

# **Az oxidatív stressz és hemosztázis paraméterek változása életveszélyes tüdőembólia trombolitikus kezelése során**

**PhD értekezés tézisei**

**Dr. Mühl Diana**

**Programvezető:** Prof. Dr. Róth Erzsébet

**Témavezetők:** Dr. Lantos János, Prof. Dr. Bogár Lajos

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ,  
Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Intézet

Pécs, 2007.



# **1. BEVEZETÉS**

## **1.1 A tüdőembólia előfordulási gyakorisága, mortalitása**

A pulmonális embólia a harmadik leggyakoribb kardiovaszkuláris halálok, előfordulása 50-100/100000/lakós/év, továbbra is nemzetközi egészségügyi probléma. Nyugat-európai országokban a pulmonális embólia (PE) és a mélyvénás trombózis (MVT) előfordulása 0,5-1,0 ‰. A PE diagnózisa gyakran nehéz és megkésett, Magyarországon kb. 3000 ember halálát okozza évente, kezelés nélkül halálozása 30%, megfelelő kezelés mellett a halálozás 2-8%-ra csökkenthető. A kórházakban elhunytak boncolása során 12-15%-ban szerepel mint halálok. Az ICOPER tanulmány 2454 PE-s beteget vizsgált, az összmortalitás az első három hónapban 17,5% volt, hosszú távon a visszatérő PE-ás epizódok és a revaszkularizáció hiánya pulmonális hipertónia kialakulásához vezetett. A stabil keringésű tüdőembóliás betegek kórházi mortalitása összességében 10%, az első 24 órában 4%. Az akut masszív tüdőembóliás betegek 95%-a meghal, ha a kórházi felvételnél keringés-légzés leállás lép fel, ezen újraillesztett betegek 77%-a már az első 24 órában exitál. A lélegeztetésre szoruló pulmonális embóliás betegek mortalitása drámaian magas, 80%. Az akut PE egyik kezelési módja lehet a trombolízis (TL). A tüdőembólia letalitása TL-t követően 4,7-11,4%-ra csökkenthető. A kórházban elhunytak boncolása során igazolt tüdőembóliát előzőleg mindössze 29%-ban diagnosztizálták a klinikusok. Mindezek alapján az elsődleges cél a PE gyors és biztos diagnózisa, majd a mielőbbi megfelelő kezelés elkezdése.

## **1.2 Vizsgálatunk alapjául szolgáló közlések**

2001-ben engedélyezett vizsgálatunk megkezdéséig PE-ás betegeink TL kezelése során a transzfúzióra szoruló vérzéses szövödmények előfordulása az irodalmi adatokkal összehasonlítva kevesebbnek bizonyult (11,2%), erre megfelelő magyarázatot nem találtunk. Martin vizsgálta a sztreptokináz (SK) plazma koncentrációjának változását, és azt állapította meg, hogy az intravénás adás befejezését követően 4 óra múlva mérhetően csökken. Elemezte ultranagy dózisú sztreptokináz (UH-SK) adását követően a plazminogén szérumszintjének alakulását mely a TL 30. percében 4%-ra csökkent, majd a 12. órától kezdett el ismét emelkedni, a 24. órában 30-40% közötti értéket mutat. Ugyanez a kinetika jellemezte a fibrinogén-szint alakulását is.

Számos közlemény fókuszált a trombocita (tct) funkció megváltozására TL alatt. Moser és mtsai acut myocardialis infarctusban (AMI) szenvedő betegeknél reteplázzal és SK-zal történő kezelés után az 1.-2. órában a tct aggregáció csökkenését észlelték. Gurbel és mtsai ugyancsak AMI-ban vizsgálták retepláz és az altepláz hatását a tct funkciókra, az általuk közölt trend alapján a kezdeti (4.-6. órában) tct receptor expresszió csökkenését a 12. és a 24. óra között fokozatos és kifejezett növekedés követi. Korbust és mtsai a tct-k és a fibrinolitikus rendszer tanulmányozása során arra a következtetésre jutottak, hogy a tct vitális szerepet játszik a plazma fibrinolitikus aktivitásának mediálásában: a tct hatással bír a TL-re, másrészt a TL szerepei képesek befolyásolni a tct funkciót. A SK-zal és szöveti típusú plazminogén aktivátor (tPA) indukált TL a tct rapid aktivitását váltja ki, ez a jelenség lehet felelős a korai reokklúzióért. Egyben felhívják a figyelmet arra is, hogy óvatosság szükséges sok tanulmány eredményeinek összehasonlításához, mivel az alkalmazott trombolitikus modellek eltérnek egymástól, nagy variabilitás jellemzi a trombus formációt (in vitro, in vivo) a vizsgált tct koncentrációt és a TL szereit. Agnelli és mtsai arra kerestek magyarázatot, hogy az rekombináns szöveti plazminogén aktivátor (rt-PA) folyamatos alkalmazásakor miért gyakoribb a vérzéses szövödmény, mint rövid bólusban történő alkalmazásakor. Véleményük szerint a rövid ideig történő rt-PA adás csökkenti az interakciót a véralvadási-rendszerrel, rövidíti a szisztémás litikus állapot idejét és a tct funkció károsodását. A fent részletezett tudományos vizsgálatok AMI-ban szenvedő betegek

adatait elemzik, nem találtunk PE-s betegekre vonatkozó megfelelő tanulmányokat. Megoszlának a tct funkció trombolitikus szerrel történő befolyásolásáról szóló közlemények, egyesek a tct funkció gátlását, mások aktivációját írják le. Ezért tartottuk szükségesnek a tct aggregáció és a koagulációs paraméterek vizsgálatát különböző trombolitikus terápia során randomizált prospektív módon.

Az elmúlt néhány évtized kutatási eredményei nyilvánvalóvá tették, hogy a hipoxia-reoxigenizáció, illetve az iszkémia-reperfúzió oxidatív stresszt (OS) indukál, melynek során megbomlik a szervezetben folyamatosan képződő oxigén eredetű szabad gyökök és az azokat hatástalanító endogén antioxidánsok egyensúlya. Ezt a folyamatot leukocita aktiváció és szöveti gyulladás kíséri. Az OS patológiájával kapcsolatban számos átfogó közlemény jelent meg, különösen a myocardium reperfúzió kapcsán, de a PE-t kísérő OS-t csak állatkísérletekben vizsgálták és ismereteink szerint a masszív/szubmasszív PE TL-sel történő kezelése során erre vonatkozóan humán vizsgálatokat mindeddig nem végeztek.

## **2. CÉLKITŰZÉSEK**

- 1/ Vénás tromboembóliában szenvedő betegeknél kimutatható-e spontán tct aggregáció?
- 2/ Hogyan változik a tct aggregáció masszív/szubmasszív PE TL-e alatt és azt követően?
- 3/ Van-e összefüggés a tct aggregáció változása és a vérzéses szövődmények között?
- 4/ Magyarázza-e a tct aggregáció változása a korai reembóliát?
- 5/ Létezik-e olyan gyors laboratóriumi marker, ami jól és invazív vizsgálat nélkül értékeli a TL terápia effektusát?
- 6/ Masszív/szubmasszív PE-ban fokozott-e az oxidatív stressz a trombolízis előtt az egészséges populációhoz képest?
- 7/ Masszív/szubmasszív PE trombolitikus kezelése során miként változnak az oxidatív stressz és a leukocita aktiváció markerei?
- 8/ Választ kerestünk arra is, hogy vajon mutatkozik-e különbség az eltérő trombolitikus szerek oxidatív stresszre, leukocita aktivációra és tct funkciókra gyakorolt hatásában.
- 9/ Az oxidatív stressz markereinek változása használható-e a sikeres TL kezelésének megítélésére?

## **3. MÓDSZEREK**

### **3.1 Beteganyag**

A Regionális Kutatás Etikai Bizottság engedélyét (820/2001) követően kezdtük meg vizsgálatunkat. Életkorra és nemre való tekintet nélkül 15 igazolt masszív/szubmasszív PE-ás beteget vontunk be, akiket tízes blokk borítékos randomizáció módszerével két eltérő terápiás csoportba osztottunk. Az egyik csoportban 8 beteg UH-SK kezelésben, a másik terápiás csoportban pedig 7 beteg altepláz (tPA) kezelésben részesült. Betegségükről, annak kezelési lehetőségeiről illetve azok kockázatairól írásos és szóbeli felvilágosítást kaptak, majd beleegyező nyilatkozatot irtak alá.

