a Control csoportban romlottak a vörösvérsejtek deformabilitási paraméterei, addig az NSAID és a prekondicionált csoportban ezt nem tapasztaltuk. A vörösvérsejt aggregatio esetében az NSAID és a Prekondicionált csoportban az aggregációs paraméterek közül az M 5s és az M 10s értékek a Control csoporthoz képest szignifikánsan alacsonyabbak voltak az 1. és a 2. posztoperatív napon, azaz az aggregatio mértéke jelentősen kisebb volt ezeknél a betegeknél a műtétet követő napokban.

A vizsgálat limitációja az alacsony esetszám, az életkori és nemi különbségek, a vérveszteség és a térfogatterápiában mutatkozó eltérések.

Összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy klinikai vizsgálatunkban hasonló eredményeket kaptunk, mint korábbi, végtag ischaemia-reperfúzióval kapcsolatos állatkísérletes tanulmányainkban, azaz a vörösvérsejtek deformálhatósága csökkent és aggregációjuk fokozódott a vértelenségben végzett műtétet követő első és második posztoperatív napon. Mind a Na-diklofenak, mind a távoli szervi ischaemiás prekondicionálás mérsékelte a micro-rheológiai paraméterek romlását a korai posztoperatív időszakban.

5.2. Kísérletes tanulmány

Egyoldali alsó végtagi ischaemia modellezésére különböző módszerek ismertek. Leszorítható az arteria femoralis vaszkuláris klipek segítségével, alkalmazható tourniquet vagy felfújható mandzsetta a combhajlatban. Mindegyik módszernek vannak korlátai. Mivel patkányoknál kifejezetten jelentős a glutealis régióból eredő kollaterális keringés, a femoralis erek leszorítása önmagában nem feltétlenül vezet teljes ischaemia kialakulásához. A tourniquet jó eséllyel a kollaterálisokat is komprimálja, de a szorítóerő kiterjedt szövetkárosodást okozhat.

A különböző kísérletes modellekben az ischaemia választott időtartama szintén nagyon tág határok közt mozog és állatfajonként eltérhet: patkányon végzett kutatások során 60, 120, 180, de akár 240 perces időtartamokkal is találkozhatunk.

A károsodások mérséklésére alkalmazott pre- és posztkondicionáló protokollok többnyire három vagy négy ciklust alkalmaznak, amelyek időtartama néhány másodperctől (10, 15 illetve 30 s) akár 10 percig terjed.

Saját kutatásunkban 120 perces, tourniquet-vel indukált ischaemia mellett döntöttünk, amelyet három ciklusban, 10-10 perces váltakozó ischaemia és reperfüzió előzött meg a pre-, illetve követett a posztkondicionált csoportban.

A vörösvérsejtek deformabilitása és aggregációja számos patofiziológiai állapotban, többek között ischaemia-reperfüziós károsodás esetén jelentős változásokat mutat. Ezek főként a szabadgyök-reakcióknak, a metabolikus változásoknak és az akut fázis reakcióknak tulajdoníthatók. A szabadgyökök károsíthatják a vörösvérsejtek membránját lipidperoxidáció révén, methaemoglobin képződéssel, valamint a fehérjéket szulfhidril keresztkötések kialakulásával. A metabolikus változások megváltoztathatják a vörösvérsejtek morfológiai és mechanikai tulajdonságait, ami deformabilitásuk, azaz a kapillárisokon való áthaladásuk romlásához és aggregációjuk fokozódásához vezet. Az akut fázis reakciók a leukocytaszám emelkedésében, a thrombocytá szám emelkedésében vagy csökkenésében, haemokoncentrációban és következményes micro-rheológiai változásokban nyilvánulhatnak meg. A vörösvérsejtek csökkent deformálhatósága és fokozott aggregációja növeli a vér viszkozitását, növeli a vaszkuláris rezisztenciát és a mikrokeringés szintjén perfüziós problémákat okozhat.

