

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A végtagi ischaemia-reperfusio szöveti perfúzióra 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

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. BEVEZETÉS.....	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1. A végtagi ischaemia	7
2.1.1. Ischaemia osztályozása.....	7
2.1.2. Végtag ischaemia etiológiája.....	7
2.1.3. Végtag ischaemia-reperfúziós károsodás patofiziológiája.....	9
2.1.4. Végtag ischaemia-reperfúzió következményei	11
2.1.5. Végtag ischaemia-reperfúzió kísérletes modelljei.....	15
2.1.6. Végtag ischaemia-reperfúziós károsodás csökkentésének lehetőségei.....	18
2.2. Haemorheológiai vonatkozások	22
2.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás.....	22
2.2.2. Vörösvérsejt aggregatio.....	23
2.2.3. A micro-rheológiai paraméterek hatása a keringésre	24
CÉLKITŰZÉSEK	26
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	27
3.1. Klinikai vizsgálat.....	27
3.1.1. Betegcsoportok.....	27
3.1.2. Mintavételi protokoll.....	27
3.2. Kísérletes tanulmány	27
3.2.1. Kísérleti állatok, anaesthesia, műtéti protokoll	27
3.2.2. Kísérleti csoportok.....	28
3.2.3. Mérési és mintavételi protokoll	29
3.2.4. Szövettani vizsgálat.....	30
3.2.5. Szöveti microcirculatio mérése	30
3.2.6. Talphőmérséklet mérése.....	31
3.3. Laboratóriumi vizsgálatok.....	31
3.4. Statisztikai analízis	33
4. EREDMÉNYEK	35
4.1. Klinikai vizsgálat.....	35

4.1.1.	Haematologiai paraméterek változásai	35
4.1.2.	Teljes vér viszkozitás változása.....	36
4.1.3.	Vörösvérsejt deformabilitás változása.....	36
4.1.4.	Vörösvérsejt aggregatio változása.....	38
4.2.	Kísérletes tanulmány	39
4.2.1.	Haematologiai paraméterek változásai	39
4.2.2.	Vörösvérsejt deformabilitás változása.....	40
4.2.3.	Vörösvérsejt aggregatio változása	42
4.2.4.	Vérgáz, sav-bázis paraméterek, elektrolitok és metabolitok változásai	43
4.2.5.	Szöveti microcirculatio változásai.....	45
4.2.6.	Talpfőmérséklet változásai	45
4.2.7.	Szöveti vizsgálat eredményei	46
5.	MEGBESZÉLÉS.....	48
5.1.	Klinikai vizsgálat.....	49
5.2.	Kísérletes tanulmány	50
6.	FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA.....	55
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	56
8.	IRODALOMJEGYZÉK.....	58
8.1.	Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	58
8.2.	Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények hitelesített listája.....	69
9.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	70
10.	FÜGGELEK.....	71

Rövidítések jegyzéke

AI	aggregációs index
ALI	akut végtagi ischaemia (acute limb disease)
AMP	adenozin-monofoszfát
ATP	adenozin-5'-trifoszfát
BFU	véráramlási egység (blood flux unit)
CLI	krónikus végtagi ischaemia (chronic limb disease)
DNS	dezoxiribonukleinsav
EI	elongációs index
Hgb	haemoglobin
Htc	haematocrit
I/R	ischaemia-reperfusio
ICP	ischaemiás prekondicionálás
IL	interleukin
INF	interferon
iNOS	inducible nitric oxide synthase
MCV	átlagos vörösvérsejt térfogat (mean corpuscular volume)
MCH	átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (mean corpuscular hemoglobin concentration)
MPV	átlagos thrombocyta térfogat (mean platelet volume)
mPTP	mitochondrial permeability transition pore
NO	nitrogén-monoxid
NOS	nitrogén-monoxid szintáz
NSAID	non-szteroid gyulladáscsökkentők (nonsteroidal anti-inflammatory drugs)
ONOO'	peroxynitrit
PAD	perifériás artériás érbetegség (peripheral arterial disease)

pCO ₂	parciális széndioxid nyomás
pO ₂	parciális oxigén nyomás
PostC	posztkondicionált csoport
PreC	prekondicionált csoport
PVP	polyvinylpirrolidon
RIPC	távoli szervi ischaemiás prekondicionálás (remote ischemic preconditioning)
ROS	reaktív oxigén szabadgyökök (reactive oxygen species)
SS	nyírófeszültség (shear stress)
Thr	thrombocyta
TNF	tumor nekrosis faktor
TVV	teljes vér viszkozitás (whole blood viscosity)

„A kérdésekre néha más kérdések adják meg a válaszokat.”

(Scott Kelly)

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-reperfúziós (I/R) sérüléshez vezethet (Santistevan, 2017; Olinic és mtsai, 2019; Naito és mtsai, 2020; Natarajan és mtsai, 2020). 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 (Eckert és mtsai, 1991; Blaisdell és mtsai, 2002). Ischaemiás károsodás nemcsak végtagműtétek során, hanem általános sebészeti beavatkozások, például szervátültetések során is előfordulhat (Eltzschig és mtsai, 2011; Gillian, 2012).

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 dysfunctiója alakul ki, szabadgyökök képződnek, amelyek károsítják a szénhidrátokat, lipideket, enzimeket, membránlipideket és DNS-t. Az elhalt sejtekből felszabaduló intracytoplasmaticus komponensek gyulladásos folyamatokat indítanak el, és citokineket (TNF- α , IL-1 β , IL-6) szabadítanak fel (Price és mtsai, 2003).

Kiemelkedően fontos a keringés mihamarabbi helyreállítása, a reperfusio megkezdése. Ugyanakkor paradox módon ez a sejtek károsodását okozhatja. A módosult anyagcseréjű sejtek fokozottabb veszélynek vannak kitéve az oxidatív stressz szempontjából, ami a friss,

oxigénben gazdag vér megérkezésével, nagy valószínűséggel bekövetkezik. Ezen két folyamatot együttesen ischaemia-reperfusiós 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, inflammatorikus állapotok, szepszis, különböző anyagcserezavarok, valamint hematológiai, cardiovascularis és cerebrovasculáris betegségek.

Az ischaemia-reperfusiós károsodás kiemelkedő jelentőséggel bír (Carden és mtsai, 2000), 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-reperfusiós károsodásának következményeivel, valamint különböző farmakonok, valamint a pre- és poszt-kondicionálás kedvező hatásával (McAllister és mtsai, 2008; Park és mtsai, 2010; Lintz és mtsai, 2013), nagyon kevés tanulmány vizsgálta a vázizmok I/R károsodásának a haemorheológiai paraméterekre gyakorolt hatását.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A végtagi ischaemia

2.1.1. Ischaemia osztályozása

A végtagi ischaemiát illetően akut (ALI) és krónikus formát (CLI) különböztethetünk meg.

A krónikus forma legfőbb kiváltó oka perifériás artériás érbetegség (PAD). Ebben az esetben a vérellátás folyamatos, lassú romlása következik be. Számos betegség okoz krónikus végtagi ischaemiát, amelyek közül a leggyakoribb az atherosclerosis, de említhető az embolia, thrombosis, vasospasmus, vasculitis. A kórkép jellegzetes tünete a claudicatio intermittens: különböző távolságok megtételét követően a fájdalom miatt a beteg megállni kényszerül, majd pár perc pihenő után panaszai csökkennek, de terhelésre ismétlődnek. Nyugalomban a beteg panaszmentes, mert a végtag vérellátása megfelelő, a terhelés fokozódásakor azonban a szervezet oxigénigényét a véráram már nem tudja maradéktalanul biztosítani a metabolikus folyamatokhoz, az izmokban ischaemia alakul ki, ami izomfájdalom, fáradtság formájában jelentkezik (Norgren és mtsai, 2007). Régóta fennálló CLI esetében megfigyelhető a kollaterális keringés fokozódása (Beard, 2000).

A perfusio hirtelen csökkenése esetén akut végtag ischaemiáról (ALI) beszélünk. Ezen állapot a végtag életképességét veszélyezteti, a tünetek kialakulását követően 2 héten belül. Kiváltó okként szerepelnek az embolia, thrombosis, trauma, anatómiai eltérések és iatrogén beavatkozások. Akut formában nem jellemző a claudicatio intermittens, a panaszok, fájdalmak pihenés hatására sem csökkennek. A különböző okokból kialakult perifériás artériás érbetegnél is kialakulhat akut ischaemia a folyamat progressiója miatt, a tünetek ugyanakkor enyhébbek lehetnek az alapbetegség miatt kiterjedt kollaterális keringés miatt (Hirsch és mtsai 2006).

Kritikus végtagi ischaemiának nevezzük azt az állapotot, amikor a végtag életképessége veszélyben van. Ezen állapot mind akut, mint krónikus ischaemia esetén kialakulhat.

2.1.2. Végtag ischaemia etiológiája

Az ischaemia számos formájával találkozhatunk (I. táblázat). Akut ischaemiás állapot kialakulhat egy végtagon nagyérsérülés, kiterjedt roncsolódás, valamint jelentős diszlokációval járó törés esetén. Ezen esetekben kiemelkedő fontosságú a keringés mihamarabbi helyreállítása. Krónikus ischaemiát láthatunk például egy érszűkületes végtagon, amely nem ritkán gangraenával is társul.

I. táblázat: Alsó végtagi artériás elzáródás okai

Primer artériás thrombosis	Artériás thrombosis intervenciót követően	Artériás embolizáció	Artéria sérülés
▪ Atheroscleroticus plaque ▪ Aneurysma thrombosis ▪ Artéria dissectio ▪ Artériás elzáródás entrapment/compressio (pl: a. poplitea elzáródás) ▪ Thrombophilia ▪ Hypercoagulabilitás • Malignitás • Antiphospholipid antitestek • Hyperhomocysteinaemia • Heparin indukált thrombocytopenia	▪ Véna bypass graft ▪ Műér bypass ▪ Műér bypass graft ▪ Stent/stent-graft oldali	▪ <u>Szív eredetű</u> • Myocardialis infarctus • Endocarditis • Billentyű elégtelenség • Műbillentyű ▪ <u>Artériás eredetű</u> • Aneurysma • Atheroscleroticus plaque ▪ Paradox embolus	▪ Iatrogén • Thromboembolisatio • Műszer okozta embolisatio ▪ Trauma

Iatrogen végtag ischaemia - tourniquet

Sokszor maguk a sebészek idéznek elő ischaemiát a mind alsó-, mind felső végtagi műtét során gyakran alkalmazott vértelenítő mandzsetta használatával. Ezek hasznos segédeszközök a végtagi beavatkozásokhoz, mivel csökkentik a műtét során a vérvesztést, és megfelelő használat esetén viszonylag vértelen műtéti területet biztosítanak a sebésznek és csökkentik a mikroembólia kockázatát felengedéskor (Sharma és mtsai, 2012). Hátránya, hogy az érintett végtag ischaemiája majd reperfúziója kapcsán komoly szöveti károsodást okozhat. Biztonságos használata az érszorító megfelelő alápárnázásával, az érszorító nyomásának a szisztémás nyomás fölé emelésével és a leszorítás időtartamának biztonságos határértékét (kb. 2 óra) meg nem haladó alkalmazásával biztosítható (Estebe és mtsai, 2011). Szükség esetén a mandzsetta 2 órán túl is alkalmazható, ilyenkor 20 perc időtartamra a szorítást fel kell engedni, majd a leszorítás újabb 2 órával meghosszabbítható (Saied és mtsai, 2015). Korábban kétséges volt a módszer hatékonysága, de mára bizonyítottá vált, hogy a

teljes végtag keringése teljesen megszüntethető a mandzsetta alkalmazásával. (Barie és mtsai, 1988) Ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy a kompresszió nem csak az artériát, hanem a vénát és ideget, valamint az izmot is komprimálja. Így idegsérülés és a mechanikus nyomás miatt járulékos izomkárosodás is kialakulhat (Horlocker és mtsai, 2006).

2.1.3. Végtag ischaemia-reperfusiós károsodás patofiziológiája

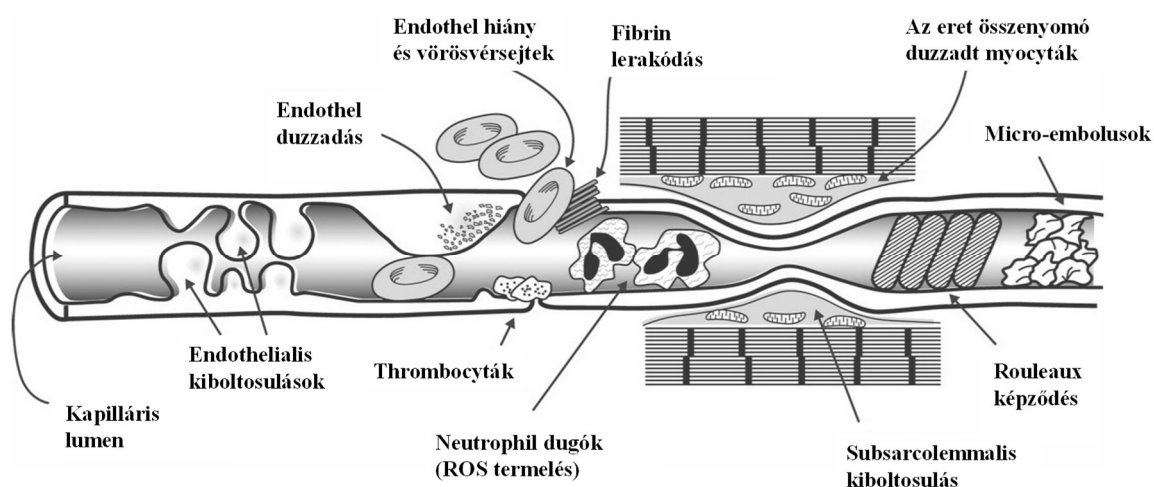
Ischaemia-reperfusiós sérülés jön létre, ha a keringés permanensen megszűnik, illetve leáll a test valamely részén és ezt követően bizonyos idő elteltével újból helyreáll a keringés. A jelenséget előidézhetik kóros állapotok, de sebészi beavatkozások kapcsán, iatrogén módon is kialakulhat (Gori és mtsai, 2006).

Vérellátás hiányában a sejtek ATP szintje csökken. Amíg alapanyagigényét az izomszövet a saját raktáraiból képes fedezni, addig a sejtek túlélése biztosított. Az izomszövet különösen érzékeny az ATP szint csökkenésére, de a különböző típusú izomszövetek érzékenysége eltérő mértékű. A gyors anaerob metabolizmusú I. típusú vörös rostok érzékenyebbek az ischaemiára, szemben a II. típusú fehér rostokkal, melyek anyagcseréje lassabb és több glikogént is raktároznak. Amennyiben az ATP szint a normál érték 20 százaléka alá csökken, teljes izomelhalás következhet be (Harris és mtsai 1988).

Az I/R károsodás során számos subcellularis folyamat megy végbe. A sejtmembrán Na^+/K^+ pumparendszere sérül, ezáltal a sejtek ionháztartása felborul, amely során Na^+ valamint vízbeáramlás történik, ami a sejtek duzzadását okozza. Ezzel párhuzamosan K^+ kiáramlás történik (Weiss és mtsai, 1992). Protontöbblet keletkezik a sejtben, ami fokozza az 1-es típusú Na^+/H^+ antiporter (NHE-1) működését, amely H^+ -t szállít ki és Na^+ -ot szállít be a sejtbe, ezért intracellulárisan felhalmozódik a Na^+ . Ez lelassítja, később meg is fordítja a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ pumpa működési irányát, Ca^{2+} áramlik be a sejtekbe, aminek hatására kontrollálatlan izomkontrakciók következnek be. A mitochondriumok felveszik a Ca^{2+} egy részét, majd mPTP-óriáscsatornák nyílnak az oxidatív stressz és az emelkedő Ca^{2+} szint miatt (Crompton, 1999; Ong és mtsai, 2015). Az mPTP-csatornák megnyílásával a mitochondriumok működése zavart szenved, a protongrádiens megszűnik, az oxidatív foszforiláció leáll. Ezen csatornának kulcsszerepe van a necrosis és apoptosis folyamatában. A folyamatok eredményeként az egész sejt működése felborul.

Az I/R károsodás az endothel sejteket szintén károsítja. A keringés újbóli beindulását követően olyan kóros jelenségek figyelhetők meg, mint az endothel elválása a basalis membrántól, valamint granulocyták kitapadása. Sejten belüli károsodások is keletkeznek,

amely miatt egyes anyagok termelése és felszabadulása (prosztaglandin, NO) csökken, míg mások felszabadulása (tromboxán A₂, endothelin) fokozódik. Génszinten is változás történik az endothel sejtekben. Egyes gének expressziója fokozódik (citokinek), másoké csökken (trombomodulin). Ezen jelenségek összességében endothel dysfunctiót eredményeznek (Davies és mtsai, 1999). Az endothel dysfunctio fokozott kapillaris permeabilitáshoz és intersticiális ödémához vezethet. A plazmavesztés következtében a vér koncentrálnodik (Menger és mtsai, 1997). A problémát tovább súlyosbítja az endothelsejtek duzzanata, a vérárvadási útvonal aktiválódása és a vörösvérsejtek aggregációja, ami végsősoron a mikroerek lumenének elzáródását eredményezheti: „no reflow” jelenség (Menger, 1992) (1. ábra).



1. ábra: A „no-reflow” jelenség kialakulásában részt vevő folyamatok (Reffellmann T és Kloner RA, 2006 alapján)

Az endothel dysfunctio és ez elhalt sejtekből származó különböző anyagok gyulladásos folyamatokat indítanak be. A gyulladásos reakció létrehozásában nagy szerepe van a helyben képződő citokineknek (pl. IL-6, IL-1, TNF- α) (Brasier, 2010).

Nagy jelentősége van a szabadgyökök fokozott képződésének. A reaktív oxigéngyökök képződéséhez hozzájárul az endothel sejtekből történő redukált mértékű NO kiválás, valamint a granulocytákban a gyulladás következtében aktiválódó iNOS enzim. Normál körülmények között az NO felszabadulása nagymértékben meghaladja a szuperoxid képződés sebességét. Így az NO effektíven semlegesíti a kevés sejten belüli szuperoxid gyököt, megakadályozza a thrombocyták aggregációját és a trombusképződést, illetve mérsékeli a leukocyták és az endothelsejtek közti interakciókat (Sun és mtsai, 2018). A reperfusio kezdetén ez az egyensúly felborul. Sokkal több szabadgyök képződik, mint amit az NO hatástalanítani tud,

illetve az NO termelés is csökken. Így nincs, ami megakadályozza a vérsejtek és endothel sejtek közti kölcsönhatásokat és fenntartsa az optimális szöveti véráramlást. Reaktív oxigéngyökök jelenlétében az NO-ból ONOO^- képződik, amely később hidrogénperoxiddá alakul és gyulladásos válaszreakciót indít be (Dugan és mtsai, 1999). A folyamat olyan mértékű lehet, hogy irreverzibilis károsodás alakul ki.