Adatgyűjtésünk 2001. 05. 01. és 2006. 05. 01. között zajlott a PTE OEKK AITI-n.

Kérdőívben dokumentáltuk a tromboembóliás megbetegedésekre vonatkozó hajlamosító tényezőket, etiológiát, érintett régiót, a diagnosztikus eljárásokat és azok eredményeit, rögzítettük a SAPS II pontrendszer, klinikai tünetek kezdetének időpontját, a vizsgálatainkat potenciálisan befolyásoló tényezőket (pl. diuretikum, szteroid szedése stb.).

*3.1.1 Bevételi kritériumok:* A bevonás kritériuma az össztüdőperfúzió legalább 50%-át meghaladó perfúziós defektus volt. A diagnózis felállításakor a szubjektív panaszokat, klinikai képet, EKG-leletet, artériás vérgáz értékeket, D-dimert, mellkas röntgent, perfúziós tüdőszcintigráfiát, spirál komputer tomográfiát (sCT), echokardiográfiát, alsó végtagi duplex ultrahang vizsgálatot vettük figyelembe. Inhalációs tüdőszcintigráfiát a betegek állapota, progrediáló hipoxia miatt egyetlen esetben sem végeztünk. A biztos diagnózis felállítása sok esetben az elérhetőség alapján történt.

*3.1.2 Kizárási kritériumok:* Kizárási kritériumot képezett a beteg belegyezésének hiánya, előrehaladott daganatos betegség, valamint a TL abszolút kontraindikációja.

*Trombolízis kontraindikációjának tekintettük:*

- beteg belegyezésének hiánya
- előrehaladott daganatos folyamat
- 24 órán belüli nem komprimálható parenchimas szerv punkció (pl. vese biopsia)
- aktív gastrointestinalis vérzés
- encephalomalatia vagy cerebrális haemorrhagia a közelmúltban (1 hónap)
- hipertenzív krízis (masszív PE mellett nem valószínű)
- nagy műtét az eltelt 1 hétben
- igazolt thrombussal kitöltött aneurysma (pl. post-infarctusos balkamra, hasi aorta)

*3.1.3 A vizsgálat megszakítása:* A vizsgálat megszakítását indokolta, ha a beteg írásban vagy szóban visszavonta az előzetesen írásban adott beleegyező nyilatkozatát illetően az alábbiakban meghatározott végpontok valamelyike bekövetkezett.

*3.1.4 Vizsgálat végpontjai*

- SK következtében kialakult anafilaxiás reakció, mely másik típusú trombolitikus szer bevezetését tette szükségessé.
- Exitus

*3.1.5 Kontroll csoport:* Az oxidatív stressz paraméterek kontroll vizsgálatához kilenc egészséges önkéntes személytől vettünk vérmintákat. Heparinnal kezelt kontroll csoportot nem alkottunk, mivel ez a jelenlegi terápiás ajánlásoknak szubmasszív és masszív tüdőembóliában nem felel meg, ezért nem tartottuk etikusnak.

## **3.2 Kezelés**

*3.2.1 Szupportív kezelés, diagnosztikus eljárások TL előtt:* A PE gyanújának felvetődésekor megkezdtük az antikoagulációt 5000 IE Na-heparinnal intravénás bólusban, ha ezt megelőzően a küldő intézetben alacsony molekulású heparint (LMWH) nem adtak. Stabil vénabiztosítás mellett a betegek azonnal arcmaszkon keresztül megközelítőleg 50 vagy 100% -os oxigén terápiában részesültek. Fájdalomcsillapításként intravénás bólusban morfint (2 mg) adtunk. Az optimális hemoreológiai paraméterek és jó hidráltáság elérése céljából bő intravénás folyadékbevitelt tartottunk szükségesnek az akut szakban (Sterofundin B 1,5-2 ml/ttkg/óra). A betegek szupportív kezelését igyekeztünk homogén gyógyszereléssel megvalósítani, megnyúlt kilégzés esetén iv. 200 mg theophyllint adtunk. Inotróp támogatásként noradrenalint magában vagy dobutaminnal kombinálva alkalmaztunk. Alsó végtagi Doppler UH vizsgálattal ha felmerült a reemboizáció, újbóli rög elszabadulás lehetősége, mérlegeltük az átmeneti cava filter behelyezését a TL előtt. A masszív/szubmasszív tüdőembólia meglétét igazoló diagnosztikus eljárásokat követően artéria radialis kanült vezetünk be. Ennek célja részben az invazív vérnyomás monitorozás, részben a gyakori vérminta vételezés okozta vérömleny és vérzés megelőzése volt. A két csoport kezelése ettől kezdve szétvált.

*3.2.2 UH-SK kezelés:* Az UH-SK csoportban 1,5 millió IU/óra SK-t kezdtünk adni perfúzorban, melyet 6 órán keresztül folytattunk. 4 óránként aktivált partialis thromboplastin idő (aPTI) ellenőrzését végeztük, ha az aPTI értéke 50-60 sec közötti volt elindítottuk a frakcionálatlan heparint (UFH) perfúzorban. „Heparin adjustment nomogram” alapján korrigáltuk 60-70 másodperces aPTI célértékre. A heparin kezelést a másnapi kontroll vizsgálatokig folytattuk, amikor perfúziós tüdőszcintigráfia vagy sCT vizsgálat történt, ellenőriztük a terápia hatékonyságát és az épp aktuális perfúziós státuszt. Abban az esetben, ha a TL effektivitását elégtelennek ítéltük (klinikai állapot, perfúziós defektus kevesebb, mint 30%-kal csökkent), újra UH-SK ciklust indítottunk, maximum három trombolitikus ciklust alkalmaztunk.

*3.2.3 Altepláz kezelés:* Az tPA terápiás csoportban a kezdeti Na-heparin adását követően alteplázt indítottunk perfúzorban 100 mg/2 óra sebességgel. A thrombolyticum adása mellett, folyamatos UFH adása történt perfúzorban. A fent részletezett kontroll vizsgálatok alapján ha a rögzítés nem járt kellő sikerrel, 24 óra elteltével újbóli TL ciklust végeztünk a fenti dózisban.

*3.2.4. TL utáni antikoaguláns kezelés:* Ha a TL effektusa megfelelő volt, mindkét terápiás csoportban 24-48 óra után Na-heparinról LMWH készítményre állítottuk át a betegeket. Leggyakrabban dalteparint alkalmaztunk 100 IU/ttkg x 2 dózisban. TL után 3-4 nappal megkezdtük a tartós antikoagulációt (acenocoumarol), ám ez gyakran már a belgyógyászatban történt meg, miután a betegeket stabil állapotban kihelyeztük.

*3.2.5 Utánkövetés, záró vizsgálat:* Utánkövetéses, záró vizsgálatunk az öt akut nap után a 30. napon ambuláner történt. Ekkor fizikális vizsgálatot, EKG-t és a vizsgált vérminták ismételt levételét és analízisét végeztük el. Ezen fázisban a betegek Syncumar kezelésben részesültek, ezért a kontroll vérmintát vénás úton nyertük, mely az eddigi irodalmi adatok alapján sem a trombocita aggregációs, sem az oxidatív stressz paramétereit nem befolyásolja. Fél évvel az akut tromboembóliát követően a 70 évnél fiatalabb betegeket hematológiai ambulanciára irányítottuk trombofilia kivizsgálásra.

### **3.3 Mérési módszerek**

#### *3.3.1 Mintavételezés gyakorisága*

Trombocita aggregációs vizsgálatokat az AITI Laboratóriumában végeztük, melyre artériás vérmintát a TL megkezdése előtt (ezt tekintettük alapértéknek és később a változásokat is ehhez viszonyítottuk), az azt követő első napon négyóránként, a második napon 12 óránként, a harmadik, negyedik, ötödik és harmincadik napon, napi egy alkalommal vettünk. Ugyanezen vizsgálati időpontokban ellenőriztük az aPTI és fibrinogén szinteket. Az első napon nyolcóránként artériás vérgáz, vérkép és D-dimer értékeket vizsgáltunk, melyet a továbbiakban a fenti mintavételezési időpontokban ismételtünk meg.