Kísérleteink során azt találtuk, hogy a haemoglobin és a haematocrit jelentősen csökkent a reperfüziót követően, illetve egy héttel a műtét után, valamennyi ischaemiás csoportban. Ezzel párhuzamosan a thrombocytá szám szignifikáns emelkedését tapasztaltuk. Mindezek az ischaemia-reperfüzió által kiváltott gyulladási folyamatokkal és az akut fázis

reakciókkal hozhatók összefüggésbe. A haemoglobin és hematocrit csökkenésében közrejátszhatott a műtét és a vérvételek okozta vérveszteség is. Feltételeztük, hogy az ischaemiát követően megfigyelt változások főként redisztribúciós változásokra vezethetők vissza, a későbbi változások pedig dominánsan a gyulladós folyamatokból eredhetnek. A fehérvérsejtszám szintén nőtt az I/R és a PreC csoportban az ischaemiát követően, valamint szignifikáns emelkedést mutatott műtét után 1 héttel a PreC és PostC csoportban. Ezen eltérések szintén a gyulladós folyamatok beindulásának tulajdoníthatók.

Hasonlóan más szervek illetve a végtagok, ischaemia-reperfúziós modelljeiben végzett korábbi vizsgálatainkhoz, a micro-rheologiai paraméterek az ischaemia alatt és után minden ischaemiás csoportban romlottak. A vörösvérsejt aggregatio jelentősen nőtt, főként a fokozott szabadgyök-felszabadulás, az akut fázis reakciók és a gyulladós folyamatok miatt. Érdekes módon a legjelentősebb növekedést a PreC csoportban tapasztaltuk. Az anyagcsere-változások befolyásolják a vérsejtek morfológiai és mechanikai tulajdonságait, ami a vörösvérsejtek deformabilitásának romlásához és az aggregatio zavarához vezethet. A deoxigenizált vörösvérsejtek deformálhatósága csökken és aggregatiója fokozódik, míg a hypoxia a sejtek duzzadásához vezet, ami megváltoztatja a sejtek felület/térfogat arányát, és így a deformálhatóságot is. A deformabilitást vizsgálva azt találtuk, hogy az EI értékek szignifikánsan csökkentek az I/R csoportban az alaphoz képest a 7. posztoperatív napra. A csökkenés mértéke szignifikáns volt a post-ischaemiás relatív értékekhez képest az I/R és a PreC csoportokban.

A vérgázértékek elemzése során azt találtuk, hogy a pH mindkét kondicionált csoportban csökkent a reperfusio kezdetén, és normalizálódott műtét után egy héttel. A K^+ ion koncentráció alacsonyabb volt a Controlhoz képest az I/R és a PostC csoportban a posztoperatív 1. héten. A glükóz-koncentráció emelkedett minden ischaemiás csoportban. A laktát koncentráció szintén jelentősen nőtt minden ischaemiás csoportban műtét után 1 héttel mérve. A kreatinin koncentráció a kondicionált csoportokban emelkedett a reperfúziót követően.

Kísérletünkben ugyanakkor a metabolikus és micro-rheologiai paraméterek egyidejű változásai nem voltak egyértelműen megfigyelhetőek (post-ischaemiás vs. 1. p.o. heti értékek). Emiatt az alacsony mintanagyságot is figyelembe véve, többváltozós regressziós analízist nem tudtunk végezni. Bár matematikailag szignifikáns változásokat lehetett kimutatni, de a micro-rheologiai paraméterekben bekövetkezett változás nagyságrendjének *in vivo* jelentősége még mindig ellentmondásos. Továbbra sem ismert, hol húzódik a reverzibilis

és irreverzibilis változások határa, ahogyan az sem, hogy a vörösvérsejtek deformabilitásának és/vagy aggregációjának milyen mértékű romlása vezet perfúziós problémákhoz.

Az izomsejtek ischaemia-reperfúziós károsodásra jellemző szövettani elváltozásai közül, mint a sejtek duzzadása, kariopiknózis, kariorrexis, a harántcsíkolat elvesztése, a sejtek széttöredezése, valamint gyulladással járó sejtek megjelenése, kutatásunkban egyiket sem tapasztaltuk egyik csoportban sem. Bár a 120 perces, tourniquet-vel történő leztorítás és az azt követő reperfúzió hatására a laboratóriumi paraméterekben szignifikáns változásokat tapasztaltunk, az izom morfológiájában nem találtunk kimutatható eltérést. Ennek hátterében a patkány kiváló kollaterális keringése állhat. Szíjártó és munkatársai 4, 6 és 8 órás infrarenalis aortakirekesztéssel indukált alsóvégtagi ischaemia modellben is csak a 8 órás ischaemiát követően tapasztalták irreverzibilis károsodás szövettani jeleit, de sejtmagszintű eltérések nélkül. Amennyiben a 8 órás ischaemiát 2 óra reperfúzió követte, akkor is csak az I/R károsodás enyhe jelei voltak megfigyelhetők.