2.1.4. Végtag ischaemia-reperfusio következményei

Lokális következmények

A mikrokeringés megváltozásával, a szöveti sejtek sérülésével, valamint a helyi gyulladásos folyamatok aktiválódásával lokális károsodás alakul ki. Ezen tényezők hatására izomsejtek esetében necrosis (rhabdomyolysis) alakul ki, amit a szintén károsodott endothel sejtek által indukált gyulladásos folyamatok tovább súlyosbítanak. Az endothel sejtek basalis membrántól történő elválása miatt a sejtek átteresztőképessége megnő a reperfusio során, így extravasatum keletkezik.

Mind az alsó, mind a felső végtagokon az izmok és velük együtt az erek és idegek is erős fasciák által határolt ún. rekeszekben helyezkednek el. Ezek térfogata limitált. Különböző ingerek hatására – ischaemiát követő reperfusio, törés a vele együtt járó haematomával, ritkán intenzív erős fizikai aktivitást követően - a rekeszekben normál körülmények között uralkodó 0-8 Hgmm-es nyomás megnőhet. Ez olyan mértékig fokozódhat (kb. 30 Hgmm), hogy a vérkeringés megszűnik és akut ischaemia alakul ki. A traumatológiai gyakorlatban egyéb kiváltó okokat is számba kell venni, mint a rekesz térfogatának csökkenése, amit a fascia túl szoros zárása idézhet elő. Emiatt műtét során a fascia sebét nem kell feltétlenül zárni. További kiváltó okként szerepelhet a túl szoros kötés, vagy gipszrögzítés felhelyezése, melyek kompresszió révén, több útvonalon is beindíthatják a pathomechanizmust. Emiatt kötelező a primeren felhelyezett gipszkötések utolsó menetig történő felvágása. A tünetek között említhető a rendkívül erős fájdalom, a végtag mozgásképtelensége, zsibbadás, az érintett terület rendkívül tömött tapintata, érzéskiesés, esetleg a végtagi perifériás pulzus eltűnése, de gyakran az artériás pulzus tapintható marad. A fenti jelenség a „compartment syndroma”. A diagnózist követően azonnali, sürgős műtét, fasciotomia, a rekeszek azonnali megnyitása szükséges. Fontos megemlíteni, hogy az érintett végtag valamennyi rekeszét meg kell nyitni. Ezáltal csökkenthető a rekeszi nyomás és érhető el a keringés újbóli megindulása, a reperfusio (2., 3., 4., 5. ábra).



2. ábra: Lábszár fasciotomia fixateur externe rögzítés mellett (saját fotó)



3. ábra: Fasciotomia varratokkal egyesített sebe állapotrendezést követően (saját fotó)

Esetismertetés 1 (2-3. ábra): 27 éves férfibeteg létráról leesve jobb oldali zárt lábszártörést szenvedett. Sérülését megelőzően ételt és italt fogyasztott, így műtéti ellátását halasztani kényszerültünk. Törését a műtéti előkészítés idejére körkörös, felvágott magas alsóvégtagi gipszben rögzítettük. Beérkezéskor vett laborparaméterei közül a CPK:1612 U/L emelendő ki. A felvételét követően 3-4 órával a beteg erős és fokozódó fájdalomra panaszkodott a rögzített végtagon, holott a rögzítés és nyugalomba helyezés hatására panaszainak csökkennie kellett volna. A gipszrögzítést ellenőriztük, nem volt szoros, ennek ellenére a öregujj vetületében és a lábháton zsibbadás jelentkezett. A CPK-szint tovább emelkedett, fenyegető compartment-syndroma miatt azonnali műtéti beavatkozást tartottunk szükségesnek. A lábszár mindkét oldalán fasciotomia történt, amely során mind a 4 izomrekesz megnyitásra került. A sürgősséggel elvégzett beavatkozásnak köszönhetően izomelhalás, vagy egyéb szöveti necrosis nem alakult ki. Fixateur externe felhelyezése mellett

döntöttünk. Sebeit nyitva kezeltük, 2-3 naponta kötéscserék történtek, melyek során szerencsére necrosist nem tapasztaltunk. Nyolc nappal a fasciotomiát követően sebzárást végeztünk. Bőrpótlásra nem volt szükség. A sebzárást követően 2 héttel a fixateur externet eltávolítottuk és belső intramedulláris rögzítést alkalmaztunk. A beteg szövődménymentesen gyógyult.



4. ábra: Comb és lábszár friss fasciotomiája (saját fotó)



5. ábra: Comb és lábszár fasciotomiát követő 10. napon a sebzárás megkezdődött (saját fotó)

Esetismertetés 2. (4-5. ábra): 33 éves férfibeteg, akire építkezésen gödör fala omlott és a sérültet maga alá temette. A vizsgálat során a végtagokon törést nem találtunk, ugyanakkor az alsó végtagok tartósan nyomás alá kerültek a mentés idejére. Osztályos felvételekor jobb alsó végtagon erős fájdalmat jelzett, zsibbadást panaszolt az I.-II. lábujjredőben, a végtag tömött tapintatú volt, pulzusa gyengült. Sürgősséggel fasciotomia történt a teljes jobb alsó végtagon. Szöveti necrosis szerencsére sehol sem alakult ki. Háromnaponta kötéscsere történt. Szövetelhalást nem tapasztaltunk. Tíz nappal a primer műtétet követően sebzárás történt.

Késlekedés esetén szöveti necrosis alakulhat ki. Leggyakrabban az alsó végtagokon fordul elő. Erős fascia határokkal nem rendelkező szövetek, szervek esetében ez a szövődmény kisebb valószínűségű (Matsen és mtsai, 1980; Tiwari és mtsai, 2002; Sigamoney és mtsai, 2015; Guo és mtsai, 2019). A duzzanat és ödéma megszűntét követően a sebet zárjuk. Az izomfascia gyakran nem zárható feszülésmentesen és szintén gyakori, hogy a bőrt sem tudjuk teljesen zárni, ilyen esetekben különböző bőrpótlási technikákat alkalmazunk, mint például a félvastag bőrplasztika.

Szisztémás következmények

A SIRS (systemic inflammatory response syndrome) egy inflammatorikus reakció, amely helyi gyulladásos folyamatok generalizálódásával alakul ki. Ezt a jelenséget különböző mediátorok termelődése (gyulladásokeltő citokinek, komplement, akut fázis fehérjék, véralvadási kaskád, neuroendocrin mediátorok), továbbá inflammatorikus sejtek helyi felhalmozódása erősíti.

Fontos a pro-inflammatoricus citokinek szerepe, amelyek két részletben szabadulnak fel, az akut szakban TNF- α és IL-1 β , míg a szubakut szakban INF- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-18 felszaporodása jellemző. Ezek közül kiemelkedő a TNF- α , IL-1 β , IL-6 szerepe. A gyulladásos folyamatokat többféle módon befolyásolják, egyrészt szisztémásan fokozzák az erek permeabilitását, valamint akut vascularis károsodást idéznek elő az egész szervezetben, továbbá segítik gyulladásos sejtek aktiválódását és kitapadását távoli szervekben (Dinarello, 2000; Chakraborty és mtsai, 2022).

A szisztémás gyulladás progressziója során távoli szervek is károsodhatnak, akár többszervi károsodás (MODS - multiorgan dysfunction syndrome), valamint elégtelenség (MOF -multiorgan failure) is bekövetkezhet (Marshall, 2001).

Szívélegtelenség alakulhat ki a megnövekedett szabadgyökök termelődés, valamint keringő citokinek hatására. A szabadgyökök fokozott mennyisége hatást gyakorol a szívizom adrenerg és cholinerg impulzusokra bekövetkező válaszreakcióira. Ez a redukált szívműködés a szervek hypoperfúzióját eredményezi (Pagani és mtsai, 1992; Kelly és mtsai, 1997).

A légzési rendszerben a kapillárisok körüli inflammatio és az azt követő korai stádiumban történő transsudato akadályozza a tüdő gázcseréjét. Ez az állapot légzési distressz szindrómát (ARDS) okozhat, ami gyors állapotromláshoz vezethet (Ovechkin és mtsai, 2007).

A gasztrointesztinális traktus különösen érzékeny a hypoperfusio okozta ischaemiára, amely során a mucosa membránpermeabilitása fokozódik, és bakteriális transzlokáció következik be. A portális véráramba jutó baktériumok és toxinjaik a máj Kupffer-sejtjeit

aktiválják. A Kupffer-sejtek citokineket (TNF- α) termelnek, ezáltal tovább növelik a keringésben lévő citokin-mennyiséget. A baktériumtoxinok a keringésbe jutva toxikus károsodást okozhatnak. Mindkét folyamat a generalizált gyulladásos folyamatok súlyosbodásához vezet, így módon fokozva a többszervi elégtelenség kialakulásának lehetőségét (Kunkel és mtsai, 1990; Kale és mtsai, 1998).

Az izomszövetek revascularisatioja során hyperkalaemia, acidózis, myoglobinaemia következik be, ami myoglobinuriához vezet, ezáltal akut tubularis necrosis, ebből pedig veseelégtelenség is kialakulhat. A vesekárosodás kialakulásában több tényező játszik szerepet, ilyen a gyulladásos mediátorok károsító hatása, nephrotoxikus anyagok jelenléte, keringési elégtelenség, valamint neuroendokrin mechanizmusok (Malinoski és mtsai, 2004).

2.1.5. Végtag ischaemia-reperfusio kísérletes modelljei

Az izomszövet ischaemia általi károsodásának vizsgálatára alkalmazott kísérleti modellek alapvetően két csoportba sorolhatóak: (1) residuais perfusio modellek, ahol az ischaemia nem teljes, valamennyi residuais keringés marad és (2) teljes ischaemiát alkalmazó modellek (II., III. táblázat).

II. táblázat: Residuais perfusio modellek

Residuais perfusio modellek	Előnyök	Hátrányok
Femoralis magasságban történő kirekesztés	egyszerű kivitelezés	kollaterális hálózat miatt rövid ideig használható
Iliaca szintű kirekesztés (communis vagy externa)	kiterjedt ischaemia, krónikus esetek szimulálására	kollaterális keringés miatt rágszálakon nehezen alkalmazható
Infrarenalis aortakirekesztés	érsebészeti modellezés	másik oldali végtag kontrollként nem használható
Több ér lekötése	tartós ischaemia biztosítható	bonyolult, nehezen alkalmazható

III. táblázat: Teljes ischaemiát alkalmazó modellek

Teljes ischaemia modelljei	Felhasználás
Izolált izom modell	kísérleti állatok (kutya, rágcsáló)
Amputációs modell	laboratóriumi kisállatok
Nyeles izomlebeny	kis- és nagylaboratóriumi állatok egyaránt
Tourniquet modell	kísérleti állatok és humán alkalmazás is

A *residualis perfusio*s modellek esetében kisebb mértékű károsodás alakul ki azonos időintervallum alatt, mint a teljes ischaemiát létrehozó modell alkalmazásával. Mindkét módszernél egy vagy több artéria kirekesztése történik a keringésből, de a *residualis perfusio* a kollaterális artériákon keresztül valósul meg. Végtag ischaemia-reperfusio vizsgálata esetén figyelembe kell venni, hogy a *residualis perfusio* mértéke a végtag pozíciójával változik. Nemi tényezők is közrejátszanak, ugyanis a nőstény állatok gazdagabb kollaterális hálózattal rendelkeznek. Ezen modellek különösen alkalmasak a nagyér-elzáródások és a nagyereken végzett beavatkozások vizsgálatára, mert klinikai körülmények között ezekben az esetekben sem teljes az ischaemia (Weiss, 1974; Seifert és mtsai, 1985).

Femorális magasságban történő kirekesztés alkalmazásakor az elérhető ischaemia nem tartós, a kollaterális hálózat gyorsan alkalmazkodik, így csak rövid idejű ischaemia vizsgálatára van lehetőség (Bushell és mtsai, 2002).

Iliaca szintű kirekesztés (*communis* vagy *externa*) alkalmazásával már nagyobb mértékű ischaemia érhető el. Az állatok, főleg a rágcsálók kollaterális keringése azonban eltér az emberétől, így nem lehet olyan mértékű ischaemiát elérni, mint humán modellben. Leginkább krónikus ischaemiával járó artériás verőérbetegség szimulálására alkalmazható (Nouri és mtsai, 2008).

Infrarenális szakaszon történő aortakirekesztéssel már megfelelő mértékű ischaemia hozható létre, enyhe *residualis perfusio* mellett. Ezzel a módszerrel már érsebészeti beavatkozás is modellezhető. Fenti módszer hátránya, hogy mindkét alsó végtag ischaemiájához vezet, így a kontroll lehetősége vesz el, mivel általában az ellenoldali végtagot használjuk (Wahlberg és mtsai, 2002).

Több ér szimultán lekötése is alkalmazható, de bonyolultságuk miatt nem terjedtek el.

A teljes ischaemiát létrehozó modellek között említendő az izolált kutya m. gracilis modell. A kísérlet során az izmot mind az eredésénél, mind a tapadásánál átvágják, majd eredeti helyére visszavarrásra kerül, amivel a rosthosszból adódó eltérések elkerülnek, valamint a főartérián kívül az összes kollaterális átvágásra kerül. 1980-90 táján kedvelt modell volt, manapság kevésbé használatos. Létezik rágszálókra adaptált változata is. Segítségével számos, ischaemiás károsodást elszenvedő izmokat érintő felismerés született, például szövettani károsodás, sav-bázis egyensúly, izom energiagazdálkodás vonatkozásában (Kuzon és mtsai, 1986).

Amputációs modellek esetében a teljes ischaemiás végtag leválasztásra kerül a testtől, kivéve a femoralis ér- és idegképleteket. Főként kislaboratóriumi állatokon alkalmazták, ugyanis így nagyobb mennyiségű izomszövet biztosítható további vizsgálatokhoz (Kabaroudis és mtsai, 2003).

Izomlebeny is használható teljes ischaemia vizsgálatára, ahol elsősorban a plasztikai sebészek által gyakran alkalmazott nyeles lebenyeket modelleznek. Az izom az azt ellátó érnnyel kipreparálásra kerül, így az egyedüli vérellátást a nyélben futó artéria biztosítja, melynek lefogásával teljes ischaemia érhető el. Leggyakoribb a latissimus dorsi, de hasi, valamint alsó végtagi izomlebeny is használható. További előnye, hogy mind kis-, mind nagylaboratóriumi állatokon használható módszer (Marian és mtsai, 2005).

Tourniquet segítségével teljes artériás beáramlási és teljes vénás kiáramlási blokk érhető el. Legelterjedtebb változata a pneumatikusan felfújható mandzsetta. Számos állatfajon vizsgálták és használták ischaemia előidézésére. Humán gyakorlatban rendszeresen használják az ortopéd, traumatológiai és érsebészeti vonalon. Ügyelni kell a megfelelő felfújási nyomásra, mert a túl erős szorítás szöveti necrosist, valamint ér és idegkárosodást idézhet elő. Rágszálók esetében számolni kell az alsó végtagok kiterjedt kollaterális érhálózatával, amely megnehezíti a végtag keringésből történő teljes kirekesztését (Barie és mtsai, 1988; Rosero és mtsai, 2014) (IV. táblázat).

IV. táblázat: Végtagi ischaemia állatmodelljeinek összehasonlítása

Ischaemia módszere	Előnyök	Hátrányok	Felhasználás
Tourniquet	- egyszerűen alkalmazható - ép fascia-rekeszek	- a végtag teljes kizárása a keringésből - leszorítás okozta szövetkárosodás - nehéz meghatározni az ischaemia alatti véráramlást	- reaktív hyperaemia - irreverzibilis ischaemia vizsgálata
<i>In situ</i> izolált izom	- izomanyagcsere vizsgálata - ellenoldal kontrollként felhasználható - pontosan mérhető véráramlás	- szisztémás tényezők nem vizsgálhatóak - fascia rekeszek megnyílása - az izomdenerválás hatása megjósolhatatlan	- reverzibilis és irreverzibilis ischaemia vizsgálata
Részleges izom ischaemia, aorta leszorítás, fokozatos femoralis artéria elzárás	- a kollaterális keringés ép - az ischaemia anyagcseretermékei eléri a központi keringést	- az aorta leszorítás és felengedés független haemodinamikai következményei befolyásolhatják az eredményeket - ellenoldal nem használható kontrollként	- részleges ischaemia vagy "low flow" állapotok vizsgálata
<i>Ex vivo</i> izolált izom	- a modell a vázizom microvascularis integritására fókuszál - rendkívül érzékeny a finom változásokra	- technikailag bonyolult - az izolált modellek hátrányait is tartalmazza - permeabilitás vizsgálatához heparint és papaverint igényel - perfúziós pumpát igényel	- ideális a microvascularis perfúzió és az ödémaképződés jellemzőinek vizsgálatára

2.1.6. Végtag ischaemia-reperfúziós károsodás csökkentésének lehetőségei

Az I/R károsodás kivédése vagy mérséklése jelentős kihívást jelent napjainkban az orvoslás számára. Számos területen elkerülhetetlen a kialakulása, ilyen a traumatológia, érsebészet, neurológia, kardiológia. A megelőzési lehetőségeket alapvetően két csoportba sorolhatjuk: nem sebészi, illetve a sebészi módszerek (Naito és mtsai, 2020; Natarajan és mtsai, 2020).

Nem sebészi módszerek

Ide tartozik a hypothermia és szöveti konzerváló oldatok alkalmazása. Hűtött heparinos fiziológiás sóoldattal perfundálva csökkenthető a reperfúziót követő ischaemiás károsodás mértéke (de Groot, 2007). Ezt a módszert embolectomia során használták először.