Az oxidatív stresszre és leukocita aktivációra vonatkozó mintavételek szintén a TL megkezdése előtt, azt követően a nyolcadik órában majd az első, a harmadik, az ötödik és a harmincadik napon történtek. A laboratóriumi vizsgálatok részben a PTE Laboratóriumi Medicina Intézetében, részben pedig a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet segítségével zajlottak, ez utóbbi helyre a mintákat 2 órán belül 0°C víz-jég keverékben szállítottuk.

#### *3.3.2 Trombocita aggregáció mérés technikája*

Méréseinket Carat Tx 4 típusú trombocita aggregométerrel végeztük. A készülék a Born féle optikai módszerrel mér, melynek lényege, hogy 4 különböző, egymástól független cellába behelyezett vérplazmán áthaladó infravörös fény méri a plazma fényáteresztő képességének változását különböző induktorok hatására.

A méréshez szükséges vérplazmát centrifugálással állítottuk elő az alábbi módon: Egy

méréshez két kémcső Na-citráttal alvadásgátolt Vacutainer vér szükséges, melyet legkésőbb 2 órán belül fel kell dolgozni. Öt percig 600/min fordulatszámmal centrifugáltunk, majd a két kémcsőből legkevesebb 4 x 450 µl felülúszót, tct dús plazmát (PRP) pipettáztunk le natív kémcsővekbe, ügyelve, hogy vörösvérsejt ne kerüljön a mintába. A minta levétele után az üledéket 5000/min-es fordulaton 10 percig centrifugáltuk, hogy tct szegény plazmát (PPP) nyerjünk. Az egyenként 450 µl PRP-t 4 db küvettába mértük ki, a gép celláiba helyeztük és 37 °C-on 8 percig inkubáltuk. A PPP-ből 500 µl-t mértünk egy ötödik küvettába, mellyel az aggregométer minden celláját egyenként kalibráltuk, a mérések előtt a készülék tárolja a PPP optikai sűrűségét. Ezután az előzőekben kimért PRP-t helyeztük a munkacellákba. A vizsgálat során a tct-t tartalmazó PRP optikai sűrűségének változása alapján követhető a tct-k összetapadása aggregátumokká az induktor hatására. Minél több aggregátum képződik, annál jobban megnő a kevert tct szuszpenzió fényáteresztő képessége. Az aggregáció mértékét százalékban fejezzük ki, és 100%-nak tekintjük a PPP fényáteresztő képességét. Bármilyen nagy a tct-k aggregációs képessége a kapott maximális aggregáció mindig 100% alatt marad, mivel a keringő aggregátumok miatt az aggregált minta fényáteresztő képessége mindig kisebb lesz.. A PPP-PRP optikai sűrűség különbséghez történő viszonyítással előállított aggregációs görbéket a készülék a memóriában tárolja, valamint egyidejűleg négy csatornán kijelzi. Az előkészített tct dús plazmához a következő „Theracont TA-3 induktorkit” alábbi induktorait adhatjuk hozzá: adenzin difoszfát (ADP) 5 és 10 µM, kollagén 2 µg/ml, adrenalin 10 µM (50-50 µl), a spontán aggregáció meghatározásához 0,9 % fiziológiás sóoldatot használtunk az 5 µM koncentrációjú ADP helyett. A mérés időtartama 8 perc. Normálnak tekintjük a tct aggregációt, ha az valamennyi induktor hatására az 50%-ot meghaladja.

### *3.3.3 Az oxidatív stressz és leukocita aktiváció mérésének laboratóriumi technikája*

#### *3.3.3.1 Malondialdehid(MDA) meghatározása teljes vérben:*

A plazma MDA a többszörösen telítetlen lipidek peroxidációs végterméke. Szintje jól jellemzi az oxidatív stressz jelenlétét és mértékét. A spektrofotometriás mérés tio-barbitursav (TBA) reagenssel történt az alábbi módon: 1 ml vérhez 4 ml desztillált vizet mérünk. 0,5 ml hígított vérmintához 4,5 ml 10%-os perklórsavban túltelített thio-barbitursav és 20%-os triklórecetsav oldat 1:3 arányú keverék adjuk. 100°C fokon 20 percig inkubáljuk, majd jeges vízben lehűtjük, és hűtött centrifugában 15 percig 4000-es fordulattal centrifugáljuk. A felülúszót 532 nm-en TBA + triklór-ecetsav (TCA) reagenssel szemben fotometráljuk. Az értékelés tetrametoxipropánból hígított standard koncentrációjú oldatok mérése alapján felvett kalibrációs egyenes segítségével történik. Az MDA értékét nmol/ml-ben fejezzük ki.

#### *3.3.3.2 Redukált glutation(GSH) mérése teljes vérben:*

A redukált GSH alapvető endogén antioxidáns. A GSH-t a máj termeli, és PSH-val együtt a szervezet antioxidáns kapacitását jelzi. Szintjük csökkenése az antioxidáns kapacitás kimerülésére utal. Mérésüket fotometriásan 5,5'-ditio-bis-2-nitro-benzoésav (DTNB) színreagenssel végezzük. etilén-diamin-tetraacetáttal (EDTA) alvadásgátolt vér 0,2 ml-ét 0,8 ml desztillált vízzel hígítjuk, majd 4 ml 10%-os TCA-t mérünk hozzá, és hűtött centrifugában 15 percig 4000-es fordulattal centrifugáljuk. 4 ml TRIS-pufferbe (0,4 M pH: 8,7) 2 ml felülúszót mérünk, majd közvetlenül a spektrofotometriás mérés előtt hozzáadunk 100 µl DTNB oldatot (59,4 mg DTNB 15 ml metanolban oldva). A mérés 412 nm-en történik TRIS-pufferrel szemben. Az értékelés GSH standard oldatok mérése alapján felvett kalibrációs egyenes segítségével történik.

#### *3.3.3.3 Plazma protein szulfhidril csoport (PSH) szintjének meghatározása Ellman reagenssel*

A PSH csoportjai jelentős szerepet játszanak az OS elleni védekezésben. Meghatározásuk EDTA-val alvadásgátolt vérből centrifugálással nyert (4°C, 10 perc, 4000-es fordulat) plazmából történik a GSH meghatározáshoz hasonlóan. 0,8 ml TRIS-pufferbe (0,4 M pH: 8,7) 0,1 ml plazmát és 0,1 ml DTNB oldatot (59,4 mg DTNB 15 ml metanolban oldva) mérünk. A mérés 412 nm-en történik TRIS-pufferrel szemben. Az értékelés GSH standard oldatok mérése alapján felvett kalibrációs egyenes segítségével történik. A PSH értékét nmol/ml-ben fejezzük ki.

#### 3.3.3.4 Szuperoxid dizmutáz enzim(SOD) meghatározása teljes vérben

A SOD endogén enzimatis antioxián, amely katalizálja a szuperoxid gyök dizmutációját, és így alapvető szerepet játszik a szervezet antioxián védelmében. Meghatározásához 2 ml EDTA-val alvadásgátolt vért 2 ml hűtött fiziológiás sóoldattal mosunk, majd hűtött centrifugában 5 percig 2000-es fordulattal centrifugáljuk. A felülúszó leszívása után addig ismétljük a mosást, míg a felülúszó tiszta nem lesz. A 2 ml-re felhígított mosott vvs-ből 50 µl 450 µl desztillált vízzel hemolizáljuk és 500 µl kloroform: etanol 1:2 arányú keverékével összerázva hűtött gyorscentrifugában 4 percig 17000-es fordulatszámra centrifugáljuk. Az etanol-kloroform elegendő a hemoglobin eltávolítására szolgál. Az így nyert felülúszóból történik a SOD meghatározása, melynek elve az, hogy a SOD enzim gátolja az adrenalin spontán átalakulását adrenokrommá, mely színes fotometrálnálható komplex. A mérés 480 nm-en történik. A gátlás mértékéből (optimálisan 50%) a SOD enzim aktivitására következtethetünk. A minták SOD enzim aktivitását IU/ml-ben fejezzük ki.