A laser-Doppler-vizsgálatok megerősítették az ischaemiás végtagok csökkent mikrokeringését, de nem a teljes hiányát, azaz az alkalmazott tourniquet nem okozott teljes ischaemiát, csak hypoperfúziót ((I/R: $77,3 \pm 19,2$ % vs. C; PreC: $71,1 \pm 9,4$ % vs. C; PostC: $71 \pm 11,3$ % vs. C). A kondicionált csoportok esetében sem volt lényeges eltérés. A megfelelő erősségű leztorítás lényeges a teljes ischaemia előidézése szempontjából, de a túl erős kompresszió direkt szöveti károsodást okozhat, amit el szeretnénk volna kerülni. Ez a kutatás egyik limitációjának tekinthető. A kollaterálisokat tekintetbe véve az alsó régióban található izmok (pl. m. plantar flexor komplex) szövettani vizsgálata jobb választás lehet a jövőbeli vizsgálatokhoz.

Az állatok talphőmérsékletének változásai korreláltak a laser-Doppler vizsgálatok eredményeivel. A kondicionált csoportokban is szignifikánsan csökkent a talphőmérséklet mindkét alsó végtagon. Ugyanakkor a bal és jobb oldal között hasonló eltérés nem volt kimutatható. Ennek magyarázata valószínűleg a korábban már említett kiterjedt alsó végtagi kollaterális érhálózat.

Eredményeinket összefoglalva azt tapasztaltuk, hogy a korai reperfúziós időszakban jelentős metabolikus és micro-rheológiai változások következtek be, mértékük azonban nem volt elégséges ahhoz, hogy szövettani, morfológiai változást eredményezzenek.

Bár a kezeletlen ischaemiás csoporttal összehasonlítva mindkét kondicionált csoport esetében jobbak voltak az eredmények, poszt-kondicionálással jobb micro-rheológiai értékeket tapasztaltunk, mint prekondicionálás kapcsán. Kocman és mtsai különböző kombinációkban alkalmazott korai, késői, lokális és távoli szervi, 3x10 perces prekondicionálás hatását

hasonlították össze tourniquet-vel előidézett, 3 órás hátsó végtagi ischaemia esetében patkányokon. Különböző enzimaktivitásokat, apoptosis és szövettani vizsgálatokat végeztek és azt találták, hogy mindegyik módszer hatásos volt a károsodás csökkentésében, de a távoli szervi alkalmazás érte el a legjobb hatást. Mindazonáltal a posztkondicionálás tekintetében sem egyértelmű a protektív hatás. Egyes tanulmányok kimutatták védőhatását, mások nem tapasztaltak érzékelhető változást, sőt akár a károsodás fokozódását is leírták.

A kérdés további tanulmányozásához hosszabb ischaemiás periódus (3 vagy 4 óra), a kollaterálisokat is kirekesztő megoldás és többféle prekondicionáló protokoll alkalmazása lenne szükséges.

A kutatás limitációjának tekinthető, hogy vizsgálatunkban egészséges, társbetegségek nélküli, ép érrendszerrel és normovolaemiával rendelkező állatokat vizsgáltunk. Bár minimális változásokat észleltünk, amelyek nem jártak jelentős következményekkel, potenciálisan súlyosabb reakciókat is okozhattak volna. A csekély változások hatása összeadódhat és jelentősebb lehet, ha kóros állapotokhoz (érelmeszesedés, vérzés, sokk, alultápláltság stb.) társul. Nincs tökéletes modell mindezen szempontok vizsgálatára. Minden állatkísérletnek megvannak a korlátai, és számos tényezőt kell figyelembe venni a vizsgálatok tervezésekor, kivitelezésekor, valamint az eredmények kiértékelésekor és extrapolálásakor.

6. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A klinikai vizsgálat során a következő megállapításokra jutottunk:

1. Kimutattuk, hogy a vértelenséget előidéző tourniquet-val együttjáró ischaemia és a felengedést követő reperfusio a fehérvérsejtszám emelkedését, a vörösvérsejtszám, a haemoglobin és a haematocrit csökkenését okozta, míg a thrombocyta szám gyakorlatilag nem változott. A teljes vér viszkozitás nem mutatott jelentős változást. A kontroll csoportban a vörösvérsejtek deformabilitása mérsékelten csökkent, a vörösvérsejt-aggregatio a műtétet követő 1. és 2. napon szignifikánsan fokozódott.
2. A haematologiai paraméterek és a vér viszkozitás tekintetében a NSAID és a prekondicionálás alkalmazása nem okozott számottevő változást. A vörösvérsejt-deformabilitásra egyik módszer sem volt számottevő hatással, azonban a vörösvérsejt-aggregációs értékek mindkét csoport esetében szignifikánsan jobbak voltak a kontroll csoporthoz képest. Bár mindkét módszer kedvező hatással bírt a reperfúziós károsodások csökkentésében, egyik sem bizonyult egyértelműen jobbnak a másikkal.

A kísérletes tanulmány során a következő összefüggéseket állapítottuk meg:

1. A 2 órás tourniquet-indukált hátsó végtagi ischaemia és az azt követő reperfusio kapcsán a haemoglobin és a haematocrit értékek szignifikánsan csökkentek minden ischaemiás csoportban. A thrombocyta szám szignifikánsan emelkedett. Mindezekhez metabolikus változások is társultak közvetlenül az ischaemiát követően. A vörösvérsejtek aggregációja szignifikánsan megnövekedett, míg a deformabilitásuk csökkent.
2. A legjelentősebb változásokat minden vizsgált paraméter tekintetében az I/R és a PreC csoportban tapasztaltuk, míg a PostC csoportban kisebb mértékű változások jelentkeztek. Az ischaemiás pre- és posztkondicionálás különböző módokon additív változásokat eredményezett. Bár a posztkondicionálás hatása a micro-rheologiai paraméterekre kedvezőbb volt, nem dönthető el egyértelműen, hogy melyik kondicionálási protokoll a jobb.

6.1. Az értekezés alapjául szolgáló *in extenso* közlemények hitelesített listája



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400

Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/252/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Körei Csaba
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Turchányi, B., **Körei, C.**, Somogyi, V., Kiss, F., Pető, K., Németh, N.: Beneficial postoperative micro-rheological effects of intraoperative administration of diclofenac or ischemic preconditioning in patients with lower extremity operations: Preliminary data.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 79 (4), 557-565, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-211200>
IF: 2.411
2. **Körei, C.**, Szabó, B., Varga, Á., Baráth, B., Deák, Á., Ványolos, E., Hargitai, Z., Kovács, I., Németh, N., Pető, K.: Hematological, Micro-Rheological, and Metabolic Changes Modulated by Local Ischemic Pre- and Post-Conditioning in Rat Limb Ischemia-Reperfusion.
Metabolites. 11 (11), 776, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11110776>
IF: 5.581

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 7,992

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,992

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, 2023.06.15.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Németh Norbert tanszékvezető Úrnak, aki lehetővé tette számomra, hogy a Sebészeti Műtéttani Tanszéken készítsem el PhD munkámat, végig segített és támogatott a kutatómunka, az előadásokra történő felkészülés, a közlemények írása, valamint a disszertációm elkészítése során.

Hálás köszönet Dr. Pető Katalin Docensnőnek, akitől szintén sok segítséget kaptam, bármilyen felmerülő probléma megoldásában segített. Észrevételeivel segítette az előadásokra történő felkészülést és a tudományos cikkek elkészítésénél is jelentős segítséget nyújtott.

Köszönöm Dr. Turchányi Béla docens Úrnak, a Traumatológiai és Kézsebészeti Tanszék korábbi tanszékvezetőjének, hogy tudományos munkámat segítette és a PhD képzés megkezdésére biztatott és támogatott.

Külön köszönettel tartozom Dr. Szabó Balázs, Dr. Tánczos Bence, Dr. Somogyi Viktória, Bedőcs-Baráth Barbara, Varga Ádám, Dr. Fazekas László, a Sebészeti Műtéttani Tanszék korábbi és jelenlegi PhD hallgatóinak a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítségükért.

Köszönöm a Sebészeti Műtéttani Tanszék, valamint a Traumatológiai és Kézsebészeti Tanszék és Osztály valamennyi dolgozójának a PhD kutatómunkám során nyújtott segítséget.

Szeretném megköszönni Feleségemnek és Lányomnak a rengeteg biztatást, támogatást, akik a nehéz percekben is mellettem álltak és segítettek túllendülni a nehézségeken, hogy ezen munkám elkészülhessen.