A farmakológiai módszerek alkalmazása során számos szer került kipróbálásra (Sivaraman és mtsai, 2014). A fő célpont legtöbbször a sejtinterakciók mérséklése, az adhézió gátlás, valamint a szuperoxid gyökök képződésének csökkentése. Támadáspontjuk alapján az alábbiak szerint csoportosíthatjuk őket:

- *Antikoaguláns kezelés:* sebészet, traumatológia, érsebészet esetében nem kérdéses a hatásos antikoaguláns terápia alkalmazása. Érkirekesztést követően javítja a mikrokeringést.
- *Szabadgyökfogó vegyületek:* allopurinol, amely xantin-oxidáz gátlószerként csökkenti a ROS-képződést. A vitaminok közül az A-, C-, és E-vitamin antioxidáns hatással rendelkezik. Önmagukban alkalmazva kevésbé hatásosak, de más vegyületekkel kombinálva egymás hatását erősítik (Bozkurt, 2002).
- *Antioxidánsok:* köztük enzimek (pl. SOD), hormonok (pl. melatonin), aminosavak (N-acetyl-cisztein), egyes gyógyszerek (pl. statinok), növényi kivonatok (pl. Gingko biloba).
- *Nitrogén-oxid (NO) és NOS (nitrogén-oxid-szintáz) inhibitorok*
- *Leukocita gátlás:* anti-CD11b, anti-CD18.
- *A vér rheológiai tulajdonságait befolyásoló szerek* a viszkozitás csökkentésével, a vörösvérsejtek aggregációjának csökkentésével érik el kedvező hatásukat.
- *A vér alakos elemeire ható szerek:* pl. vérlemezke aggregációt gátló szerek.
- *Mitochondriális támadásponttal rendelkező szerek:* mivel a mitochondriumoknak kiemelkedő jelentősége van I/R károsodások folyamatában, így számos, a mitochondriális anyagcserét befolyásoló anyaggal (ranolazin, koenzin-Q₁₀, trimetazidine), a mitochondriális ROS rendszert befolyásoló készítményekkel (carvedilol, propofol, xantin-oxidáz inhibitor) történtek próbálkozások, azonban egyik sem bizonyult egyértelműen hatásosnak (Morin és mtsai, 2001).

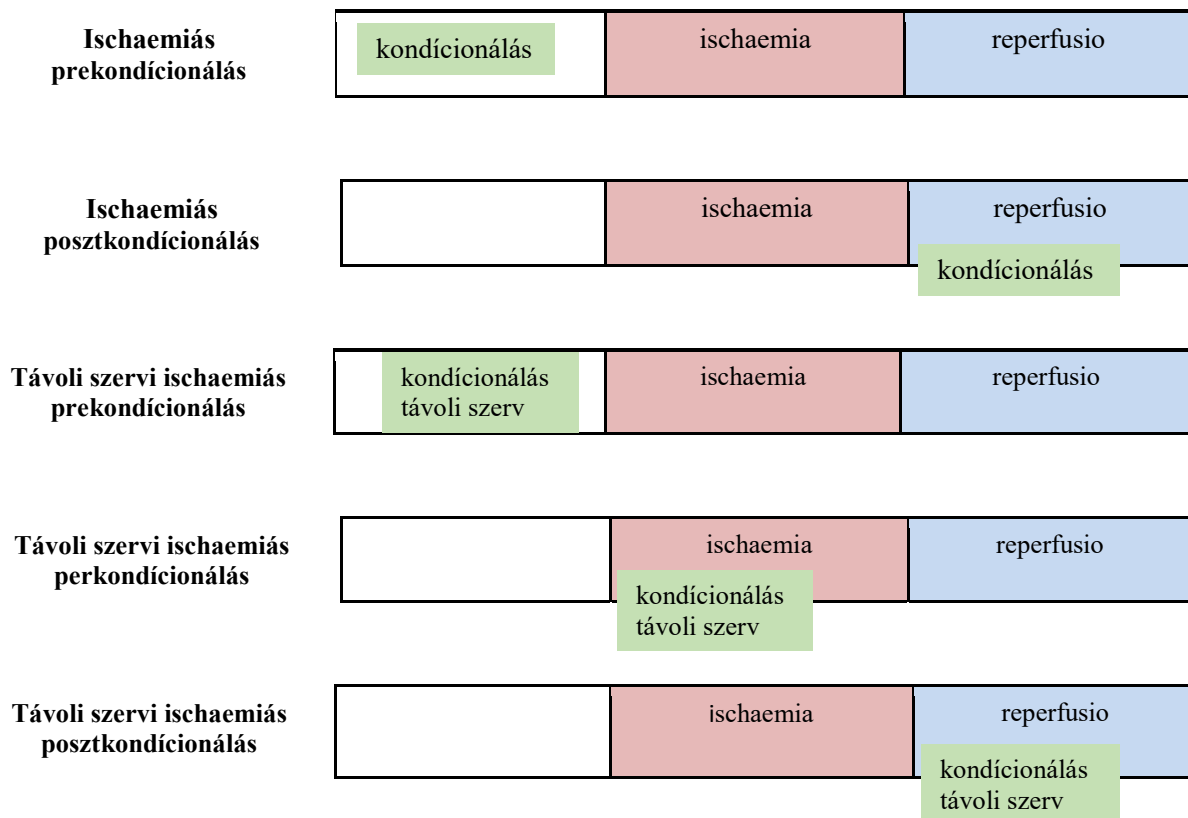
A különböző hatóanyagok nem egyformán hatásosak a különböző szervek, szövetek esetében, de általánosságban elmondható, hogy fenti készítmények kísérletes tanulmányokban kedvező hatással voltak az ischaemia-reperfúziós károsodásokra.

Sebészi módszerek

Fokozatos „*graduális*” *reperfusio* során lassú, óvatos felengedést alkalmazunk. A vérkeringést lépésről-lépésre állítjuk helyre a nulla szinttől a teljes, szabad áramlásig. Ez a módszer 30-60%-kal csökkentheti az ischaemiát követő szívinfarktus előfordulását, azonban nem gyakorol pozitív hatást a koszorúerek endothelfunkciójára (Sato és mtsai, 1997). A másik, viszonylag egyszerűen használható sebészi módszer a *kontrollált reperfusio*. Ilyenkor a kirekesztést nem hirtelen, egyszerre szüntetjük meg, hanem az első fél órában a leszorítástól proximálisan lévő érből nyert, majd specifikus oldattal 6:1 arányban összesen 500 ml-re hígított elegyet a leszorítástól distalisan adják be. Ezen eljárás haszna, hogy a kiinduló perfúziós nyomás kontrollálható, azt 60 mm Hg alatti értéken szabályozva az ödéma képződés meggátolható. Kedvező hatását myocardialis ischaemia esetében írták le először (Allen és mtsai, 1993), de alsó végtagi műtétek során is pozitív hatásról számoltak be (Mitrev és mtsai, 1994). Későbbi kutatások igazolták, hogy alkalmazásával csökkenthető a reperfúziós szindróma súlyossága is (Sezer és mtsai, 2022). Hátránya, hogy eszközigényes, drága és alkalmazása körülményes.

Fentiekén kívül léteznek különböző toleranciafokozó eljárások, amely az erek egymást követő, rövid idejű leszorításának sorozatát jelentik, ischaemiás és reperfúziós szakaszokat váltogatva. A rövid ischaemia-reperfúziós sorozatok és a tartós ischaemia időbeli kapcsolatát figyelembe véve megkülönböztetünk pre-, tehát a sérülés előtti, per-, azaz a sérüléssel egy időben történő és post-, vagyis a károsodás után alkalmazott kondicionáló eljárásokat. Az eljárás történhet helyileg, az adott szöveten, szerven vagy végtagon, de akár távolabbi szerven vagy végtagon is alkalmazható, ezt távoli szervi kondicionálásnak nevezzük (6. ábra).

A *prekondicionálás* lényege, hogy a célszerven rövid ischaemiás periódusokat alkalmaznak a későbbi, tartós ischaemia előtt. Murry és munkatársai 1986-ban kutya szívizmon végzett kísérletükben az eljárást hatásosnak találták az ischaemia-reperfúziós károsodás csökkentésére (Murry és mtsai, 1986). Kedvező hatását azóta számos szervben és szövetben igazolták (Pasupathy és mtsai, 2005; Ulus és mtsai, 2014). Hátránya, hogy a klinikai alkalmazás az elektív beavatkozásokra korlátozódik az ischaemia előre nem látható megjelenése miatt. A módszer továbbfejlesztése a *távoli szervi ischaemiás prekondicionálás*, amelyet Przyklenk 1993-ban írt le (Przyklenk és mtsai, 1993). Alapja egy másik szerv vagy végtag véráramlásának időszakos, non-invazív, rövid távú megszakítása a célszerv ischaemiáját megelőzően. Növelheti az I/R sérülésekkel szembeni toleranciát számos szervben, beleértve az agyat, a szívet és a vesét (Zhang és mtsai, 2012). Az eljárás szintén csak elektív beavatkozások esetén alkalmazható.



6. ábra: Sebészi kondicionáló eljárások áttekintése

A posztkondicionálás mechanizmusát Zhao írta le (Zhao és mtsai, 2003). Munkájukban kutya bal artéria coronaria leszálló ágán végeztek több ciklusban kirekesztést, majd felengedést, a célszervi ischaemia után, reperfusio kezdetén alkalmazva. Vázizomzatban McAllister és munkatársai tesztelték először (McAllister és mtsai, 2008) és feltételezték, hogy a védő hatás molekuláris mechanizmusa a mitochondrialis permeabilitási tranzíciós pórusok megnyílásának gátlásában rejlik. A posztkondicionálás akut esetekben is alkalmazható, de fontos az időfaktor: a reperfusio első néhány perce a meghatározó. Kísérletes tanulmányok alapján az ebben az időintervallumban megkezdett eljárások eredményesen csökkentették a későbbi károsodás mértékét (Kin és mtsai, 2004).

Az alkalmazott ischaemia-reperfusiók periódusok számát és hosszát illetően eltérő protokollok léteznek, bár egyes tanulmányok szerint a ciklusok száma kisebb jelentőségű. Kin és mtsai ugyanolyan hatást értek el 3, illetve 6 ciklus alkalmazásával patkánymodellen (Kin és mtsai, 2005). A protektív hatás szempontjából fontosabbnak tűnik a ciklusok időtartama (Yang és mtsai, 2004). A fajok között is jelentős különbségek fedezhetőek fel. A kisebb állatok általában rövidebb ciklusokat igényelnek. Ennek magyarázata lehet a kisebb

szívmérettel fordítottan arányos metabolikus ráta, melyet a vérnyomás, falfeszülés, pulzusszám határoz meg. Mindezek befolyásolják a szívinfarktus során felszabaduló szabadgyökök, citokinek, hormonok mennyiségét (Vinten-Johansen és mtsai, 2005).

A mai napig nincs egyértelmű konszenzus arról, hogy az egyes szervek, szövetek esetén mi az optimális protokoll.

2.2. Haemorheológiai vonatkozások

A rheologia a folyadékok nyírófeszültség hatására történő folyási és deformálódási tulajdonságaival foglalkozó tudományterület. Egyik ága a haemorheologia, ami Alfred L. Copley meghatározása szerint haemorheologia a vörösvérsejt és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése. A szöveti mikrokeringés definiálásában fontos szerepe van a vér rheológiai sajátosságainak (Lipowsky és mtsai, 2005; Popel és mtsai, 2005).

A vér nem-newtoni folyadékként viselkedik, viszkozitása függ a sebesség-grádiénstól. A teljes vér viszkozitását meghatározó fő paraméterek közé tartoznak (Baskurt, 2007):

- haematocrit (a szuszpendált részecskék mennyisége)
- plasma viszkozitás (a szuszpenziós folyadék tulajdonsága),
- vörösvérsejt aggregatio (a szuszpendált részecskék mérete)
- vörösvérsejt deformabilitás (a szuszpendált részecskék saját belső súrlódása)

A micro-rheológiai jellemzők (vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt aggregatio) változásai jelző értékűek szepszisben, gyulladásos folyamatokban és ischaemia-reperfusio során.

2.2.1. Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitás a sejt azon alakváltozását fejezi ki, amely nyíróerők fellépése során valósul meg (Baskurt és mtsai, 2004). A vörösvérsejtek ezen képességét maga a sejtmembrán és alatta lévő vázrendszer teszi lehetővé, melyet fehérjék kiterjedt hálózata alkot, aminek a legfontosabb eleme a spektrin. Ezen rendszernek fontos szerepe van a sejtek különleges biconkáv alakjának megtartásában és ez teszi lehetővé a sejt rugalmas alakváltozását, amely elengedhetetlen a kapillárisokon való átjutáshoz (Mohandas és mtsai, 2008; McMahon, 2019; Kim és mtsai, 2015). Ez a változás reverzibilis, ám nagy erőbehatásra a sejtek visszafordíthatatlan károsodást szenvednek. Az alakváltozás a sejt felszíni területének a növekedése nélkül megy végbe. Az erythrocyták haemoglobin tartalma, valamint a sejtek

hidratáltsága befolyásolja a cytoplasma viszkozitását, ezáltal a sejt deformálhatóságának a mértékét. A hidratáltság növekedése, illetve a csökkenése is rontja a deformabilitást. A hidratáltság növekedésével nő a térfogat, de a felszín nem változik. A hidratáltság csökkenésével a haemoglobin tartalom növekszik, ezáltal a cytoplasma viszkozitása megnő. Mindkét esetben romlik a sejt deformabilitása (Baskurt és mtsai, 2003; Németh és mtsai, 2012, 2014, 2018; Ebrahimi és mtsai, 2022).

2.2.2. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio a sejtek reverzibilis összekapcsolódása, ami stasisban vagy alacsony sebesség-grádiens esetében megy végbe. Az aggregációs folyamat két fázisból áll, az első 5-15 s szakaszban a vörösvérsejtek lineárisan, pénztekercs-szerű alakzatba rendeződnek, majd a következő 1-2 percben az aggregátumok háromdimenziós alakzatba rendeződnek. Számos tényező befolyásolja, így a szuszpendáló közeg összetétele, (elsősorban a fibrinogén koncentráció), a haematocrit, a nyíróerő, a vörösvérsejtek felszíni sajátságai (felületi töltés, glycocalyx összetétele), mechanikai tulajdonságai (deformabilitás). A vörösvérsejt aggregációhoz nélkülözhetetlen a bikonkáv sejthalak. Egyes sejthalakok nem, vagy csak kis mértékben képesek aggregálódni (pl. spherocyta, echinocyta). Az aggregációt gátló erők közé tartoznak a töltés eloszlás a sejtfelületen, a vörösvérsejt-membrán rigiditása valamint a nyíróerők (Cicha és mtsai, 2003; Németh és mtsai, 2012, 2014, 2018; Flormann és mtsai, 2017).

Az aggregatio jelenségére több magyarázat is létezik. Az egyik a „bridging modell”, amely alapján a közeli vörösvérsejteket a plazmában lévő makromolekulák kötik össze. Ezt bizonyítja az, hogy sem fiziológiás sóoldatban, sem egyéb oldatban nem következik be az aggregatio (Neu és mtsai, 2007; Saldanha, 2013). A „depléciós modell” úgy magyarázza a jelenséget, hogy a plazmában lévő makromolekulák a sejtfelületi lipid és fehérjeréteg miatt nem tudnak a vörösvérsejtek felszínéhez elég közel kerülni, ezáltal egy depléciós zóna alakul ki. A közeli erythrocyták depléciós zónái és a plazma makromolekulái közt ozmotikus grádiens alakul ki, ami a vörösvérsejtek aggregációját okozza (Neu és mtsai, 2007; Murali és mtsai, 2017).

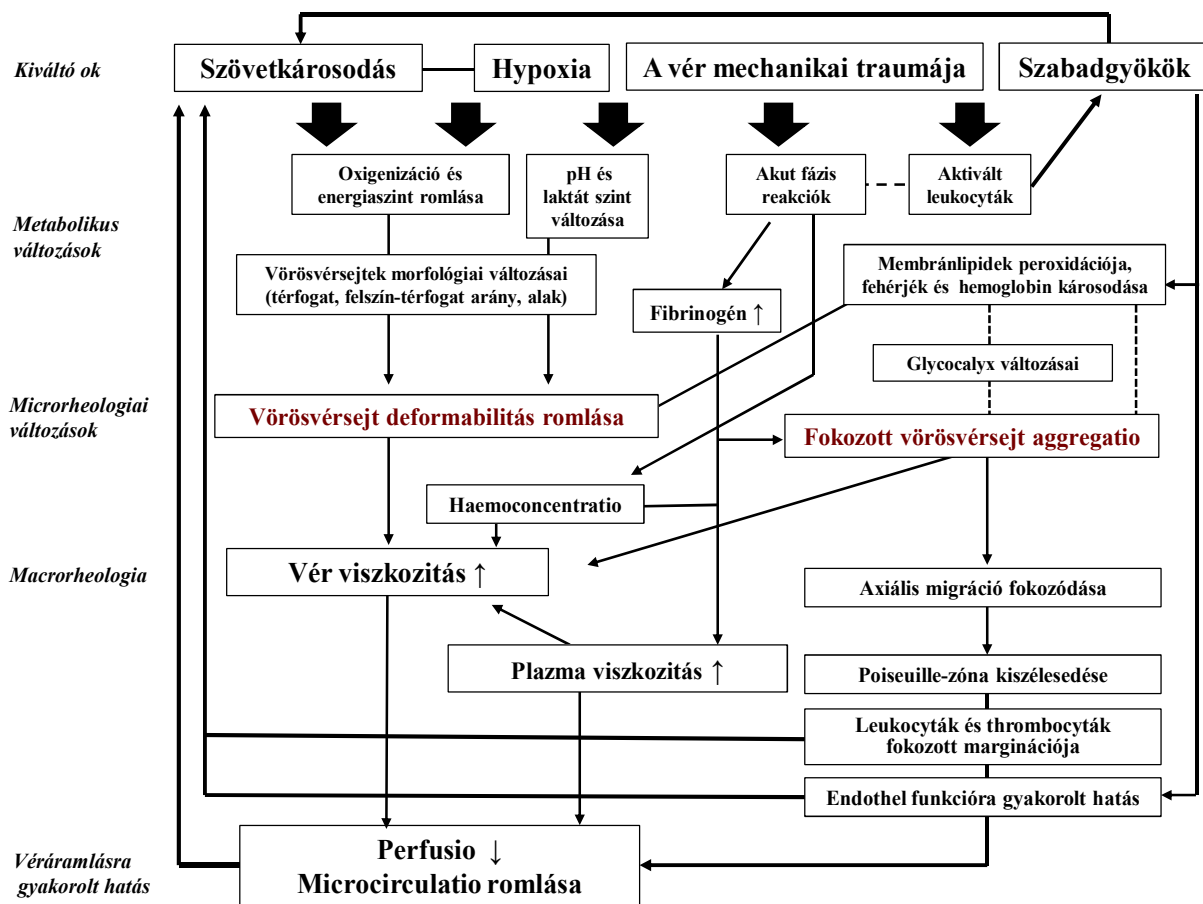
2.2.3. *A micro-rheológiai paraméterek hatása a keringésre*

A vörösvérsejtek különleges tulajdonságaik révén fontos szerepet töltenek be a keringésben. Bizonyos kóros állapotokban (pl. tumor, gyulladás, trauma, anyagcsere betegségek) működésük megváltozik és haemodinamikai működési zavar alakulhat ki.