#### 3.3.3.5 Fehérvérsejtek reaktív oxigéngyök termelése (ROS) teljes vérben:

Aktivált leukociták, főként a neutrofil granulociták a legfőbb forrásai a reaktív oxigéngyököknek szisztémás gyulladási reakcióban. A ROS mérésével teljes vérben a keringő fehérvérsejtek szabadgyök termelő kapacitására tudunk következtetni. A meghatározás kemilumineszcenciás módszer segítségével, kinetikus méréssel történik. A gyöktermelés maximális értéke a sejtek aktiváltságára utaló paraméter. A mérés során 20 µl EDTA-val alvadásgátolt vért 1,4 ml Dulbeccos Modified Eagles Medium (Sigma, USA) tápoldattal 37°C-on inkubálunk. Ehhez 30 µl 3-aminoftalhidrazidot (Loba Feinchemie, Austria) adunk és a luminométer (Chrono-Log Whole blood Lumi-aggregométerben (Model 560, Chrono-Log, USA) mérőhelyébe helyezük és mérjük a minta háttér lumineszcenciáját. Ezt követően 30 µl 0,16 mM forbol-12 mirisztát-13 acetát (PMA) (Sigma, USA) fecskendezünk a küvettaiba és regisztráljuk a gyöktermelés változását. A ROS termelés csúcserékét az abszolút fehérvérsejt számra vonatkoztatva kapjuk az arbitrális egységben (AU).

#### 3.3.3.6 Plazma mieloperoxidáz (MPO) meghatározása:

A MPO a neutrofil granulocitákban található, és azok aktivációja során felszabaduló lizoszomális enzim, így gyulladásban plazma szintje megemelkedik. Meghatározása EDTA-val alvadásgátolt vérből centrifugálással nyert (4°C, 10 perc, 4000-es fordulat) plazmából történik. 10,9 ml Na-citrát (0,1 M-os, pH: 5,5), 100µl 0,1%-os o-dianisidin, 1ml 1 mM-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> és 5µl 0,05 %-os Triton-X100 oldatok keverékét 200 µl plazmával 37°C-on inkubáljuk 5 percig, majd rámérünk 1 ml 35%-os perklorosavat. Hűtött centrifugában centrifugáljuk 10 percig 2500/min fordulattal, majd a felülúszót 560 nm-en fotometrálnjuk.

#### 3.3.3.7 Fehérvérsejt CD11a, CD18 adhéziós molekulák és CD97 gyulladási marker mérése:

A CD11a és CD18 adhéziós molekulák a leukociták felszínén jelennek meg és meghatározó szerepet játszanak e sejtek véráramból történő kivándorlásában, és egymáshoz, illetve a trombocitákhoz való tapadásában. A CD97 általános gyulladási markerként a granulociták felszínén fejeződik ki, ami a szervezet gyulladási állapotában fokozottan expresszálódik. A leukocita felszíni adhéziós molekulák színjének változása a



fehérvérsejtek aktivált állapotára és sejtfelszíni expressziójukra utal. E felszíni antigének meghatározása áramlási citometriás módszerrel történik. 200 µl citráttal alvadásgátolt vérhez 10 µl fluoreszcein izotiocianáttal (FITC) jelölt CD11a, CD18, CD97 (BD Biosciences, USA) egér anti-humán monoklonális antitestet mérünk. 15 percig sötétben, szoba hőmérsékleten inkubáljuk, majd a vörösvértesteket hígított Lysing Solution oldattal (BD Biosciences, USA) hemolizáljuk 12 percen át. A festést követően a fehérvérsejteket centrifugáljuk és foszfát pufferoldattal két alkalommal átmoszuk, majd végül reszuszpendáljuk CellFIX oldattal. A nem specifikus háttér fluoreszcencia meghatározására egér IgG<sub>1,κ</sub> izotóp kontrollt használunk. A sejt immunfluoreszcenciás és fényoszórás adatokat BD FACS Calibur (BD Biosciences, USA) flow citométerrel mérjük. Az adatok analízise Cell-quest szoftver segítségével történt. A CD11a, CD18, CD97 fehérvérsejt kötődését így kvantitatív, AU formában kaptuk meg mint átlag fluoreszcencia, mely meghaladta a nem specifikus, háttér fluoreszcenciát.

#### *3.3.3.8 Egyéb laboratóriumi paraméterek:*

Az aPTI, TI, fibrinogén, vérvkép és kvantitatív D-dimer vizsgálatok a PTE Laboratóriumi Medicina Intézetében történtek. Artériás vérgázanalíziseket osztályunk saját vérgáz készülékén végeztük.

### **3.4 Statisztikai analízis**

Megvizsgáltuk az adataink eloszlását, normál eloszlás esetében egymintás Student-t próbával számoltuk az egyes csoportokon belül a kiindulási értékekhez viszonyított eltéréseket. A két csoport eredményeinek összehasonlítására kétmintás Student-t próbát használtunk. Az átlagértékeket összehasonlítottuk a TL előtti eredményekkel azonos csoportokon belül és a megfelelő értékeket a két eltérő terápiás csoport között azonos időpontokban. A nem parametrikus adatok elemzésére a Wilcoxon Signed Ranks Test-et alkalmaztuk. A vizsgált adatok közti összefüggéseket korrelációs teszttel (Spearman's Rho) elemeztük. A mérési eredményekből átlagot és standard hibát számoltunk. Az ábrákon a mért értékek átlagát és a mérés standard hibáját (SEM) tüntettük fel, néhány esetben a szórást alkalmaztuk, melyet külön jelöltünk.

Az esetszámot power analízissel a PSH és adrenalin eredményeknek megfelelően kalkuláltuk. Így az 5% I alfa minta és a 80% II (power) minta alapján mindkét csoportba minimum 7 beteget kellett beválasztanunk. A változásokat  $p < 0,05$  értékeknél tekintettük szignifikánsnak.

## **4. EREDMÉNYEK**

### **4.1 Betegek**

A vizsgálatba vont 15 beteg átlagéletkora: 63 ( $\pm 15$ ) év, legfiatalabb 21, legidősebb 84 éves. Az 1. táblázatban foglaljuk össze a betegek megoszlását kezelésük, életkoruk, nemük, simplified acute physiology score-juk (SAPS II) és egyéb kórelőzményi és kezeléssel kapcsolatos adataik vonatkozásában. A betegek tüdő perfúziójának átlagos kiesése 71 ( $\pm 7$ )%, echokardiográfiával igazolt átlagos jobb kamra nyomásuk: 53 ( $\pm 13$ ) Hgmm, 10 beteg esetében D jel, 9 betegnél III-IV. fokú tricuspídális insufficiencia igazolódott. A fentiek alapján valamennyi beteg a masszív vagy szubmasszív PE-ban szenvedett, 4 beteg shockos állapotban érkezett. Átlagos SAPS II score-juk: 22 ( $\pm 8$ ) volt. 8 beteg UH-SK (5 nő, 3 férfi), 7 beteg pedig tPA (4 nő, 3 férfi) kezelésben részesült. A rizikófaktorok közül figyelmet érdemel, hogy 8 betegnél Doppler UH vizsgálattal mélyvénás trombózis igazolódott. Három betegnél szerepelt a kórelőzményben tumor, akik közül 2 beteg évekkal ezelőtti sebészi kezelést követően tumormentessé vált. Egy páciensnél csak a TL-t követő napon derült fény prosztata

karcinómájára, mivel a TL megkezdésekor nem volt erre utaló dokumentum. Egy beteg ismert agyalapi aneurizmával rendelkezett, melyet az idegsebész gondozó orvos nem tartott a TL kontraindikációjának. Hét betegnél állt fenn tromboembóliás történések családi halmozódása. Egy betegnél derült fény heparin indukálta thrombocytopaeniára a TL előtt, akinél a terápiás szintű antikoagulációt hirudin adásával tartottuk fenn. Súlyos vérzéses szövődmény (kritérium: szívfrekvencia több mint 100/min, szisztolés vérnyomás több mint 40 Hgmm-es csökkenése, anémia okozta cerebrális zavartság, 30%-ot meghaladó hematokrit ill. hemoglobin csökkenés) egyetlen esetben sem alakult ki. Szűrőcsatorna körüli vérzést 8 betegnél észleltünk, 1 esetben hematuriót. Lassú anemizálódás miatt a 2-5. napon 6 beteg szorult 2-3 E keresett vvs koncentrátum adására. Tct szuszpenziót egy beteg sem kapott. Kiemelendő, hogy valamennyi beteg klinikai állapota és tüdőperfúziója a TL hatására szignifikánsan javult, melyet a belgyógyászati utókezelésre történő áthelyezés előtt készült kontroll perfúziós tüdőszcintigráfia, sCT vizsgálat igazolt. Két beteg nem jelent meg a 30. napon kontroll vizsgálaton, akik közül az egyik (82 éves) a sikeres TL után a 8. napon belgyógyászati szubintenzív osztályon AMI-t követően kardiogén shockban elhunyt. Másik páciens mélyvénás trombózis miatt kialakult lábszárfekély műtéte ezen időpontban zajlott.