A vérkeringés rheológiai szempontból három részre osztható. A 300 μm -nél nagyobb érátmérő esetén tömeges áramlásról beszélünk. Itt a sejtek egymástól függetlenül, a másik áramlását alig befolyásolva mozognak. Itt a klasszikus haemodinamikai (Poiseuille) törvény alkalmazható. A következő rész az átmeneti zóna, ahol az átmérő 300-8 μm közé esik. Itt az áramlás parabolikus jelleget mutat, lamináris áramlás kialakulásával. A vér az érfalhoz közeli területekhez képest nagyobb sebességgel mozog az értengely mentén, ami a sejtes elemek koncentrációját eredményezi az érpálya tengelye mentén. Ez a haematokrit emelkedéséhez és az érfal mentén egy sejtszegény zóna kialakulásához vezet (Poiseuille-zóna). Az érkeresztmetszetet vizsgálva megállapítható, hogy sem a sejtes elemek eloszlása, sem a sebesség nem egyenletes. 40-10 μm érátmérő esetében megfigyelhető, hogy a vérviszkozitás csökken az érátmérővel (Fåhræus-Lindquist-effektus) (Fåhræus és mtsai, 1931). A 8 μm alatti érátmérő az egyenkénti áramlás szakasza. Ez a terület magába foglalja a kapillárisok rendszerét. A rendkívül kis átmérő miatt az aggregációs képességek háttérbe szorulnak, előtérbe kerül a deformabilitás, mert sok esetben csak egyetlen sejt tud áthaladni a kis keresztmetszeten (Pries és mtsai, 2003; Ercan és mtsai, 2003).

A különböző okokból károsodott, sérült, esetleg oxidált erythrocyták micro-rheológiai paramétereinek rosszabbodása, azaz a deformabilitás romlása és az aggregációs képesség növekedése az áramlási ellenállás és a viszkozitás növekedéséhez és a véráramlási sebesség csökkenéséhez vezet. Az aggregatio növekedése miatt megnő az érfal melletti sejtszegény zóna, ezáltal csökken az oxigéndiffúzió is (Tateishi és mtsai, 2001). Az erythrocyták aggregációja más sejtek aktivitását is befolyásolja, ilyen a leukocyták érfalhoz történő kitapadása és az endothel aktiváció. Fenti folyamatok révén ischaemia, illetve érelzáródás is kialakulhat, ami a micro-rheológiai paramétereket tovább rontja. Emiatt öngerjesztő circulus vitiosus, „ördögi kör” alakul ki (Pearson és mtsai, 2000; Cho és mtsai, 2011).

A szövetkárosodás, a hypoxia, a vérsejtek mechanikai traumája, a nagy mennyiségben felszabaduló szabad gyökök, mint kiváltó okok különböző útvonalakon keresztül anyagcsere-elváltozásokhoz és gyulladásos folyamatokhoz vezetnek, amelyek befolyásolják a micro- és macrorheológiai paramétereket, az áramlási jellemzőket és az endothel funkcióit, ami mikrokeringési zavarokhoz és a perfúzió csökkenéséhez vezet és további szövetkárosodást okoz (7. ábra).



7. ábra: A véráramlást befolyásoló tényezők és a károsodás kialakulásának mechanizmusai (Németh és mtsai 2018)

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 $1400 \text{ ml} \pm 620 \text{ ml}$).

- Kontroll 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 reperfúziós 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

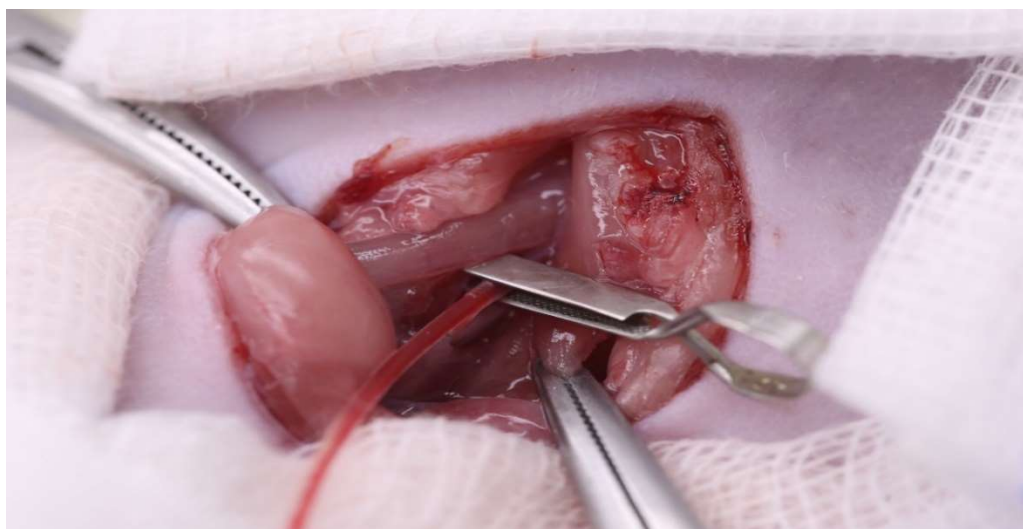
3.2.1. Kísérleti állatok, anaesthesia, műtéti protokoll

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 (8. ábra).



8. ábra: Arteria carotis kanülálása invazív végnymásméréshez

3.2.2. Kísérleti csoportok

Az állatokat véletlenszerűen négy csoportra osztottuk:

- Kontroll (C) csoport (n=8, 320,4±9 g): az arteria carotis communis kanüláláson kívül egyéb beavatkozásra nem került sor.
- Ischaemia-reperfüsiós (I/R) csoport (n=7, 376,4±42,4 g): egyoldali hátsó végtagi ischaemiát idéztünk elő a comb körül alkalmazott tourniquet segítségével (9. ábra), 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-reperfüsiós 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-reperfúziós ciklusokat alkalmaztunk.

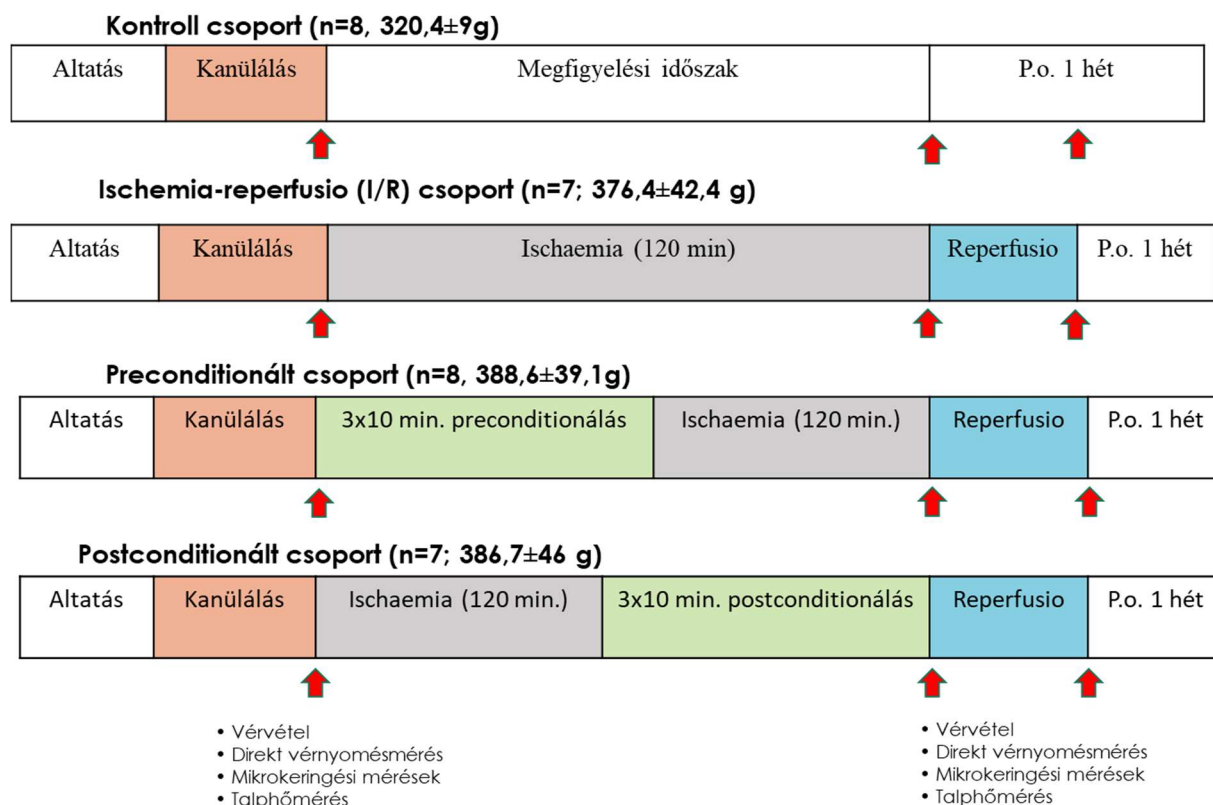
Az állatok fájdalomcsillapítás céljából Flunixin A.U.V. injectiót (Norbrook Laboratories Ltd.) kaptak i.m., 10 mg/ttkg dózisban a 2 órás megfigyelési, illetve reperfúziós időszakot követően.



9. ábra: Patkány alsó végtag leszorítása tourniquet segítségével

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 (10. ábra).



10. ábra: A kísérleti és mintavételi protokoll

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 ágyaztuk, 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, gyulladásos infiltráció.

3.2.5. Szöveti microcirculatio mérése

A szöveti microcirculatio non-invazív meghatározására Laser-Doppler elven működő egysatornás 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 lézervény 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-Experimentia 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 (Vvs [$10^6/\mu\text{l}$]), haematocrit (Htc [%]), haemoglobin (Hgb [g/dl]), fehérvérsejtszám (Fvs [$10^3/\mu\text{l}$]), thrombocyta szám (Thr [$10^3/\mu\text{l}$]), 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 thrombocyta térfogat (mean platelet volume, MPV, [fl]), meghatározás történt.

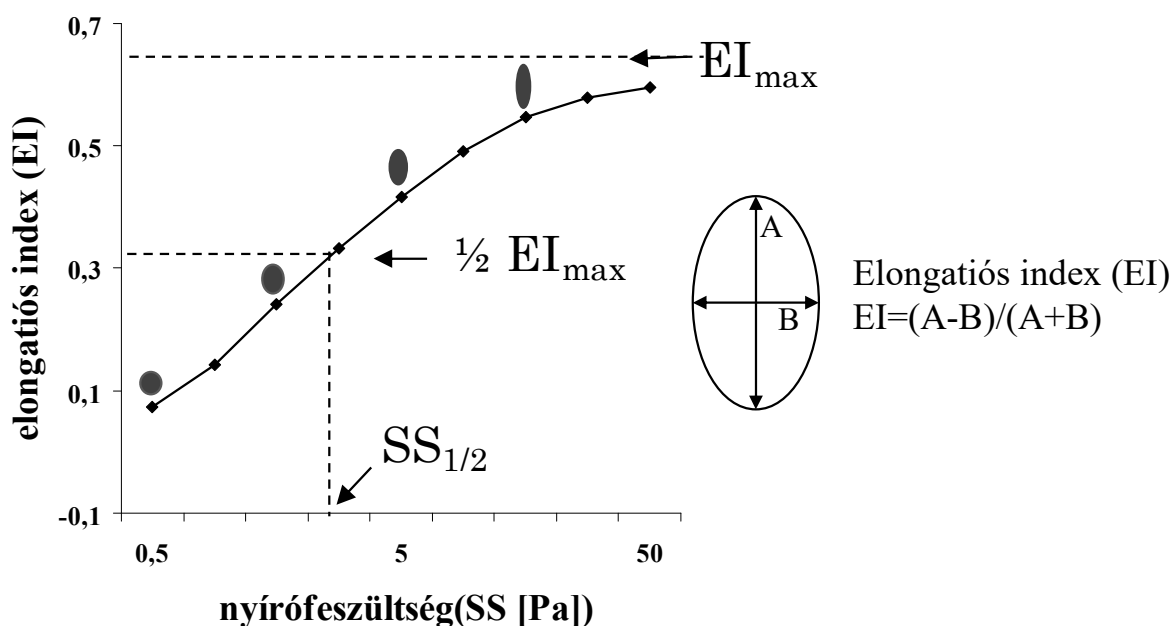
Teljes vér viszkozitás

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 Omoscan (RR Mechatronics BV, Zwaag, Hollandia) ektacytométert használtunk, amely az elongációs indexet (EI) a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében határozza meg (Hardeman és mtsai,

2007; Baskurt és mtsai, 2009). 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 összehasonlításához a 3 Pa nyírófeszültségnél mért EI értékeket, valamint az EI-SS görbék parametrizálásával (Lineweaver-Burk analízis) (11. ábra) 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. (Baskurt és mtsai, 2009.) Deformabilitás romlását jelzi az EI_{max} csökkenése, illetve az $SS_{1/2}$ emelkedése.



11. ábra: Lineweaver-Burk analízis (Baskurt és mtsai, 2009 alapján)

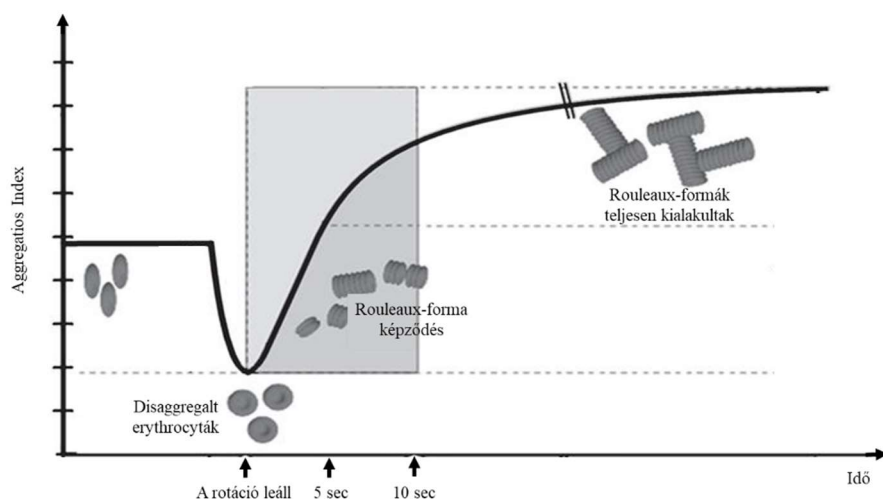
Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt-aggregációt 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 (12. ábra). 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 (Hardeman és mtsai 2007). Növekedésük az aggregatio fokozódását jelzi.

A LoRRca készülékkel az aggregálódó vérmintáról visszaverődő lézerefény reflexióján alapuló szillektometriai megközelítéssel az aggregációs indexet (AI [%]), az intenzitásgörbék

amplitúdóját (Amp) és a félamplitúdóhoz 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 Kontroll és NSAID csoportban vizsgáltuk.



12. ábra: A vörösvérsejt aggregációt leíró intenzitás - idő görbe (Hardeman és mtsai, 2007 alapján)

Vérgáz analízis

Epoc® Blood Analysis System (Siemens Healthineers, Erlangen, Németország) berendezéssel mértük a vér oxigén- és szén-dioxid telítettségét (pO_2 , pCO_2 [mmHg]), pH-ját, valamint különböző elektrolitokat (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} és Cl^-), metabolitokat (glükóz [mmol/L], laktát [mmol/L] és a kreatinin koncentrációt [μ mol/L]). A vizsgálat mintánként 0,1 ml natív vért igényelt.

3.4. Statisztikai analízis

A klinikai tanulmánynál az adatokat átlag $\pm$ 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 $\pm$ 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 Kontroll csoport fehérvérsejtszáma (Fvs [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) (V. táblázat).

A vörösvérsejtszám (Vvs [T/l]), a haemoglobin koncentráció (Hgb [g/dl]) és a haematocrit (Htc [%]) 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).

V. táblázat: A haematologiai paraméterek változásai

Változó	Csoport	Alap	R-10	1. p.o. nap	2. p.o. nap
Fvs [G/l]	Kontroll	5,37 ± 1,38	7,92 ± 2,23 *	9,47 ± 2,31 *	8,07 ± 1,73 *
	NSAID	6,26 ± 2,24	6,21 ± 1,03	10,4 ± 1,46 *	10,3 ± 1,67 *
	Prekondicionált	7,9 ± 1,94	7,25 ± 2,71	10,96 ± 2,27 *	10,71 ± 1,8 * #
Vvs [T/l]	Kontroll	4,41 ± 0,28	4,33 ± 0,62	3,84 ± 0,8	3,98 ± 0,85
	NSAID	4,46 ± 0,78	4,28 ± 0,23	3,76 ± 0,61	3,27 ± 0,5 *
	Prekondicionált	5,8 ± 0,61 #	4,33 ± 1,3 *	4,15 ± 0,51 *	3,9 ± 0,65 *
Hgb [g/dl]	Kontroll	11,47 ± 1,12	11,37 ± 1,65	10,43 ± 1,96	10,47 ± 2,19
	NSAID	11,32 ± 0,88	10,91 ± 0,58	9,14 ± 1,54 *	8,56 ± 1,53 *#
	Prekondicionált	13,43 ± 1,85	10,41 ± .38*	10 ± 1,55 *	9,7 ± 1,81 *
Htc [%]	Kontroll	41,37 ± 3,7	40,77 ± 5,61	37,57 ± 8,7	34,67 ± 10,44
	NSAID	40,4 ± 7,13	37,72 ± 2,12	34,44 ± 5,32	29,93 ± 4,33 *
	Prekondicionált	54,75 ± 2,42 #+	42,13 ± 2,97 *	41,76 ± 4,33 *+	37,89 ± 7,38 *+
Thr [G/l]	Kontroll	260 ± 114,9	238,2 ± 63,2	295,1 ± 125,3	245,8 ± 124
	NSAID	188,5 ± 103,5	238,8 ± 77,1	258,6 ± 54,1	201,3 ± 35,1
	Prekondicionált	382,5 ± 103,4 +	284,9 ± 39,5	304,5 ± 39,5	322,1 ± 96,1

Fvs: fehérvérsejtszám; Vvs: vörösvérsejtszám; Hgb: haemoglobin koncentráció; Htc: haematocrit;
 MCV: vörösvérsejt átlagos térfogat; MCH: vörösvérsejt haemoglobin koncentráció;
 MCHC: vörösvérsejt átlagos haemoglobin koncentráció; Thr: vérlemezke szám; Átlag ± S.D.; * $p<0,05$ vs. alap,
 # $p<0,05$ vs. Kontroll, + $p<0,05$ vs. NSAID

A Prekondicionált csoportban a kezdeti Htc, Hgb és RBC értékek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a Kontroll 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 thrombocyta szám (Thr [G/l]) nem mutatott számottevő különbséget a csoportokon belül és a megfigyelési időszak alatt, azonban csökkenés volt tapasztalható a Prekondicionált csoportban (V. táblázat).