	<b>UH-SK</b>	<b>tPA</b>
<b>Életkor (év)</b>	62 ±18	63 ±15
<b>Nem (F/N)</b>	3/5	3/4
<b>Perfúziós defektus felvételkor (%)</b>	72 ±9	71 ±6
<b>Perfúziós defektus TL után (%)</b>	21 ±8***	31 ±12***
<b>Masszív PE</b>	4	4
<b>Szubmasszív PE</b>	4	3
<b>Jobb kamra nyomás (Hgmm)</b>	48 ±15	57 ±7
<b>D-jel (n)</b>	3	6
<b>Shock (n)#</b>	2	2
<b>SAPS II</b>	22 ±8	23 ±9
<b>Mélyvénás trombózis (n)</b>	6	2
<b>Hipertónia (n)</b>	6	6
<b>Diabetes mellitus (n)</b>	2	3
<b>Ritmuszavar (n)</b>	2	3
<b>Dohányzás (n)</b>	1	1
<b>Fogamzásgátló szedés (n)</b>	1	1
<b>Krónikus diuretikus kezelés (n)</b>	6	2
<b>Acetilszalicilsav kezelés (n)</b>	3	3
<b>Krónikus nem szteroid analgetikum szedés (n)</b>	4	3
<b>Alsó végtag visszérbetegség (n)</b>	4	4
<b>Családi halmozódás (n)</b>	4	3

1. táblázat: Betegadatok összehasonlítása a két kezelési csoportban

#: Sokkosnak tekintettük a beteget, ha az artériás systoles vérnyomása 100 Hgmm alatt maradt megfelelő folyadék reszuszcitáció ellenére is több mint 15 percen keresztül. Adatokat átlag és szórással adtuk meg (mean± SD), \*\*\* p<0,001 vs. felvételi érték

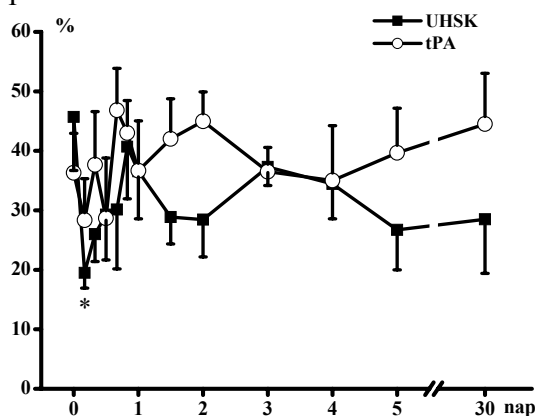
## **4.2 Trombocita aggregációs és hemosztazeológiai vizsgálataink eredményei**

### *4.2.1 Trombocita szám változása*

A tct szám az UH-SK kezelt betegek csoportjában összehasonlítva a TL-t megelőző értékkel fokozatosan és szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ) a második napig, majd lassan emelkedni kezdett. A tPA csoportban hasonló, de kismértékű, nem szignifikáns kezdeti csökkenést enyhe emelkedés követte. Ez tendenciájában parallel változás, de matematikailag nem számottevő, és mindkét csoportban a klinikai normál tartományon (142-424 G/l) belül maradt. A két kezelési csoport között ebben a paraméterben szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk.

#### 4.2.2 ADP indukálta tct aggregáció

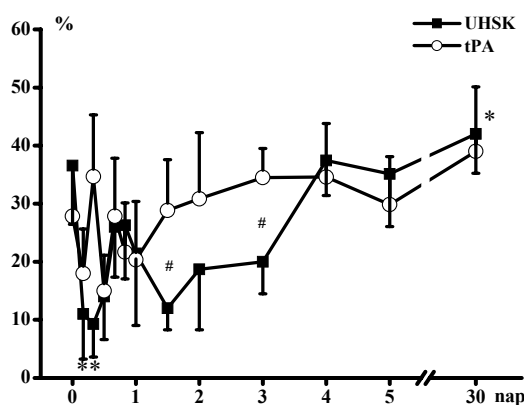
A TL-t megelőzően 4 beteg esetében észleltünk normál tct aggregációt. Az ADP indukálta tct aggregáció az UH-SK csoportban szignifikánsan csökkent a 4. órában, majd növekedett a 24. órában ( $p < 0,02$ ). A tPA csoportban hasonló, de nem szignifikáns változást találtunk (1. ábra). Az utolsó mérési pontban közel normál indukálható aggregabilitást detektáltunk mindkét csoportban.



1. ábra: ADP indukálta tct aggregáció UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=7$ ) kezelt betegeknél (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0

#### 4.2.3 Adrenalin indukálta tct aggregáció

A TL-t megelőzően 5 beteg esetében észleltünk normál tct aggregációt. Az UH-SK csoportban adrenalin induktorral a tct aggregáció csökkenését találtuk a 4. órában, amely a



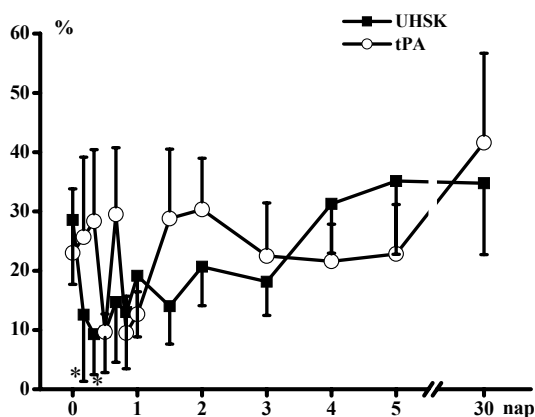
2. ábra: Adrenalinval indukált tct aggregáció UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=7$ ) kezelt betegeknél (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0

8. órában is perzisztált ( $p < 0,03$ ). A tPA-val kezelt betegek körében hasonló, de nem szignifikáns változást észleltünk a 4. órában. A 2. nap után az adrenalinval indukálható tct

aggregáció fokozatosan normalizálódott. A két csoport között szignifikáns eltérést találtunk a 36. órában és a 3. napon ( $p < 0,03$ ) (2. ábra).

#### 4.2.4 Kollagén indukálta tct aggregáció

A TL-t megelőzően 2 beteg esetében észleltünk normál tct aggregációt. Kollagén indukálta tct aggregáció az UH-SK csoportban szignifikáns csökkenést mutat 4. és 8. órában ( $p < 0,05$ ). A 24. órától az aggregáció lassan emelkedett, míg elérte a normál szintet. A tPA csoportban a 4. és 8. órában észlelt enyhe emelkedést a 12. és a 24. órában ismét csökkenés kísérte, majd a 36. órától jelentősen emelkedett és fokozatosan normalizálódott (3. ábra).



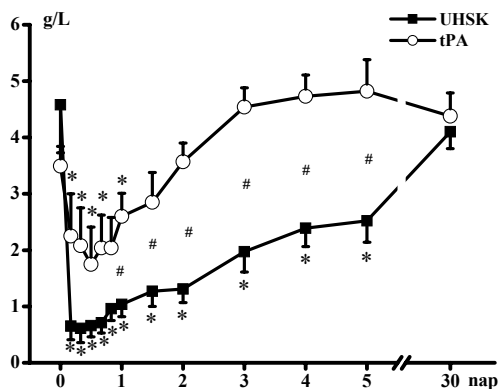
3. ábra: Kollagénnel indukált tct aggregáció UH-SK (■; n=8) és tPA (○; n=7) kezelt betegeknél (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0

#### 4.2.5 Spontán tct aggregáció

Szignifikáns spontán tct aggregációt, amely meghaladta volna a 10%-ot nem találtunk egyetlen mérési pontban egyik kezelési csoport esetében sem.