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 Kontroll és az NSAID csoportban. A Prekondicionált csoport haematocrit száma kezdetben magas volt, azonban a volumenterápiás kezelés hatására az 1. posztoperatív napra csökkent (VI. táblázat).

VI. táblázat: Teljes vér viszkozitás (TVV) változásai

	Csoport	Alap	R-10	1. p.o. nap	2. p.o. nap
TVV [mPa.s]	Kontroll	$3,75 \pm 0,24$	$3,61 \pm 0,53$	$3,61 \pm 0,82$	$3,75 \pm 0,94$
	NSAID	$3,78 \pm 1,01$	$3,71 \pm 0,3$	$3,63 \pm 0,38$	$3,82 \pm 0,42$
	Prekondicionált	$4,48 \pm 0,21 \#$	$3,9 \pm 0,47$	$3,21 \pm 0,48 *$	$3,67 \pm 1,47$

Átlag $\pm$ S.D.; * $p<0,05$ vs. alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll

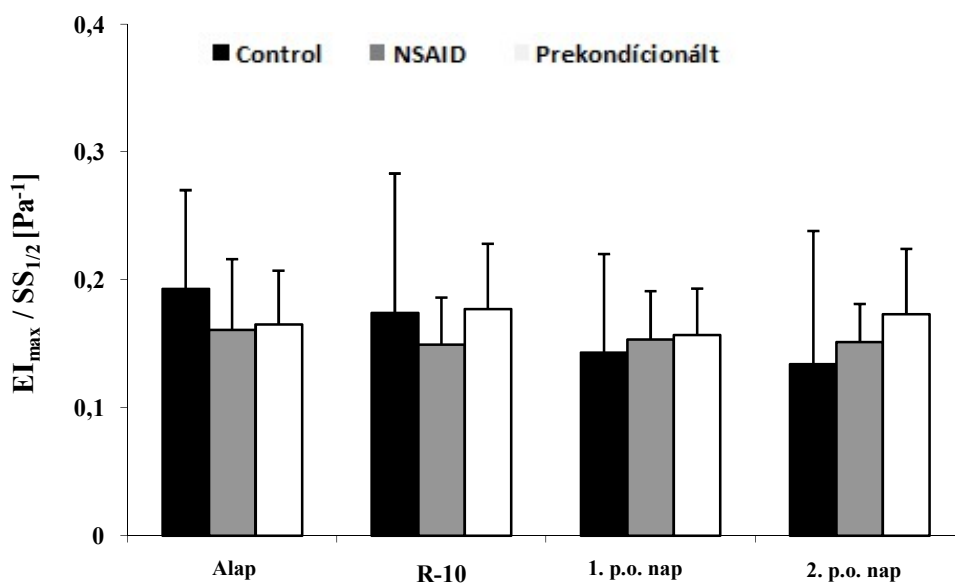
4.1.3. Vörösvérsejt deformabilitás változása

A VII. táblázat és a 13. ábra a vörösvérsejt deformabilitás értékeit mutatja be. 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 Kontroll csoportban volt megfigyelhető. Az $SS_{1/2}$ értékek folyamatosan emelkedtek a Kontroll csoportban, szignifikáns eltérést mutatva az alapértékhez képest a 2. posztoperatív napon ($p=0,025$) (3. táblázat). Ennek megfelelően az $EI_{\max}$ és az $SS_{1/2}$ aránya csökkent a Kontroll csoportban (1. ábra). Ez a változás nem volt megfigyelhető sem az NSAID, sem a Prekondicionált csoportokban (VII. táblázat, 13. ábra).

VII. táblázat: A vörösvérsejt deformabilitás változásai

Paraméter	Csoport	Alap	R-10	1. p.o. nap	2.p.o. nap
EI 3 Pa-nál	Kontroll	0,222 ± 0,067	0,221 ± 0,062	0,238 ± 0,051	0,226 ± 0,055
	NSAID	0,236 ± 0,017	0,222 ± 0,017	0,231 ± 0,016	0,235 ± 0,017
	Prekondicionált	0,305 ± 0,009 #	0,303 ± 0,011 #	0,301 ± 0,014	0,304 ± 0,016 #
EI _{max}	Kontroll	0,470 ± 0,068	0,457 ± 0,072	0,447 ± 0,059	0,442 ± 0,059
	NSAID	0,513 ± 0,029	0,494 ± 0,037	0,514 ± 0,029	0,495 ± 0,025
	Prekondicionált	0,553 ± 0,014 #	0,555 ± 0,021 #	0,531 ± 0,021 #	0,566 ± 0,019 #
SS _{1/2} [Pa]	Kontroll	2,86 ± 1,3	3,41 ± 1,61	3,97 ± 1,58	4,45 ± 1,86 *
	NSAID	3,41 ± 0,73	3,43 ± 0,55	3,47 ± 0,56	3,36 ± 0,56
	Prekondicionált	3,51 ± 0,83	3,37 ± 0,99	3,53 ± 0,81	3,56 ± 1,21

EI: elongatiós index; **EI_{max}:** maximális elongatiós index; **SS_{1/2}:** EI_{max} feléhez tartozó nyírófeszültség;
 Átlag ± S.D.; * p<0.05 vs. alap; # p<0.05 vs. Kontroll; +p<0.05 vs. NSAID



13. ábra: A vörösvérsejt deformabilitás változásai.

EI_{max}: maximális elongatiós index; **SS_{1/2}:** EI_{max} feléhez tartozó nyírófeszültség
 R-10: a reperfusio 10. perce
 Átlag±S.D.

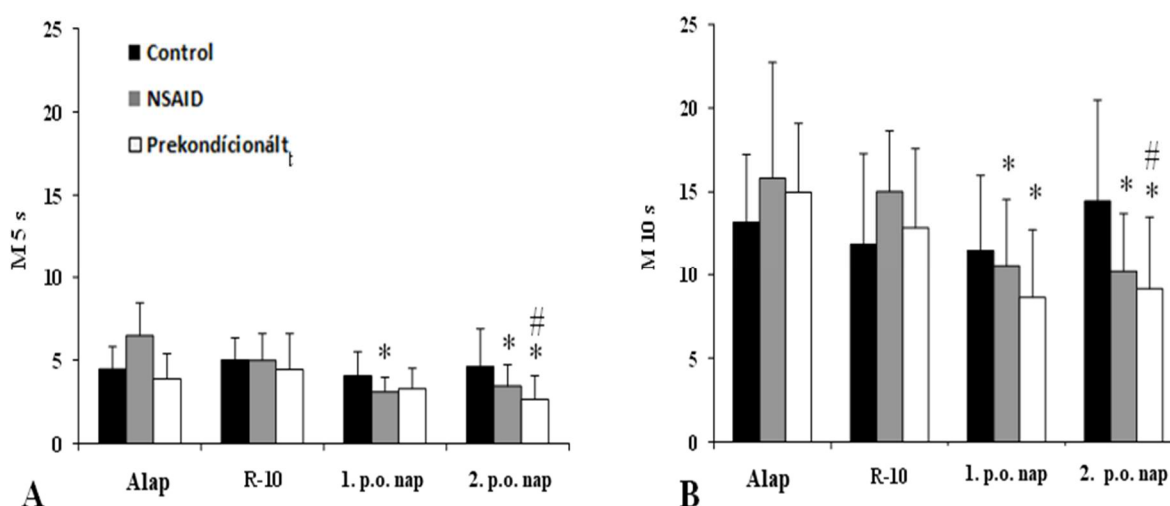
4.1.4. Vörösvérsejt aggregatio változása

Az aggregációs index értékek mérsékelt csökkenést mutattak az NSAID és a Prekondicionált csoportokban (VIII. táblázat). 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 Kontroll csoport értékei emelkedettek maradtak, sőt a 2. posztoperatív napra tovább emelkedtek (M 5s: $p=0,004$, M 10s: $p=0,009$ vs. Prekondicionált csoport) (14. ábra).

VIII. táblázat: Vörösvérsejt-aggregációs index értékek változásai syllectometriás módszerrel

Paraméter	Csoport	Alap	R-10	1. p.o. nap	2. p.o. nap
AI%	Kontroll	51,82 ± 10,56	50,32 ± 10,15	53,95 ± 12,65	66,45 ± 7,19*
	NSAID	53,94 ± 14,46	58,42 ± 6,78	54,61 ± 6,04	68,98 ± 3,21*
Amp	Kontroll	21,81 ± 2,18	21,26 ± 3,83	21,86 ± 4,47	21,06 ± 4,27
	NSAID	0,513 ± 0,029	23,41 ± 0,65	19,16 ± 2,32	17,32 ± 3,22*#
$t_{1/2}$ [s]	Kontroll	4,17 ± 2,24	4,31 ± 1,8	3,92 ± 2,51	2,01 ± 0,79*
	NSAID	3,92 ± 2,42	2,89 ± 0,83	3,39 ± 0,87	1,89 ± 0,26*

AI: aggregációs index; Amp: amplitudo; $T_{1/2}$: fél-amplitudo idő;
 Átlag ± S.D.; * $p<0,05$ vs. alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll



14. ábra: Vörösvérsejt-aggregációs index értékek változásai
 A: M 5 s és B: M 10 s értékek a Kontroll, NSAID és prekondicionált csoportban;
 R-10: a reperfusio 10. perce
 Átlag ± S.D.; $p<0,05$ vs. alap; # $p<0,05$ vs. Kontroll

4.2. Kísérletes tanulmány

4.2.1. Haematologiai paraméterek változásai

A haematologiai paramétereket a IX. táblázat mutatja. 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).

IX. táblázat: Haematologiai paraméterek változásai

Paraméter	Csoport	Alap	Reperfusio	1 p.o. hét
Fvs [G/L]	Kontroll	$9,36 \pm 1,85$	$8,62 \pm 2,35$	$10,4 \pm 3,59$
	I/R	$8,05 \pm 1,23$	$10,77 \pm 4,23$ *	$10,17 \pm 4,47$
	PreC	$7,08 \pm 1,11$	$10,67 \pm 2,53$ *	$11,2 \pm 4,15$ *
	PostC	$7,51 \pm 1,57$	$8,77 \pm 3,67$	$10,65 \pm 3,1$ *
Vvs [T/L]	Kontroll	$7,78 \pm 0,47$	$7,49 \pm 0,41$	$7,44 \pm 0,37$
	I/R	$8,38 \pm 0,64$	$7,69 \pm 0,71$ *	$7,09 \pm 0,28$ *
	PreC	$8,35 \pm 0,39$	$7,65 \pm 0,56$ *	$6,93 \pm 1,37$ *
	PostC	$8,18 \pm 0,73$	$7,69 \pm 0,77$	$7,09 \pm 0,43$ *
Hgb [g/dL]	Kontroll	$15,23 \pm 0,74$	$14,89 \pm 0,67$	$14,52 \pm 0,83$ *
	I/R	$15,61 \pm 0,82$	$14,75 \pm 0,76$ *	$13,41 \pm 0,51$ *
	PreC	$15,18 \pm 0,41$	$14,14 \pm 0,79$ *	$12,84 \pm 2,56$ *
	PostC	$15,16 \pm 0,68$	$14,25 \pm 0,84$ *	$13,25 \pm 0,78$ * #
Htc [%]	Kontroll	$46,68 \pm 2,45$	$45,23 \pm 2,43$	$43,6 \pm 2,07$ *
	I/R	$47,4 \pm 3,07$	$44,6 \pm 3,49$	$40,39 \pm 1,31$ * #
	PreC	$46,7 \pm 1,41$	$43,81 \pm 2,99$	$38,96 \pm 7,56$ *
	PostC	$45,93 \pm 2,87$	$44,13 \pm 3,16$	$40,21 \pm 2,09$ * #
Thr [G/L]	Kontroll	$741,2 \pm 62,1$	$626,8 \pm 99,5$ *	$833,6 \pm 40,9$ *
	I/R	$810,1 \pm 72,9$	$747,6 \pm 80,5$ * #	$958,5 \pm 100,1$ *
	PreC	$726,3 \pm 82,7$	$638,3 \pm 63$ *	$873,1 \pm 315,4$ *
	PostC	$712,6 \pm 67,2$	$625,7 \pm 57,2$ *	$1000 \pm 44,5$ * #

Kontroll: kontrol, I/R: ischaemia-reperfusió, PreC: prekondicionált, PostC: posztkondicionált csoportok;

Fvs: fehérvérsejtszám; Vvs: vörösvérsejtszám; Hgb: haemoglobin koncentráció;

Htc: haematocrit; Thr: vérlemezkeszám

Átlag $\pm$ S.D.; * $p < 0,05$ vs. alap; # $p < 0,05$ vs. Kontroll csoport

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 Kontroll csoporthoz képest ($p<0,001$).

A thrombocytaszám a 120 perces ischaemia után alacsonyabb értékeket mutatott az alapértékekhez képest (Kontroll: $p<0,001$, I/R: $p=0,041$, PreC: $p=0,002$, PostC: $p=0,001$), és az első p.o. héten emelkedett (Kontroll: $p<0,001$, I/R: $p<0,001$, PreC: $p=0,032$, PostC: $p<0,001$). Az I/R csoport értékei magasabbak voltak, mint a Kontroll 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. Kontroll).

4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás változása

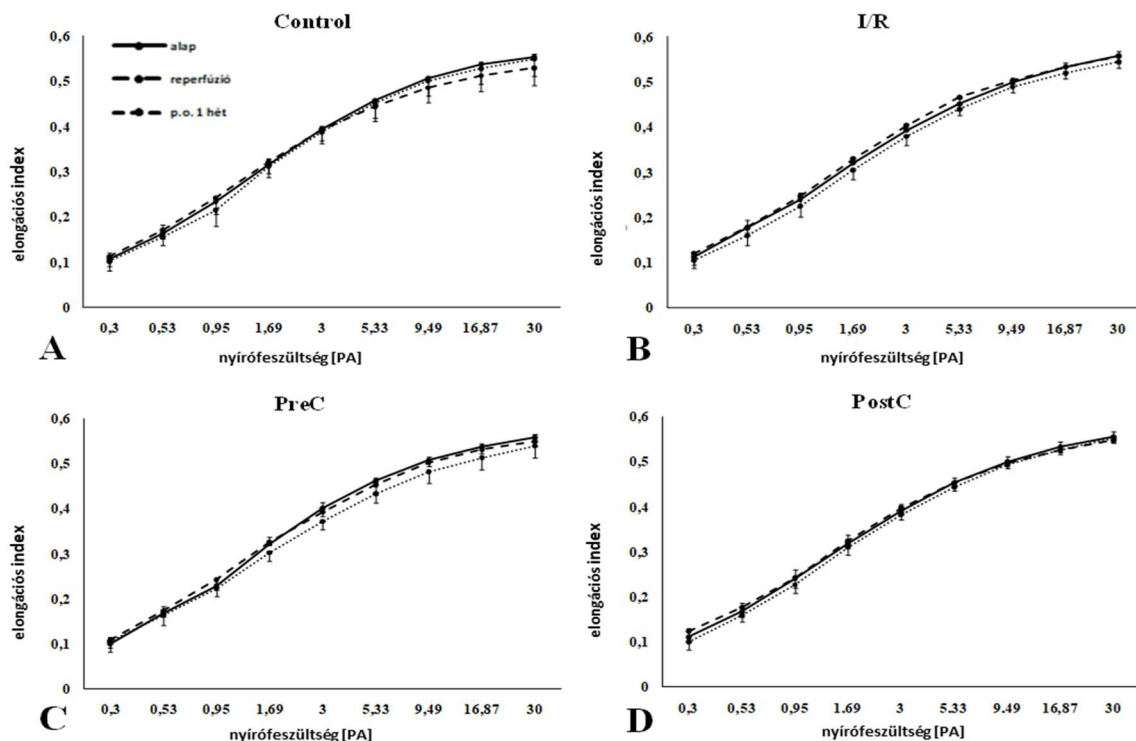
Az elongációs index (EI) – nyírófeszültség (SS) görbéit a 15. ábra mutatja, az összehasonlító adatokat a X. táblázat foglalja össze.

Az EI értékek alacsonyabbak voltak egy héttel a műtét után az I/R csoportban, és kifejezettebben a PreC csoportban (15.B és 15.C ábra), 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 (11. ábra). Az EI csökkenés mértéke a műtét után egy héttel szignifikáns volt a post-ischaemiás relatív értékekhez képest (Kontroll: $p=0,012$, 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 (15. és 16. ábra).

X. táblázat: A vörösvérsejt deformabilitás változásai

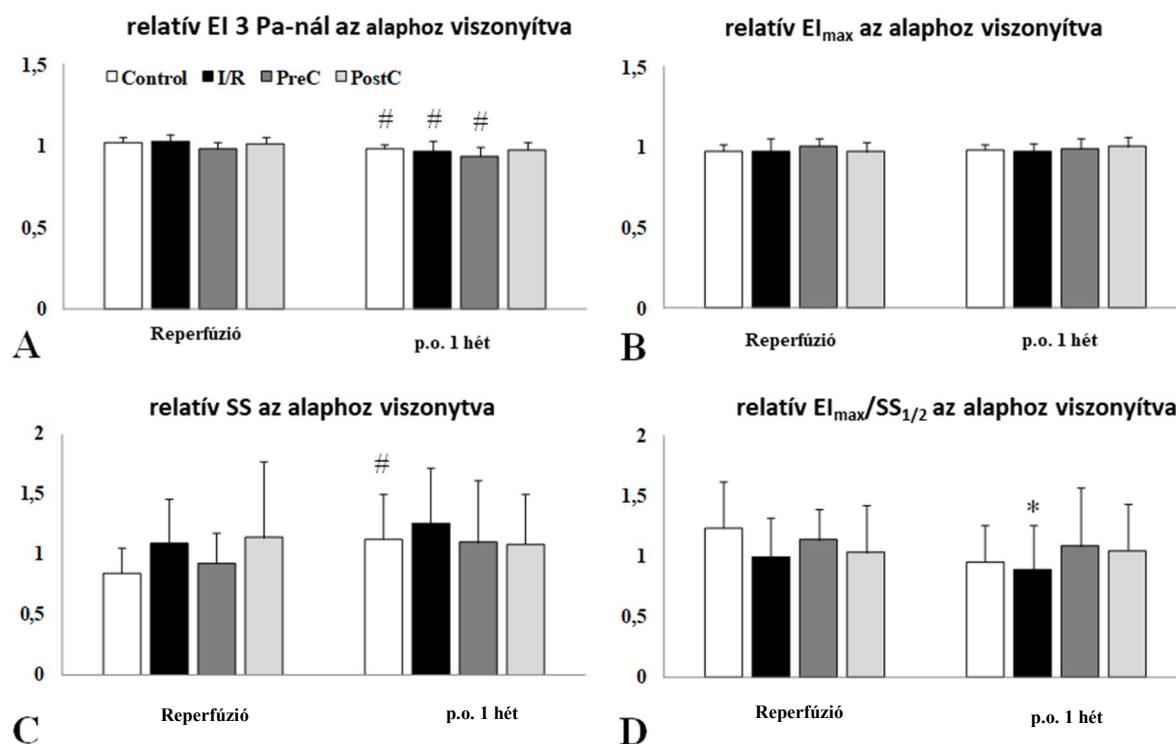
Paraméter	Csoport	Alap	Reperfusio	1 p.o. hét
EI 3 Pa	Kontroll	0,393 ± 0,007	0,392 ± 0,024	0,387 ± 0,01
	I/R	0,392 ± 0,013	0,402 ± 0,009	0,378 ± 0,02*
	PreC	0,400 ± 0,012	0,392 ± 0,012	0,371 ± 0,018
	PostC	0,391 ± 0,013	0,397 ± 0,01	0,382 ± 0,012
EI_{max}	Kontroll	0,582 ± 0,015	0,553 ± 0,049	0,571 ± 0,017
	I/R	0,601 ± 0,02	0,587 ± 0,022	0,581 ± 0,032
	PreC	0,585 ± 0,019	0,589 ± 0,024	0,588 ± 0,046
	PostC	0,595 ± 0,028	0,576 ± 0,023	0,593 ± 0,022
SS_{1/2} [Pa]	Kontroll	1,44 ± 0,25	1,2 ± 0,42	1,53 ± 0,3
	I/R	1,23 ± 0,33	1,26 ± 0,25	1,45 ± 0,27
	PreC	1,36 ± 0,25	1,21 ± 0,23	1,33 ± 0,52
	PostC	1,28 ± 0,46	1,32 ± 0,36	1,34 ± 0,25
EI_{max}/SS_{1/2} [Pa⁻¹]	Kontroll	0,419 ± 0,092	0,52 ± 0,19	0,387 ± 0,087
	I/R	0,524 ± 0,156	0,488 ± 0,136	0,418 ± 0,112
	PreC	0,454 ± 0,143	0,499 ± 0,096	0,553 ± 0,365
	PostC	0,487 ± 0,223	0,473 ± 0,165	0,458 ± 0,103

Kontroll, I/R: ischaemia-reperfúziós, PreC: prekondicionált, PostC: poszt kondicionált csoportok;
 EI: elongációs index; EI_{max}: maximális EI; SS_{1/2}: EI_{max} feléhez tartozó nyírófeszültség;
 Átlag ± S.D.; * p < 0,05 vs. alap



15. ábra: A vörösvérsejtek deformabilitásának változásai

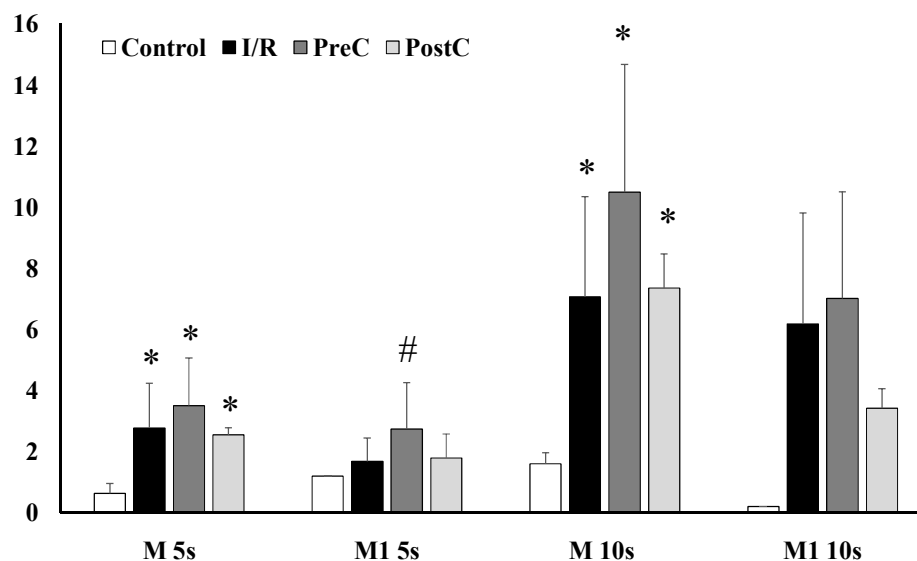
A: Kontroll; B: ischaemia-reperfúziós (I/R); C: prekondicionált (PreC) és D: poszt kondicionált (PostC) csoportok
 Átlag ± S.D



16. ábra: A vörösvérsejtek deformabilitást leíró paraméterek relatív változásai
A: 3 Pa-nál mért elongációs index (EI); **B:** maximális elongációs index (EI_{max});
C: EI_{max} feléhez tartozó nyírófeszültség (SS_{1/2}); **D:** az EI_{max} és SS_{1/2} hányadosának változásai,
 Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. alap; #p<0,05 vs. reperfusio

4.2.3. Vörösvérsejt aggregatio változása

Fokozott vörösvérsejt aggregatiót 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. Kontroll) valamint az M 10s (p<0,001 vs. alap mindkettőnél) és az M1 10s értékeknél (p<0,001 vs. alap mindkettőnél) (17. ábra).



17. ábra: M 5s, M1 5s, M 10s, M1 10s aggregációs index értékek változásai az 1. posztoperatív héten
Kontroll, ischaemia-reperfúziós (I/R), prekondicionált (PreC) és poszt preconditionált (PostC) csoportok
Átlag $\pm$ S.D.; * $p < 0,05$ vs. alap; # $p < 0,05$ vs. I/R

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

A XI. táblázat a véggáz-, pH-, elektrolit- és metabolikus paraméterek változásait mutatja be. 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 (Kontroll: $p=0,01$, 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 Kontrollhoz képest ($p=0,007$ és $p=0,004$). A glükóz koncentráció növekedését figyeltük meg minden ischaemia-reperfúziós csoportban. Az emelkedés szignifikáns volt a PostC csoportban ($p=0,002$ vs. alap, $p=0,039$ vs. Kontroll). 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 Kontroll csoporthoz 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 Kontrollhoz képest. A kreatinin koncentráció csak a PreC ($p=0,002$ vs. alap) és PostC ($p=0,017$ vs. alap, $p=0,008$ vs. Kontroll, $p=0,038$ vs. I/R) csoportban nőtt szignifikánsan közvetlenül a reperfusio után.

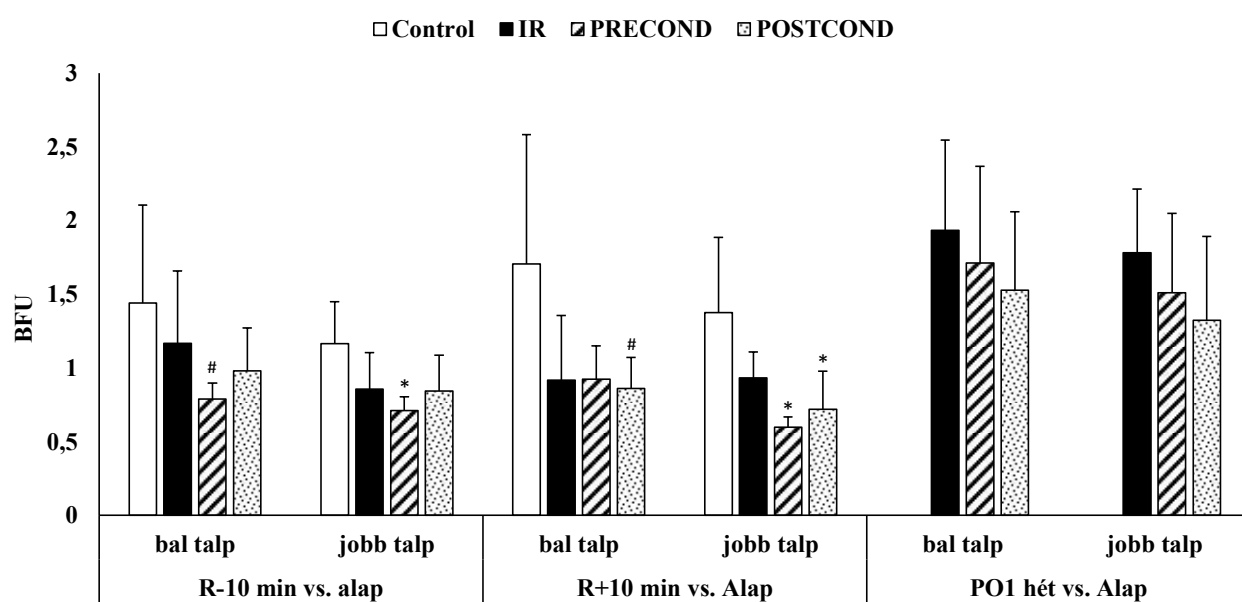
XI. táblázat: Vérgáz (pO₂, pCO₂), pH, elektrolit (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻) és metabolit (glükóz, laktát, kreatinin) értékek változásai

Paraméter	Csoport	Alap	Reperfusio	1 p.o. hét
pO ₂ [Hgmm]	Kontroll	68,87 ± 13,26	65,73 ± 11,05	55,2 ± 6,93
	I/R	60,14 ± 6,61	61,37 ± 8,49	55,06 ± 9,22
	PreC	65,05 ± 5,75	69,47 ± 15,27	51,78 ± 11,8
	PostC	59,65 ± 9,27	68,08 ± 6,57	57,1 ± 16,21
pCO ₂ [Hgmm]	Kontroll	41,3 ± 9,04	43,55 ± 5,54	52,62 ± 11,23
	I/R	50,45 ± 6,57	49,94 ± 17,77	49,4 ± 4,72
	PreC	47,64 ± 6,78	48,01 ± 11,17	42,42 ± 4,95
	PostC	47,78 ± 6,62	47,68 ± 12,2	45,12 ± 5,86
pH	Kontroll	7,41 ± 0,03	7,37 ± 0,03	7,36 ± 0,06
	I/R	7,36 ± 0,04	7,33 ± 0,11	7,38 ± 0,04
	PreC	7,38 ± 0,07	7,31 ± 0,07	7,41 ± 0,04
	PostC	7,35 ± 0,03	7,32 ± 0,08	7,39 ± 0,02
Na ⁺ [mmol/L]	Kontroll	142,12 ± 3,35	141,83 ± 2,13	143,6 ± 2,61
	I/R	141 ± 2,31	140,28 ± 5,4	142 ± 2,34
	PreC	142,28 ± 2,69	140,28 ± 4,46	141,71 ± 2,56
	PostC	142,42 ± 3,2	140,14 ± 2,47	143,85 ± 2,41
K ⁺ [mmol/L]	Kontroll	4,72 ± 0,32	5,45 ± 0,56 *	4,82 ± 0,29
	I/R	4,32 ± 0,28	5,92 ± 0,57 *	4,04 ± 0,38 #
	PreC	4,25 ± 0,25	5,58 ± 0,86 *	4,61 ± 0,5
	PostC	4,24 ± 0,25	6,05 ± 0,62 *	4,17 ± 0,29 #
Ca ²⁺ [mmol/L]	Kontroll	1,36 ± 0,04	1,38 ± 0,11	1,28 ± 0,19
	I/R	1,35 ± 0,04	1,39 ± 0,04	1,23 ± 0,31
	PreC	1,34 ± 0,06	1,39 ± 0,06	1,27 ± 0,17
	PostC	1,39 ± 0,05	1,39 ± 0,03	1,32 ± 0,09
Cl ⁻ [mmol/L]	Kontroll	104,25 ± 1,67	108,16 ± 3,18	104,6 ± 1,34
	I/R	103,14 ± 2,11	105,85 ± 2,19	102,6 ± 1,67
	PreC	103,14 ± 2,03	104,85 ± 2,79	104 ± 1,52
	PostC	104 ± 2,31	106,28 ± 1,6	103,85 ± 2,19
glükóz [mmol/L]	Kontroll	19,62 ± 3,54	17,11 ± 3,47	17,94 ± 3,08
	I/R	17,98 ± 2,09	19,6 ± 4,27	12,34 ± 2,21 *#
	PreC	17,22 ± 2,19	22,48 ± 7,61	11,8 ± 2,61 *#
	PostC	16,5 ± 1,09	22,64 ± 4,77 *#	13,12 ± 2,45 *#
laktát [mmol/L]	Kontroll	1,171 ± 0,34	1,52 ± 0,61	1,02 ± 0,32
	I/R	1,61 ± 0,73	1,36 ± 0,34	2,31 ± 0,91 #
	PreC	1,78 ± 0,87	1,72 ± 0,85	3,11 ± 1,89 #
	PostC	1,82 ± 0,99	1,28 ± 0,31	3,39 ± 2,2 #
kreatinin [μmol/L]	Kontroll	31 ± 4,37	43,83 ± 10	36,2 ± 3,89
	I/R	35,33 ± 5,68	47,85 ± 8,47	37,2 ± 5,26
	PreC	32,42 ± 3,59	68,42 ± 31,28 *	52,85 ± 25,51
	PostC	43,85 ± 8,45	83 ± 43,77 *#+	35,71 ± 6,15

Kontroll, ischaemia-reperfúziós (I/R), prekondicionált (PreC), poszt preconditionált (PostC) csoportok
 Átlag ± S.D.; * p<0,05 vs. alap; # p<0,05 vs. Kontroll; + p<0,05 vs. I/R

4.2.5. Szöveti microcirculatio változásai

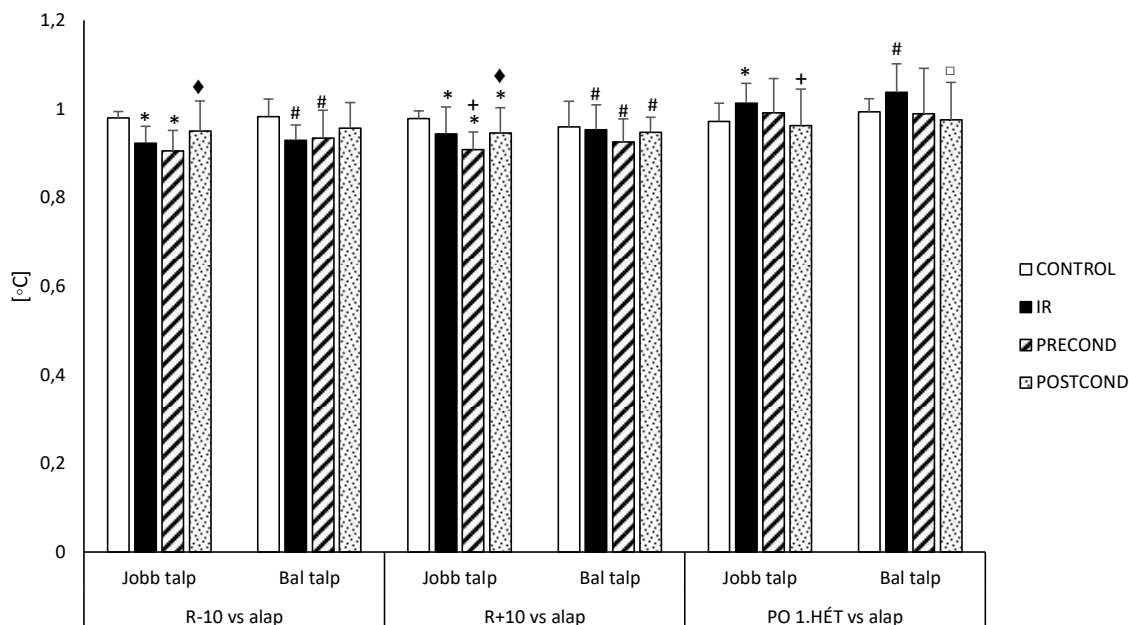
Az ischaemiás csoportokban jelentősen csökkent a keringés a jobb hátsó végtagon az ischaemia végére, valamint a reperfusio kezdetén is alacsonyabbak maradtak az értékek. A csökkenés legkifejezettebben a PreC csoportban volt megfigyelhető. Mivel nulla BFU értéket sehol sem regisztráltunk a leszorított jobb hátsó végtagon, kijelenthető, hogy teljes ischaemia nem alakult ki, feltehetően a kollaterális keringés megléte miatt (19. ábra).



19. ábra: A szöveti microcirculatio relatív változásai
 $p < 0,05$ vs. Kontroll alap jobb; # $p < 0,05$ vs. Kontroll alap bal

4.2.6. Talphőmérséklet változásai

A talphőmérséklet relatív értékeinek változását vizsgálva azt állapítottuk meg, hogy az ischaemiás csoportokban az értékek a Kontroll 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 (20. ábra).