#### 4.2.6 Fibrinogén szint változása

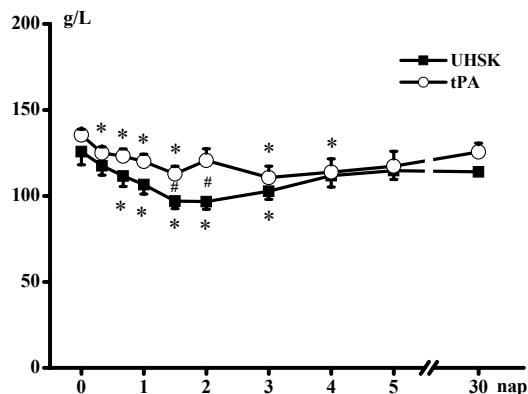
Az UH-SK csoportban a fibrinogén értéke a TL-t megelőzően enyhén meghaladta a normál tartományt (1,7-4,0 g/l), majd a TL-t követően a kezelés utáni 4. napig szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ), mialatt az első 2 napon a normál tartomány alsó szintje alá is süllyedt. A tPA kezelték körében a csökkenés csak az 1. napon volt szignifikáns, és nem süllyedt a normál tartomány alá. Az UH-SK csoportban a tPA csoporthoz képest szignifikánsan alacsonyabb fibrinogén szinteket találtunk a 24. óra és az 5. nap valamennyi mérési pontjában ( $p < 0,05$ ). Fibrinogén értéke az UH-SK csoportban a 30. napra érte el a kiindulási értéket (4. ábra).



4. ábra: Fibrinogén szintek változása UH-SK (■; n=8) és tPA (○; n=7) kezelt betegek között (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0, #  $p < 0,05$  a két csoport közötti eltérést jelzi

#### 4.2.7 Hemoglobin változása

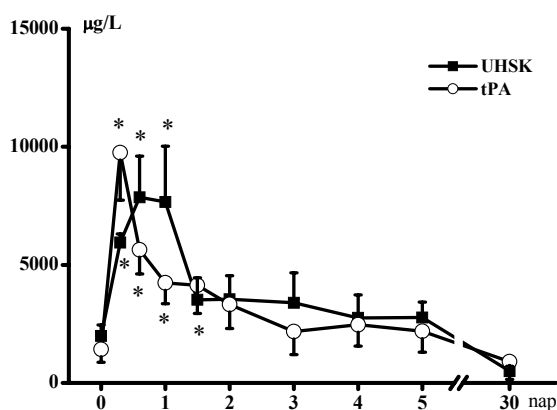
A hemoglobin érték a TL-t követően az UH-SK csoportban a 2. napig szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) csökkent, és a 4. órától a normál tartomány (120-170 g/l) alsó értékét sem érte el. tPA kezelést követően hasonló szignifikáns ( $p < 0,05$ ), de kisebb mértékű csökkenést tapasztaltunk. A 36. órában és a 2. napon szignifikáns különbség mutatkozott a két kezelési csoport között ( $p < 0,05$ ) (5. ábra).



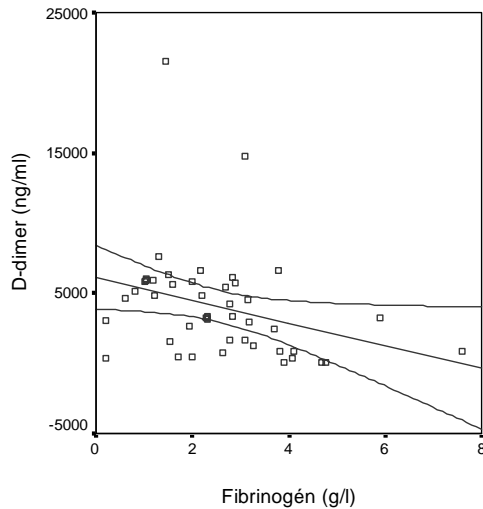
5. ábra: Hemoglobin értékek változása UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=7$ ) kezelt betegek között (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0, #  $p < 0,05$  a két csoport közötti eltérést jelzi

#### 4.2.8 D-dimer értékek változása

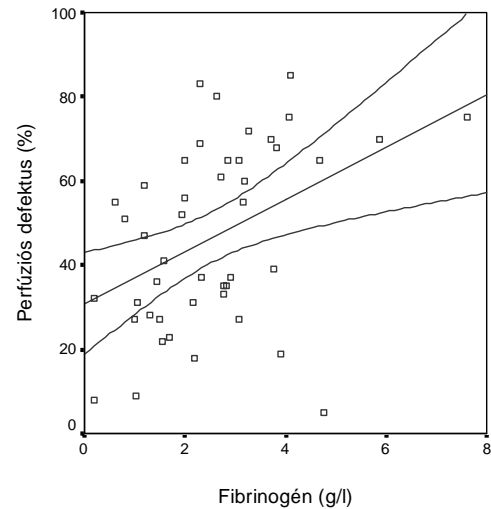
A kórképnek megfelelően mindkét kezelési csoportban a TL-t megelőzően a normál tartományhoz képest ( $< 100 \mu\text{g/l}$ ) jelentősen emelkedett D-dimer értékeket mértünk, melyek a kezelés hatására tovább emelkedtek és egy korai csúcsot értek el a 8. órában a tPA csoportban ( $p < 0,003$ ). Ez az emelkedés ugyanígy szignifikáns ( $p < 0,05$ ), de lassúbb volt az UH-SK csoportban, a maximális értéket a 24. órában érve el. Normalizáció mindkét csoportban csak a 30. napra alakult ki (6. ábra).



6. ábra: D-dimer értékek változása UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=7$ ) kezelt betegek között (mean±SEM). \*  $p < 0,05$  vs. 0.



7. ábra: Negatív korreláció a D-dimer és a fibrinogén értékek között az összes beteg esetében (n=15)



8. ábra: Pozitív korreláció a perfúziós defektus csökkenése és a fibrinogén értékek között az összes beteg esetében (n=15)

A D-dimer koncentráció negatív korrelációt mutat a fibrinogén értékekkel ( $r=-0,462$ ,  $p<0,004$ ) (7. ábra). Hasonló módon szignifikáns, pozitív korrelációt mutat ( $r=0,451$ ,  $p<0,002$ ) a fibrinogén szint és a tüdő perfúziós defektusának százalékban kifejezett értéke (8. ábra).

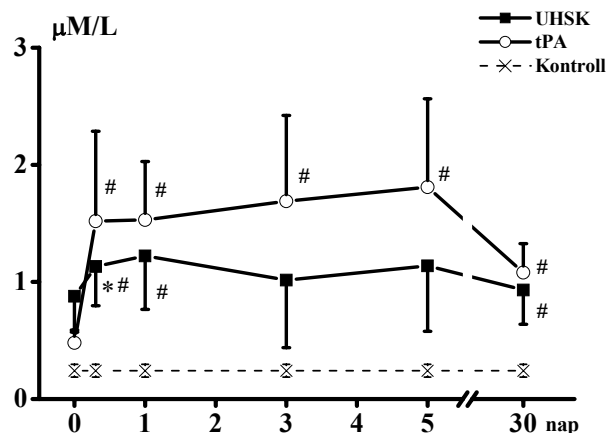
### 4.3. Oxidatív stressz és leukocita aktivációs vizsgálatok eredményei

#### 4.3.1 Fehérvérsejtszám változása

A TL-t követően a fehérvérsejt szám az UH-SK csoportban enyhén emelkedett, majd a 3. naptól csökkenni kezdett, de a normál értéket (4.0-10.0 G/l) csak a 30. napon érte el. A tPA kezelésben részesült betegek esetében a leukocita számban fellépő progresszív csökkenés a 3. naptól szignifikánssá vált ( $p<0,05$ ).