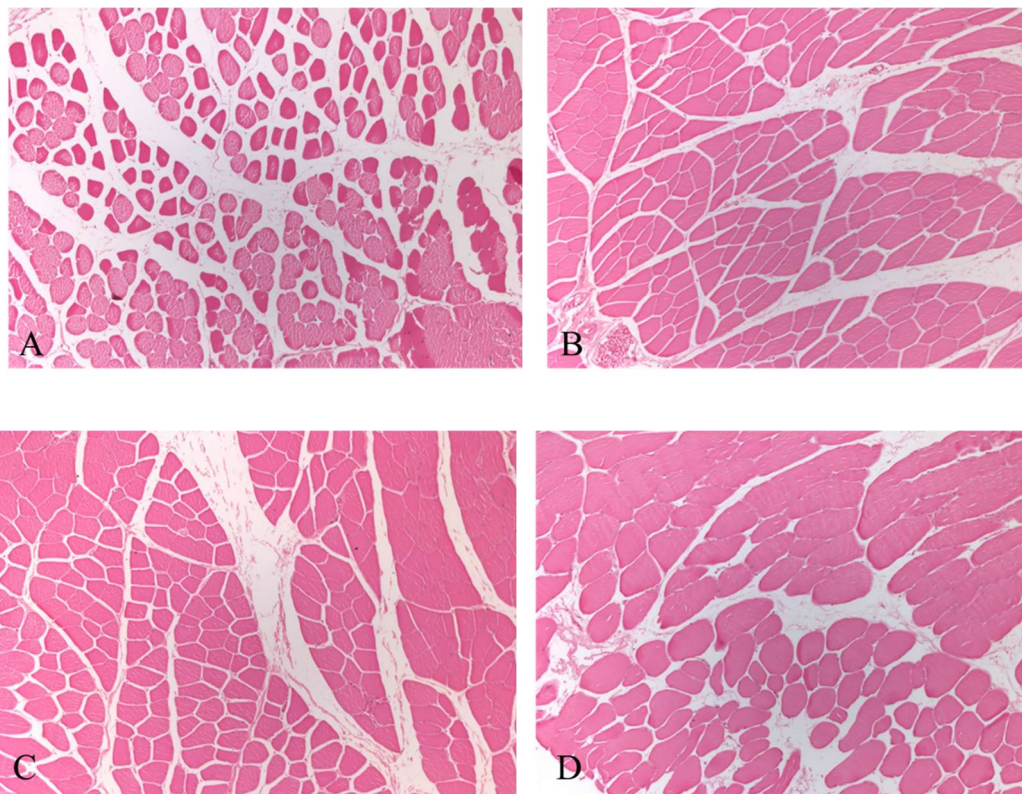


20. ábra: A talphőmérséklet relatív változásai

*p < 0,05 vs. Kontroll alap jobb; # p < 0,05 vs. Kontroll alap bal; + p < 0,05 vs. I/R alap jobb;
 □ p < 0,05 vs. I/R alap bal; ♦ p < 0,05 vs. PreC alap jobb

4.2.7. Szöveti vizsgálat eredményei

Fénymikroszkóppal egyik csoportban sem észleltünk ischaemiának tulajdonítható szövettani eltérést (18. ábra). A posztoperatív mintákban az izomrostok megtartott striációját, 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 gyulladásos 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.



18. ábra: A vázizom biopsziák reprezentatív szövettani metszetei
 A: Kontroll, B: ischaemia-reperfüsió, C: prekondicionált, D: poszt preconditionált csoportok
 Festés: H&E; eredeti nagyítás: 50X

5. MEGBESZÉLÉS

Az erek átmeneti leszorítását a sebészet számos területén alkalmazzák, így különböző ortopédiai, rekonstrukciós vagy érsebészeti eljárások során, mint a végtagok revascularisatiója, replantáció, szabadlebeny-transzfer vagy vértelenségben végzett elektív műtétek. A beavatkozások alatt a vázizmok hosszantartó ischaemiának lehetnek kitéve és a későbbi reperfusio súlyos szövődményeket 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-reperfusiós 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 (Murry és mtsai, 1986; Przyklenk és mtsai, 1993; Zhao és mtsai, 2003; Park és mtsai, 2010; Zhang és mtsai, 2012; Pasupathy és mtsai, 2014; Ulus és mtsai, 2014), 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 műteti időt, ami az idős, rosszabb fizikai állapotban lévő, esetleg egyszerre több, az altatást befolyásoló rizikófaktorral rendelkező betegek esetében a műteti kockázatot is növeli. Azt is számításba kell venni, hogy invazív technikák lévén nem mentesek a szövődményektől. 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-reperfusiós károsodásának szakirodalma meglehetősen kiterjedt, nagyon kevés adat áll rendelkezésre többek közt a micro-rheológiai paraméterek változásairól mind a végtagok ischaemia-reperfusiós 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 (Naito és mtsai, 2020).

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 (Bellomo és mtsai, 2013). 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 (Lee és mtsai, 1996; Schoen és mtsai, 2007; Kocman és mtsai, 2015). 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 (2018) 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 génexpresszió szintjén is, a korai válasz védőmechanizmusok beindításával (Murphy és mtsai, 2010).

Klinikai vizsgálatunkban súlyos fokú arthrosis miatt végzett elektív térdműtét kapcsán, a beavatkozáshoz szükséges vértelenség következtében fellépő ischaemia-reperfúzió 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 Kontroll 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 Kontroll 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 Kontroll 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-reperfüzióval kapcsolatos állatkísérletes tanulmányainkban (Németh és mtsai, 2004, 2006, 2012), 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 (Kayar és mtsai, 2001; Németh és mtsai, 2004, 2006, 2012, 2018). Mindegyik módszernek vannak korlátai. Mivel patkányoknál kifejezetten jelentős a glutealis régióból eredő kollaterális keringés (Rosero és mtsai, 2014), 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 (Malek és mtsai, 2009; Zhao és mtsai, 2012; Duehrkop és mtsai, 2014; Ekinci és mtsai, 2016).

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 (Murry és mtsai, 1986; Pasupathy és mtsai, 2005; McAllister és mtsai, 2008; Kocman és mtsai, 2012; Németh és mtsai, 2021).

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

A vörösvérsejtek deformabilitása és aggregációja számos patofiziológiai állapotban, többek között ischaemia-reperfúziós károsodás esetén jelentős változásokat mutat. Ezek főként a szabadgyök-reakcióknak, a metabolikus változásoknak és az akut fázis reakcióknak tulajdoníthatók (Johnson, 1985; Koppensteiner, 1996; Reinhart és mtsai, 2002; Uyuklu és mtsai, 2009). 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 (Cicha és mtsai, 2003; Németh és mtsai, 2021). Az akut fázis reakciók a leukocytaszám emelkedésében, a thrombocyta szám emelkedésében vagy csökkenésében, haemokoncentrációban és következményes micro-rheológiai változásokban nyilvánulhatnak meg (McAllister és mtsai, 2008). A vörösvérsejtek csökkent deformálhatósága és fokozott aggregációja növeli a vér viszkozitását, növeli a vaszkuláris rezisztenciát és a mikrokeringés szintjén perfúziós problémákat okozhat (Baskurt, 2008).

Kísérleteink során azt találtuk, hogy a haemoglobin és a haematocrit jelentősen csökkent a reperfúziót követően, illetve egy héttel a műtét után, valamennyi ischaemiás csoportban. Ezzel párhuzamosan a thrombocyta szám szignifikáns emelkedését tapasztaltuk. Mindezek az ischaemia-reperfúzió által kiváltott gyulladásos 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 gyulladásos 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 gyulladásos folyamatok beindulásának tulajdoníthatók.

Hasonlóan más szervek (Magyar és mtsai, 2018; Varga és mtsai, 2019) illetve a végtagok (Németh és mtsai, 2004, 2006, 2012) ischaemia-reperfúziós modelljeiben végzett korábbi vizsgálatainkhoz, a micro-rheológiai 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 gyulladásos folyamatok miatt. Érdekes

módon a legjelentősebb növekedést a PreC csoportban tapasztaltuk. Az anyagcsere-változások befolyásolják a vörösvérsejtek morfológiai és mechanikai tulajdonságait, ami a vörösvérsejtek deformabilitásának romlásához és az aggregatio zavarához vezethet (Németh és mtsai, 2021). A deoxigenizált vörösvérsejtek deformálhatósága csökken és aggregatiója fokozódik (Uyuklu és mtsai, 2009), míg a hypoxia a sejtek duzzadásához vezet, ami megváltoztatja a sejtek felület/térfogat arányát, és így a deformálhatóságot is (Cicha és mtsai, 2003). 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 Kontrollhoz 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-rheológiai 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-rheológiai 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 aggregatiójának milyen mértékű romlása vezet perfúziós problémákhoz (Lipowsky, 2005; Baskurt, 2008).

Az izomsejtek ischaemia-reperfúziós károsodásra jellemző szövettani elváltozásai közül, mint a sejtek duzzadása, kariopiknózis, kariorrexis, a harántcsíkolat elvesztése, a sejtek széttöredezése, valamint gyulladásos sejtek megjelenése, kutatásunkban egyiket sem tapasztaltuk egyik csoportban sem. Bár a 120 perces, tourniquet-vel történő leszorítás és az azt követő reperfusio 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 reperfusio követte, akkor is csak az I/R károsodás enyhe jelei voltak megfigyelhetők (Sziártó és mtsai, 2010).

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: $77,3 \pm 19,2$ %; PreC: $71,1 \pm 9,4$ %; PostC: $71 \pm 11,3$ % vs. Kontroll). A kondicionált csoportok esetében sem volt lényeges eltérés. A megfelelő erősségű leszorítás lényeges a teljes ischaemia előidézése szempontjából, de a túl erős kompresszió direkt szöveti károsodást okozhat, amit el szerettünk volna kerülni. Ez a kutatás egyik limitációjának tekinthető. A kollaterálisokat tekintetbe véve az alsó régióban található izmok (plantaris 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 (Kocman és mtsai, 2015). Különböző enzimaktivitásokat, apoptosist 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 poszt-kondicionálás tekintetében sem egyértelmű a protektív hatás. Egyes tanulmányok kimutatták védőhatását (Park és mtsai, 2010; Schmucker és mtsai, 2017), mások nem tapasztaltak érzékelhető változást (Lintz és mtsai, 2013, 2017), sőt akár a károsodás fokozódását is leírták (Schoen és mtsai, 2007).

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 (Németh és mtsai, 2018).

6. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A klinikai vizsgálat során a következő megállapításokra jutottunk:

1. Kimutattuk, hogy a vértelenséget előidéző tourniquet-val együtt járó 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 másiknál.

A kísérletes tanulmány során a következő összefüggéseket állapítottuk meg:

1. A két órás tourniquet-indukált hátsó végtagi ischaemia és az azt követő reperfusio kapcsán a haemoglobin és a haematokrit 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 poszt-kondicionálás különböző módokon additív változásokat eredményezett. Bár a poszt-kondicionálás hatása a micro-rheologiai paraméterekre kedvezőbb volt, nem dönthető el egyértelműen, hogy melyik kondicionálási protokoll a jobb.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A végtagok ischaemia-reperfusió károsodásának megelőzése/mérséklése nagy klinikai jelentőséggel bír. Munkánk során klinikai és kísérletes modellben vizsgáltuk alsó végtagi ischaemia hatását, nem-szteroid gyulladáscsökkentő (NSAID), valamint pre- és poszt kondicionálás hatását különböző laboratóriumi értékekre, különös tekintettel a micro-rheologiai tényezőkre, továbbá egyéb paraméterekre.

A klinikai vizsgálatban 17 elektív térdműtéten átesett beteget vizsgáltunk (DEOEC RKEB/IKEB 3848-2013), közülük öten Na-diclofenak-ot kaptak i.v. 5-10 perccel a reperfusio kezdete előtt és 6 órával utána (NSAID csoport). Öt betegnél 3x15 perces prekondicionálás történt egy nappal a műtét előtt (PreC csoport) a felkaron alkalmazott mandzsettával. Hét betegnél nem történt ilyen kezelés (kontroll csoport). Vértétel történt a v. femoralisból az ischaemia előtt, a reperfusio 5. és 10. percében, az 1. és 2. posztoperatív (p.o.) napon. A kísérletes modellben (25/2016, DEMÁB) patkányokon 120 percre leszorítottuk a jobb hátsó végtagot (I/R csoport, n=7), A PreC csoportban a tartós ischaemia előtt (n=8), a PostC csoportban (n=7) utána 3x10 perces leszorítást végeztünk. A kontroll csoportban (n=8) nem történt beavatkozás. Vértételek a leszorítás előtt, a reperfusio kezdetén és a 7. p.o. napon történtek.

A klinikai vizsgálatban a RBC deformabilitást jellemző elongációs index (EI) értékek nem változtak szignifikánsan, bár a PreC csoport értékei végig magasabbak voltak. A kontroll csoportban a maximális EI értékek (EI_{max}) mérsékelt csökkenése volt megfigyelhető, a fél EI_{max} -hoz tartozó nyírófeszültség értékek folyamatosan emelkedtek és szignifikánsan magasabbak voltak a 2. p.o. napon. Az NSAID és a PreC csoportokban nem tapasztaltunk hasonló változást. A RBC aggregációs index értékek mérsékelt csökkenést mutattak az NSAID és a PreC csoportokban, ami szignifikáns volt az 1. és 2. p.o. napon.

A kísérletes modellben az EI értékek szignifikánsan csökkentek az I/R csoportban az alaphoz képest a 7. p.o. napra. A csökkenés mértéke szignifikáns volt a post-ischaemiás relatív értékekhez képest az I/R és a PreC csoportokban. A RBC aggregatio szignifikánsan fokozódott valamennyi ischaemiás csoportban egy héttel a műtét után.

A végtagi ischaemia és reperfusio jelentős változásokat okozott a micro-rheologiai paraméterekben. A klinikai eseteknél az NSAID és a prekondicionálás is kedvezően befolyásolta ezen paramétereket, a kísérletes modellben a poszt kondicionálás volt kedvezőbb hatású a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio vonatkozásában, de ennek alapján nem dönthető el, hogy melyik hatása kedvezőbb.

SUMMARY

The prevention/reduction of ischaemia-reperfusion injury of the limb is of great clinical importance. Our work investigated the effects of lower limb ischemia, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), and pre- and postconditioning on various laboratory values, with special emphasis on micro-rheological factors and other parameters, in clinical and experimental models.

In the clinical study, 17 patients who underwent elective knee surgery (DEOEC RKEB/IKEB 3848-2013) were studied, five of whom received sodium diclophenac i.v. 5-10 minutes before and 6 hours after the start of reperfusion (NSAID group) on the upper arm. Five patients underwent 3x15 min preconditioning one day before surgery (PreC group), Seven patients had no such treatment (Kontroll group). Blood was drawn from the femoral vein before ischaemia, at 5 and 10 minutes of reperfusion, on postoperative (p.o.) days 1 and 2. In the experimental model (25/2016 DEMAB), rats were subjected to 120 minutes of right hind limb ischemia (I/R group, n=7), surgical conditioning (3x10 min) was performed in the PreC group before (n=8) and in the PostC group (n=7) after the sustained ischemia. No intervention was performed in the Kontroll group (n=8), Blood samples were taken before clamping, at the onset of reperfusion and on p.o. day 7.

In clinical cases, elongation index (EI) values for RBC deformability did not change significantly, although values in the PreC group were higher throughout. In the Kontroll group, a moderate decrease in maximum EI values (EI_{max}) was observed, with shear stress values corresponding to half EI_{max} continuously increasing and being significantly higher on p.o. day 2. No similar changes were observed in the NSAID and PreC groups. RBC aggregation index values showed a moderate decrease in the NSAID and PreC groups, which was significant on p.o. days 1 and 2.

In the experimental model, EI values decreased significantly in the I/R group compared to baseline by p.o. day7. The magnitude of the decrease was significant compared to the post-ischaemia relative values in the I/R and PreC groups, RBC aggregation was significantly increased in all ischemic groups one week after surgery.

Limb ischemia and reperfusion caused significant changes in micro-rheological parameters. In the clinical cases, both NSAID and preconditioning had a beneficial effect on these parameters. In the experimental model postconditioning had a more beneficial effect on red blood cell deformability and aggregation, but on this basis it cannot be decided which effect is more beneficial.

8. IRODALOMJEGYZÉK

8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Allen BS, Buckberg GD, Fontan FM, Kirsh MM, Popoff G, Beyersdorf F. Superiority of Kontrolled surgical reperfusion versus percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute coronary occlusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1993;105:864-84.
2. Barie PS, Mullins RJ. Experimental methods in the pathogenesis of limb ischemia. *J Surg Res.* 1988;44(3):284-307.
3. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost.* 2003;29(5):435-50.
4. Baskurt OK, Meiselman HJ. Analyzing shear stress-elongation index curves: comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2004;31(1):23-30.
5. Baskurt OK. Mechanism of blood rheology alterations. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* eds. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam (The Netherlands), 2007. pp. 170–90.
6. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology* 2008;45:629–38.
7. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Liao F, Hardeman MR, Jung F, Meiselman HJ, Nash G, Németh 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(2):75-97.
8. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Németh 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(7):777-88.
9. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ. Determinants of red blood cell aggregation. In: *Red Blood Cell Aggregation,* eds. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, CRC Press, Boca Raton (USA), 2012. pp. 9–29.
10. Beard JD. ABC of arterial and venous disease: Chronic lower limb ischaemia. *BMJ.* 2000;320(7238):854-7.
11. Bellomo RG, Carmignano SM, Palermo T, Cosenza L, Saggini A, Saggini R. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: Integrated Approach to Physical Medicine and Rehabilitation. In: *Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs,* ed. Ali Gamal Ahmed Al-kaf 2017;ebook ISBN978-953-51-4700-8

12. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovasc Surg.* 2002;10(6):620-30.
13. Bozkurt AK. Alpha-tocopherol (Vitamin E) and iloprost attenuate reperfusion injury in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Cardiovasc Surg.* 2002;43(5):693-6.
14. Brasier AR. The nuclear factor-kappaB-interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation. *Cardiovasc Res.* 2010;86(2):211-8.
15. Bushell AJ, Klenerman L, Taylor S, Davies H, Grierson I, Helliwell TR, Jackson MJ. Ischaemic preconditioning of skeletal muscle. 1. Protection against the structural changes induced by ischaemia/reperfusion injury. *J Bone Joint Surg Br.* 2002;84(8):1184-8.
16. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000;190(3):255-66.
17. Chakraborty RK, Burns B. Systemic Inflammatory Response Syndrome. 2022 May 30. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
18. Cho YI, Cho DJ. Hemorheology and microvascular disorders. *Korean Circ J.* 2011;41(6):287-95.
19. Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N, Maeda N. Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation: pH dependency and cell morphology. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;284(6):H2335-42.
20. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J.* 1999;341(Pt 2):233-49.
21. Davies MG, Juynh TTT, Hagen PO. Endothelial physiology. In *Ischaemia-Reperfusion Injury*. eds. Grace PA, Mathie RT. Blackwell Science, London (UK), 1999. pp. 157-179.
22. de Groot H, Rauwen U. Ischemia-reperfusion injury: Processes in pathogenetic networks: A Review. *Transpl Proc.* 2007; 39: 481-4.
23. Deng LH, Barbenel JC, Lowe GD. Influence of hematocrit on erythrocyte aggregation kinetics for suspensions of red blood cells in autologous plasma. *Biorheology.* 1994;31(2):193-205.
24. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000;118(2):503-8.
25. Duehrkop C, Rieben R. Refinement of tourniquet-induced peripheral ischemia/reperfusion injury in rats: comparison of 2 h vs 24 h reperfusion. *Lab Anim.* 2014;48(2):143-54.

26. Dugan LL, Choi DW. Free Radicals in Hypoxia-Ischemia. In: Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects. eds. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Lippincott-Raven, Philadelphia (USA), 1999.
27. Ebrahimi S, Bagchi P. A computational study of red blood cell deformability effect on hemodynamic alteration in capillary vessel networks. *Sci Rep.* 2022;12(1):4304.
28. Eckert P, Schnackerz K. Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann Plast Surg.* 1991;26(1):77-84.
29. Ekinçi Akdemir FN, Gülçin I, Karagöz B, Soslu R, Alwasel SH. A comparative study on the antioxidant effects of hesperidin and ellagic acid against skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016;31(Suppl.4):114-8.
30. Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion--from mechanism to translation. *Nat Med.* 2011;17(11):1391-401.
31. Ercan M, Koksall C. The relationship between shear rate and vessel diameter. *Anesth Analg.* 2003;96(1):307-8.
32. Estebe JP, Davies JM, Richebe P. The pneumatic tourniquet: mechanical, ischaemia-reperfusion and systemic effects. *Eur J Anaesthesiol.* 2011;28(6):404-11.
33. Fåhræus R, Lindqvist T. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol.* 1931;96:562-8.
34. Flormann D, Aouane O, Kaestner L, Ruloff C, Misbah C, Podgorski T, Wagner C. The buckling instability of aggregating red blood cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):7928.
35. Gillani S, Cao J, Suzuki T, Hak DJ. The effect of ischemia reperfusion injury on skeletal muscle. *Injury.* 2012;43(6):670-5.
36. Gori T, Lisi M, Forconi S. Ischemia and reperfusion: the endothelial perspective. A radical view. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006;35(1-2):31-4.
37. Guo J, Yin Y, Jin L, Zhang R, Hou Z, Zhang Y. Acute compartment syndrome: Cause, diagnosis, and new viewpoint. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(27):e16260.
38. Hardeman M, Goedhart P, Shin S. Methods in hemorheology. In *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, eds. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam (The Netherlands), 2007. pp. 242–66.
39. Harris K, Walker PM, Mickle DA, Harding R, Gatley R, Wilson GJ, Kuzon B, McKee N, Romaschin AD. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol.* 1986;250(2 Pt 2):H213-20.
40. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, Hiratzka LF, Murphy WR, Olin JW, Puschett JB, Rosenfield KA, Sacks D, Stanley JC, Taylor LM Jr,

- White CJ, White J, White RA, Antman EM, Smith SC Jr, Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Gibbons RJ, Hunt SA, Jacobs AK, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B; Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report. *Circulation*. 2006;113(11):e463-654.
41. Horlocker TT, Hebl JR, Gali B, Jankowski CJ, Burkle CM, Berry DJ, Zepeda FA, Stevens SR, Schroeder DR. Anesthetic, patient, and surgical risk factors for neurologic complications after prolonged total tourniquet time during total knee arthroplasty. *Anesth Analg*. 2006;102(3):950–5.
 42. Johnson RM. pH effects on red cell deformability. *Blood Cells*. 1985;11(2):317-21.
 43. Kabaroudis A, Gerassimidis T, Karamanos D, Papaziogas B, Antonopoulos V, Sakantamis A. Metabolic alterations of skeletal muscle tissue after prolonged acute ischemia and reperfusion. *J Invest Surg*. 2003;16(4):219-28.
 44. Kale IT, Kuzu MA, Berkem H, Berkem R, Acar N. The presence of hemorrhagic shock increases the rate of bacterial translocation in blunt abdominal trauma. *J Trauma*. 1998;44(1):171-4.
 45. Kayar E, Mat F, Meiselman HJ, Baskurt OK. Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology*. 2001;38(5-6):405-14.
 46. Kelly RA, Smith TW. Cytokines and cardiac contractile function. *Circulation*. 1997;95(4):778-81.
 47. Kim J, Lee HY, Shin S. Advances in the Measurement of Red Blood Cell Deformability: A Brief Review. *J Cell Biotechn*. 2015;1:63-79.
 48. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res*. 2004;62(1):74-85.
 49. Kin H, Zatta AJ, Lofye MT, Amerson BS, Halkos ME, Kerendi F, Zhao ZQ, Guyton RA, Headrick JP, Vinten-Johansen J. Postconditioning reduces infarct size via adenosine receptor activation by endogenous adenosine. *Cardiovasc Res*. 2005;67(1):124-33.
 50. Kocman EA, Ozatik O, Sahin A, Guney T, Kose AA, Dag I, Alatas O, Cetin C. Effects of ischemic preconditioning protocols on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*. 2015;193(2):942-52.

51. Koppensteiner R. Blood rheology in emergency medicine. *Semin Thromb Hemost.* 1996;22(1):89-91.
52. Kunkel SL, Strieter RM. Cytokine networking in lung inflammation. *Hosp Pract (Off Ed).* 1990;25(10):63-6, 69, 73-6.
53. Kuzon WM Jr, Walker PM, Mickle DA, Harris KA, Pynn BR, McKee NH. An isolated skeletal muscle model suitable for acute ischemia studies. *J Surg Res.* 1986;41(1):24-32.
54. Lee HT, Lineaweaver WC. Protection against ischemic-reperfusion injury of skeletal muscle: role of ischemic preconditioning and adenosine pretreatment. *J Reconstr Microsurg.* 1996;12(6):383-8.
55. Leurcharusmee P, Sawaddiruk P, Punjasawadwong Y, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The possible pathophysiological outcomes and mechanisms of tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury during total knee arthroplasty. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;8087598.
56. Lintz JA, Dalio MB, Joviliano EE, Piccinato CE. Ischemic pre and postconditioning in skeletal muscle injury produced by ischemia and reperfusion in rats. *Acta Cir Bras.* 2013;28(6):441-6.
57. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation.* 2005;12(1):5-15.
58. Magyar Z, Mester A, Nadubinszky G, Varga G, Ghanem S, Somogyi V, Tanczos B, Deak A, Bidiga L, Oltean M, Peto K, Németh N. Beneficial effects of remote organ ischemic preconditioning on micro-rheological parameters during liver ischemia-reperfusion in the rat. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;70(2):181-90.
59. Malek HA, Saleh DM. Cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib in a rat model of hindlimb ischemia reperfusion. *Can J Physiol Pharmacol.* 2009;87(5):353-9.
60. Malinoski DJ, Slater MS, Mullins RJ. Crush injury and rhabdomyolysis. *Crit Care Clin.* 2004;20(1):171-92.
61. Marian CF, Jiga LP, Ionac M. Ischemic preconditioning of free muscle flaps: an experimental study. *Microsurgery.* 2005;25(7):524-31.
62. Marshall JC. The multiple organ dysfunction syndrome. In: *Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem-Oriented.* eds. Holzheimer RG, Mannick JA, Zuckschwerdt, Munich (Germany), 2001.
63. Matsen FA 3rd, Winkquist RA, Krugmire RB Jr. Diagnosis and management of compartmental syndromes. *J Bone Joint Surg Am.* 1980;62(2):286-91.

64. McAllister SE, Ashrafpour H, Cahoon N, Huang N, Moses MA, Neligan PC, Forrest CR, Lipa JE, Pang CY. Postconditioning for salvage of ischemic skeletal muscle from reperfusion injury: efficacy and mechanism. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2008;295(2):R681-9.
65. McMahon TJ. Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion. *Front Physiol*. 2019;10:1417.
66. Menger MD, Steiner D, Messmer K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of "no reflow". *Am J Physiol*. 1992;263(6 Pt 2):H1892-1900.
67. Menger MD, Rücker M, Vollmar B. Capillary dysfunction in striated muscle ischemia/reperfusion: on the mechanisms of capillary "no-reflow". *Shock*. 1997;8(1):2-7.
68. Mitrev Z, Beyersdorf F, Hallmann R, et al. Reperfusion injury in skeletal muscle: Controlled limb reperfusion reduces local and systemic complications after prolonged ischemia. *Cardiovas Surg*. 1994;2:737-48.
69. Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*. 2008;112(10):3939-48.
70. Morin D, Hauet T, Spedding M, Tillement J. Mitochondria as target for antiischemic drugs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;49(1-2):151-74.
71. Murali C, Nithiarasu P. Red Blood Cell (RBC) Aggregation and Its Influence On Non-Newtonian Nature of Blood in Microvasculature. *Journal of Modeling in Mechanics and Materials* 2017;20160157
72. Murphy T, Walsh PM, Doran PP, Mulhall KJ. Transcriptional responses in the adaptation to ischaemia-reperfusion injury: a study of the effect of ischaemic preconditioning in total knee arthroplasty patients. *J Transl Med*. 2010;8:46.
73. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
74. Naito H, Nojima T, Fujisaki N, Tsukahara K, Yamamoto H, Yamada T, Aokage T, Yumoto T, Osako T, Nakao A. Therapeutic strategies for ischemia reperfusion injury in emergency medicine. *Acute Med Surg*. 2020;7(1):e501.
75. Natarajan B, Patel P, Mukherjee A. Acute Lower Limb Ischemia-Etiology, Pathology, and Management. *Int J Angiol*. 2020;29(3):168-74.

76. Németh N, Szokoly M, Ács G, Bráth E, Lesznyák T, Furka I, Mikó I. Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischaemia-reperfusion in a canine model. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2004;30:133–45.
77. Németh N, Lesznyák T, Szokoly M, Furka I, Mikó I. Allopurinol prevents erythrocyte deformability impairing but not the hematological alterations after limb ischaemia-reperfusion in rats. *J Investig Surg.* 2006;19:47–56.
78. Németh N, Kiss F, Hevér T, Bráth E, Sajtos E, Furka I, Mikó I. Hemorheological consequences of hind limb ischaemia- reperfusion differs in normal and gonadectomized male and female rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012;50:197–211.
79. Németh N, Mikó I, Furka A, Kiss F, Furka I, Koller A, Szilasi M. Concerning the importance of changes in hemorheological parameters caused by acid-base and blood gas alterations in experimental surgical models. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2012;51(1):43-50.
80. Németh N, Furka I, Mikó I. Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: an overview on our experimental surgical data. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2014;57(3):215-25.
81. Németh N, Deák Á, Szentkereszty Zs, Pető K. Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1-2):133-40.
82. Németh, N, Pető K, Magyar Z, Klárik Z, Varga G, Oltean M, Mantas A, Czigány Z, Tolba RH. Hemorheological and microcirculatory factors in liver ischaemia-reperfusion injury - An update on pathophysiology, molecular mechanisms and protective strategies. *Int J Mol Sci.* 2021;22:1864.
83. Neu B, Meiselman HJ. Red blood cell aggregation. In: *Handbook of hemorheology and hemodynamics.* eds. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam (The Netherlands), 2007. pp. 323-33.
84. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG, Rutherford RB. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease. (TASC II) *Int Angiol.* 2007;26(2):81-157.
85. Nouri M, Rahimian R, Fakhfour G, Rasouli MR, Mohammadi-Rick S, Barzegar-Fallah A, Asadi-Amoli F, Dehpour AR. Ipsilateral common iliac artery plus femoral artery clamping for inducing sciatic nerve ischemia/reperfusion injury in rats: a reliable and simple method. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj.* 2008;3:27.

86. Olinic DM, Stanek A, Tătaru DA, Homorodean C, Olinic M. Acute Limb Ischemia: An Update on Diagnosis and Management. *J Clin Med*. 2019;8(8):1215.
87. Ong SB, Samangouei P, Kalkhoran SB, Hausenloy DJ. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;78:23-34.
88. Ovechkin AV, Lominadze D, Sedoris KC, Robinson TW, Tyagi SC, Roberts AM. Lung ischemia-reperfusion injury: implications of oxidative stress and platelet-arteriolar wall interactions. *Arch Physiol Biochem*. 2007;113(1):1-12.
89. Pagani FD, Baker LS, Hsi C, Knox M, Fink MP, Visner MS. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor-alpha in conscious dogs. *J Clin Invest*. 1992;90(2):389-98.
90. Park JW, Kang JW, Jeon WJ, Na HS. Postconditioning protects skeletal muscle from ischemia-reperfusion injury. *Microsurgery*. 2010;30(3):223-9.
91. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Surgical implications of ischemic preconditioning. *Arch Surg*. 2005;140(4):405-9.
92. Pearson MJ, Lipowsky HH. Influence of erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000;279(4):H1460-71.
93. Pop GA, Duncker DJ, Gardien M, Vranckx P, Versluis S, Hasan D, Slager CJ. The clinical significance of whole blood viscosity in (cardio)vascular medicine. *Neth Heart J*. 2002;10(12):512-6.
94. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and Hemorheology. *Annu Rev Fluid Mech*. 2005;37:43-69.
95. Price CJ, Warburton EA, Menon DK. Human cellular inflammation in the pathology of acute cerebral ischaemia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2003;74(11):1476-84.
96. Pries AR, Secomb TW. Rheology of the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2003;29(3-4):143-8.
97. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*. 1993;87(3):893-9.
98. Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion, *Basic Res Cardiol*, 2006;101(5):359-72.
99. Reinhart WH, Gaudenz R, Walter R. Acidosis induced by lactate, pyruvate, or HCl increases blood viscosity. *J Crit Care*. 2002;17(1):68-73.

100. Rosero O, Németh K, Turóczy Z, Fülöp A, Garbaisz D, Győrffy A, Szuák A, Dorogi B, Kiss M, Nemeskéri Á, Harsányi L, Szijártó A. Collateral circulation of the rat lower limb and its significance in ischemia-reperfusion studies. *Surg Today*. 2014;44(12):2345-53.
101. Saied A, Ayatollahi Mousavi A, Arabnejad F, Ahmadzadeh Heshmati A. Tourniquet in surgery of the limbs: a review of history, types and complications. *Iran Red Crescent Med J*. 2015;17(2):e9588.
102. Saldanha C. Fibrinogen interaction with the red blood cell membrane. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013;53(1-2):39-44.
103. Santistevan JR. Acute Limb Ischemia: An Emergency Medicine Approach. *Emerg Med Clin North Am*. 2017;35(4):889-909.
104. Sato H, Jordan JE, Zhao ZQ, Sarvotham SS, Vinten-Johansen J. Gradual reperfusion reduces infarct size and endothelial injury but augments neutrophil accumulation. *Ann Thorac Surg*. 1997;64(4):1099-107.
105. Schoen M, Rotter R, Gierer P, Gradl G, Strauss U, Jonas L, Mittlmeier T, Vollmar B. Ischemic preconditioning prevents skeletal muscle tissue injury, but not nerve lesion upon tourniquet-induced ischemia. *J Trauma*. 2007;63(4):788-97.
106. Seifert FC, Banker M, Lane B, Bagge U, Anagnostopoulos CE. An evaluation of resting arterial ischemia models in the rat hind limb. *J Cardiovasc Surg*. 1985;26(5):502-8.
107. Sezer M, Escaned J, Broyd CJ, Umman B, Bugra Z, Ozcan I, Sonsoz MR, Ozcan A, Atici A, Aslanger E, Sezer ZI, Davies JE, van Royen N, Umman S. Gradual Versus Abrupt Reperfusion During Primary Percutaneous Coronary Interventions in ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction (GUARD). *J Am Heart Assoc*. 2022;17:11.
108. Sharma JP, Salhotra R. Tourniquets in orthopedic surgery. *Indian J Orthop*. 2012;46(4):377-83.
109. Sigamoney K, Khincha P, Badge R, Shah N. Compartment syndrome: challenges and solutions. *Orthop Res Rev*. 2015;7:137-48.
110. Sivaraman V, Yellon DM. Pharmacologic therapy that simulates conditioning for cardiac ischemic/reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014;19(1):83-96.
111. Sun MS, Jin H, Sun X, Huang S, Zhang FL, Guo ZN, Yang Y. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;3804979.

112. Szijártó A, Turóczy Z, Arányi P, Garbaisz D, Varga M, Stangl R, Lotz G, Kupcsulik P. Hosszú idejű végtagi verőér-elzáródás és izomszövet-életképesség vizsgálata kísérletes állatmodellben. *Magy Seb.* 2010;63(6):374-9.
113. Tateishi N, Suzuki Y, Cicha I, Maeda N. O(2) release from erythrocytes flowing in a narrow O(2)-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281(1):H448-56.
114. Tiwari A, Haq AI, Myint F, Hamilton G. Acute compartment syndromes. *Br J Surg.* 2002;89(4):397-412.
115. Ulus AT, Yavas S, Sapmaz A, Sakaoğullari Z, Simsek E, Ersoz S, Koksoy C. Effect of conditioning on visceral organs during indirect ischemia/reperfusion injury. *Ann Vasc Surg.* 2014;28(2):437-44.
116. Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;41(3):179-88.
117. Varga G, Ghanem S, Szabó B, Nagy K, Pál N, Tánczos B, Somogyi V, Baráth B, Deák Á, Pető K, Németh N. Renal ischemia-reperfusion-induced metabolic and micro-rheological alterations and their modulation by remote organ ischemic preconditioning protocols in the rat. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(2):225-36.
118. Vinten-Johansen J, Zhao ZQ, Zatta AJ, Kin H, Halkos ME, Kerendi F. Postconditioning - A new link in nature's armor against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol.* 2005;100(4):295-310.
119. Wahlberg E, Dimuzio PJ, Stoney RJ. Aortic clamping during elective operations for infrarenal disease: The influence of clamping time on renal function. *J Vasc Surg.* 2002;36(1):13-8.
120. Weiss JN, Venkatesh N, Lamp ST. ATP-sensitive K⁺ channels and cellular K⁺ loss in hypoxic and ischaemic mammalian ventricle. *J Physiol.* 1992;447:649-73.
121. Weiss L. Aspects of the relation between functional and structural cardiovascular factors in primary hypertension. Experimental studies in spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1974;409:1-58.
122. Yang XM, Proctor JB, Cui L, Krieg T, Downey JM, Cohen MV. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(5):1103-10.

123. Zhang Y, Liu X, Yan F, Min L, Ji X, Luo Y. Protective effects of remote ischemic preconditioning in rat hindlimb on ischemia- reperfusion injury. *Neural Regen Res.* 2012;7(8):583-7.
124. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(2):H579-88.

8.2. 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.



9. 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.

10. FÜGGELÉK

Az értekezés alapját képező *in extenso* közlemények másolatai