#### 4.3.2 MDA szint változása

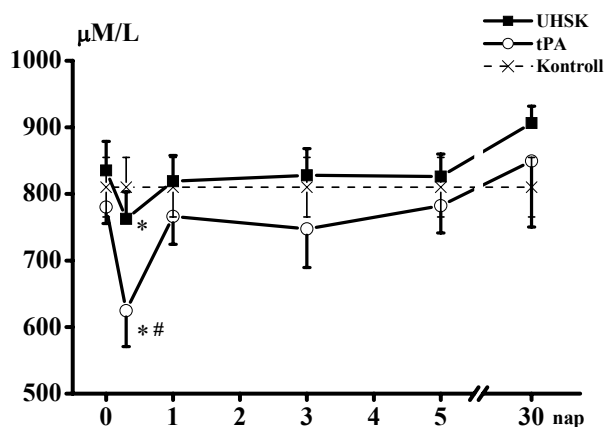
A TL-t követően a plazma MDA szint emelkedett mindkét terápiás csoportban. Ez az emelkedés szignifikáns volt a 8. órában ( $p<0,05$ ) az UH-SK csoportban, míg az első napon a tPA csoportban ( $p<0,05$ ). A plazma MDA érték magas maradt az első 5 napon a tPA kezelteknél (9. ábra).



9. ábra: Plazma malondialdehid szint változása UH-SK (■; n=8) és tPA (○; n=6) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p<0,05$  vs. 0; #  $p<0,05$  vs. kontroll.

### 4.3.3 GSH koncentráció változása

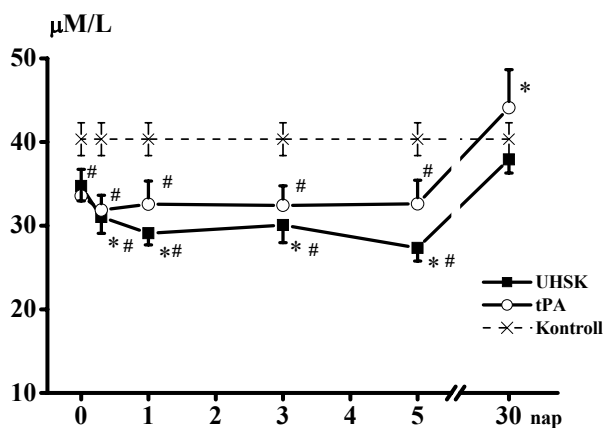
A GSH koncentráció a TL-t követő 8. órában mindkét betegcsoportban szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) lecsökkent a TL előtti értékhez képest. A csökkenés mértéke kifejezettebb volt a tPA csoportban, ahol a 8. órában mért érték szignifikánsan eltért az egészséges populáció átlagához képest (10. ábra).



10. ábra: Teljes vér redukált glutation szint változása UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=6$ ) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p < 0,05$  vs. 0; #  $p < 0,05$  vs. kontroll.

### 4.3.4 A PSH szint változása

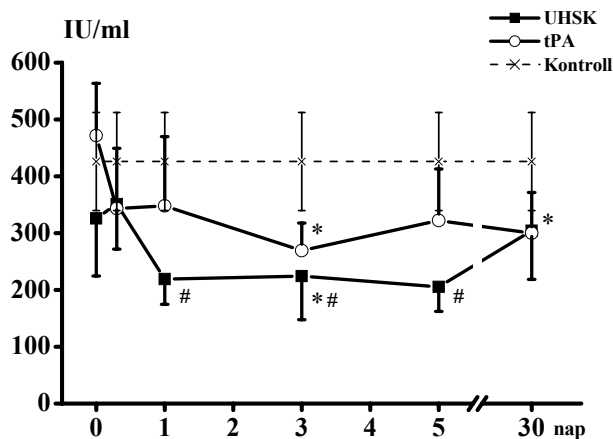
A TL kezelést megelőző PSH szint mindkét betegcsoportban alacsonyabb volt az egészséges populáció átlagánál. TL-t követően mindkét betegcsoportban tovább csökkent a PSH érték, szignifikánsan különbözve az egészségesek átlagától. A csökkenés sokkal markánsabb volt ( $p < 0,001$ ) és tovább tartott az UH-SK kezelésben részesültek esetében. A PSH szintje a 30. napra normalizálódott (11. ábra).



11. ábra: A plazma szulfhidril csoport (PSH) változása UHSK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=6$ ) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p < 0,05$  vs. 0; #  $p < 0,05$  vs. kontroll.

#### 4.3.5 SOD aktivitás változása

A kiindulási értékhez képest a SOD aktivitás mindkét betegcsoportban szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ) a harmadik napra (27. ábra). Az UH-SK kezelt esetében a SOD érték a kezelést követő 1-5. napon szignifikánsan alacsonyabb volt az egészségesek átlagánál (12. ábra).

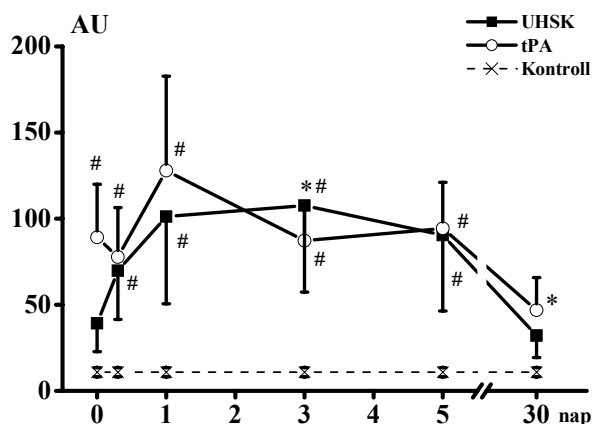


12. ábra: Szuperoxid dizmutáz enzim aktivitás (SOD) változása UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=6$ ) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p < 0,05$  vs. 0; #  $p < 0,05$  vs. kontroll.

#### 4.3.6 Granulocita aktivációs paraméterek

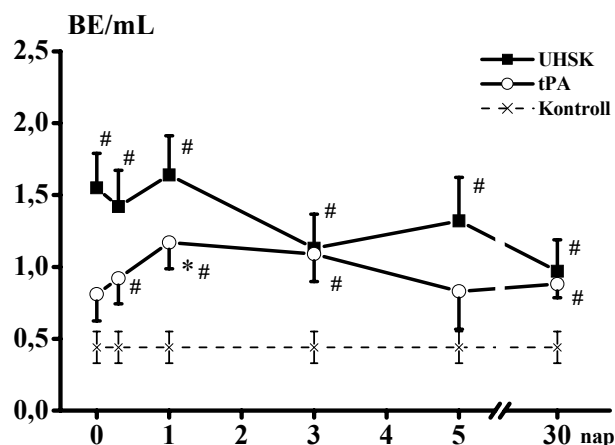
A leukociták kezdeti szabadgyök termelése mindkét betegcsoportban, a vizsgálat első 5 napja során szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) meghaladta az egészségesek átlagát. TL kezelés hatására a kiindulási magasabb érték a tPA csoportban még tovább emelkedett. Ezután lassú csökkenés indult meg, mely a 30. napra szignifikánsan alacsonyabb volt a kezelés előtti értéknél ( $p < 0,05$ ). Az UH-SK csoportban a szabadgyök termelés a 3. napon érte el maximumát ( $p < 0,05$ ) és a 30. napra a kezelés előtti érték alá csökkent (13. ábra).

A plazma MPO enzim aktivitása magasabb volt az UH-SK csoportban és a kezelést követően fokozatosan csökkent az első naptól kezdve. Az MPO aktivitás a tPA csoportban az akut fázisban növekedett, maximumát a TL után az első napon érte el ( $p < 0,05$ ), majd lassan csökkent (14. ábra). Az MPO aktivitás az egészségesek átlagához képest mindkét betegcsoportban szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) magasabb volt a mérési pontok többségében.



13. ábra: PMA stimulálta szabadgyök produkció változása UH-SK (■;  $n=8$ ) és tPA (○;  $n=6$ ) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p < 0,05$  vs. 0; #  $p < 0,05$  vs. kontroll.

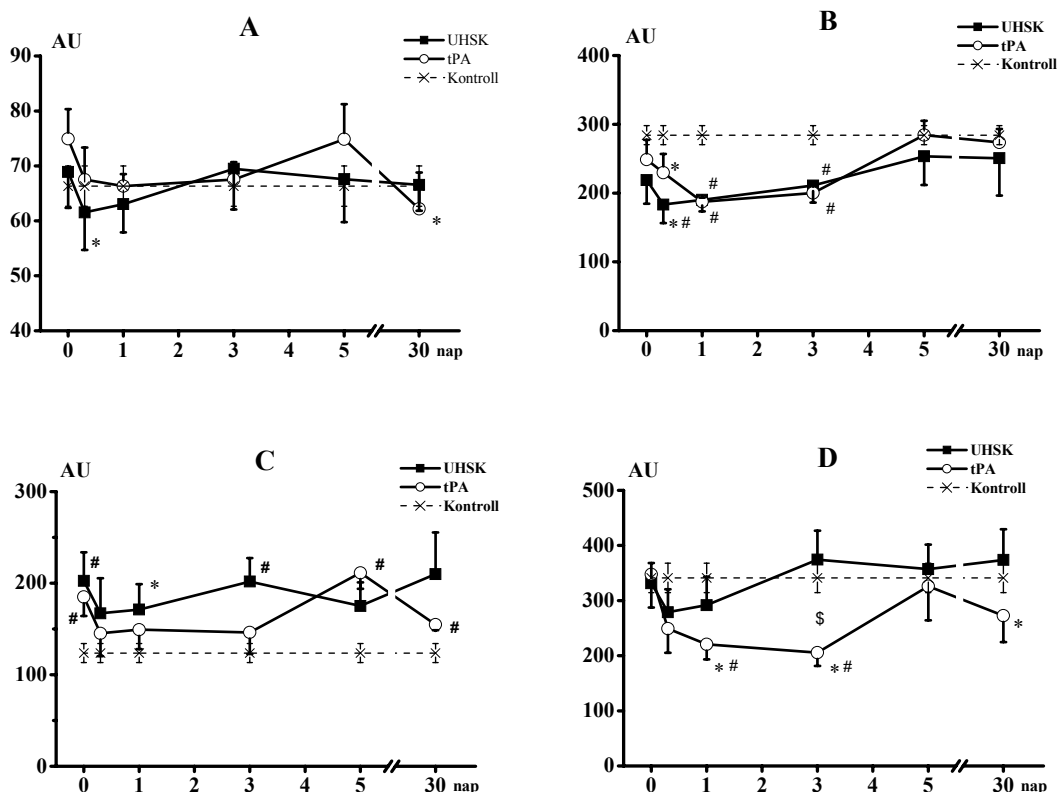




14. ábra: Plazma MPO enzim aktivitás változása UH-SK (■; n=8) és tPA (○; n=6) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \* p<0,05 vs. 0; # p<0,05 vs. kontroll.

#### 4.3.7 A keringő fehérvérsejtek adhéziós molekula expressziója

A sejtfelszíni CD11a and CD18 adhéziós molekulák szintje csökkent a keringő granulociták és monociták felszínén a TL-t követően. Ez a változás szignifikáns (p<0,05) volt az UH-SK kezelt betegek csoportjában. A tPA csoportban CD18 expressziójának csökkenése kifejezettebb és időben elhúzódóbb volt (15. ábra).

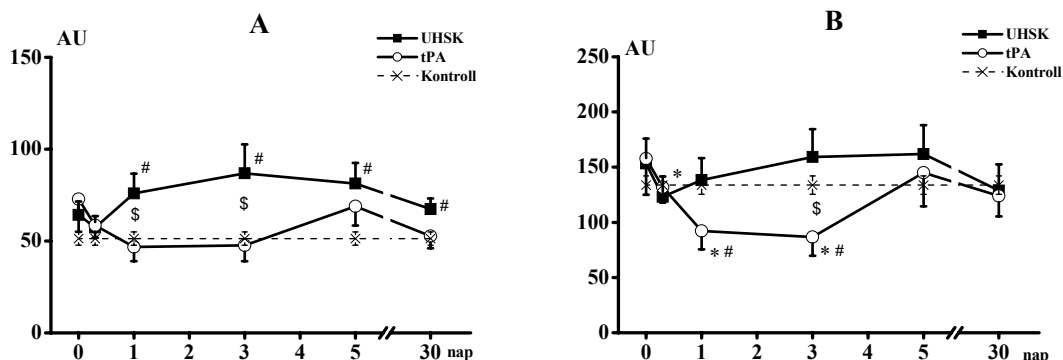


15. ábra: Keringő sejtek adhéziós molekula expressziója:

Granulocita felszín expresszált CD11a (A), CD18 (C) és a monocita felszínén expresszált CD11a (B), CD18 (D) adhéziós molekulák szintjének változása UH-SK (■; n=8) és tPA (○; n=6) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \* p<0,05 vs. 0; # p<0,05 vs. kontroll; \$ p<0,05 két csoport között.

#### 4.3.8 Keringő fehérvérsejtek gyulladási marker expressziója

A fentihez hasonló tendencia észlelhető a granulocita és monocita felszíni gyulladási marker, a CD97 változásában. Szintje a TL-t követő 8. órában mindkét terápiás csoportban szignifikánsan csökkent. Ez a csökkenés sokkal jellemzőbb volt a tPA csoportban ( $p < 0,05$ ) a kezelést követő 3. napon (16. ábra). Az egészséges populáció átlagához képest az UH-SK csoportban az 1-30. napon szignifikánsan magasabb értékeket mértünk ( $p < 0,05$ ).



16. ábra: Keringő sejtek expresszált gyulladási markerek: A granulocita (A) és a monocita (B) felszíni expresszált CD97 szintjének változása az UH-SK (■; n=8) és a tPA (○; n=6) kezelt betegekben (mean±SEM). Szaggatott vonal egészséges kontrollokon mért normál értékeket szemlélteti. \*  $p < 0,05$  vs. 0; #  $p < 0,05$  vs. kontroll.

## 5. MEGBESZÉLÉS

A tüdőembólia patomechanizmusában szerepet játszó tényezők vizsgálatát indokolja, hogy e kórkép a kardiovaszkuláris mortalitás harmadik leggyakoribb oka. A fejlett országokban az éves előfordulási gyakorisága magas, és az életkor előrehaladtával az előfordulás jelentősen nő.

A trombociták fokozott aggregábilításának elsősorban az artériás embolizációban tulajdonítanak fontos szerepet, de napjainkban számos közlemény szerint jelentősége van a vénás tromboembóliás szindróma (VTS) kialakulásában is. Több munkacsoport alkalmasnak találja az acetil szalicilsavat a VTS prevenciójában, sőt kezelésében az antikoaguláció kiegészítéseként, mások azonban cáfolják ezeket a kutatási eredményeket. A masszív/szubmasszív PE trombolízise kapcsán a tct aggregáció mérésével kapcsolatban irodalmi adatokat nem találtunk. A klinikai adatok hiánya és az AMI TL kezelése kapcsán megfigyelt tct aggregációs változások eredményeinek heterogenitása miatt tartottuk fontosnak vizsgálatainkat. Szükségesnek véljük megemlíteni, hogy a masszív/submasszív tüdőembóliás betegek körében randomizált tanulmányt végezni nagyon nehéz. Elengedhetetlennek tartottuk, hogy valamennyi betegünk megfeleljen a bevételi kritériumoknak és lehetőleg ne legyen olyan alapbetegsége, ami befolyásolná akár a tct aggregációs, akár az OS-re vonatkozó méréseinket. Az 1. táblázatban részleteztük, hogy 6 beteg részesült otthonában acetilszalicilsav kezelésben (ezek közül 3 beteg az első aggregometriás mérés alapján nem volt megfelelő terápiás hatásban), egy betegünk sem szedett ADP receptor antagonistát. Feltüntettük a nem szteroid gyulladáscsökkentők krónikus szedését is, mely befolyásolhatja a tct aggregációt. Mivel a tct aggregáció abszolút változását figyeltük a TL-t követően a kiindulási értékhez képest, ezért nem tekintettük a fentieket kizáró tényezőnek. Egyetlen betegünk sem részesült tartós szteroid kezelésben, mely az OS vizsgálatát befolyásolta volna. Moribund, reanimáció kapcsán felvett és túlélési

esélyekkel alig bíró pácienseket nem vontunk be vizsgálatunkba, mindez magyarázza alacsony esetszámunkat.

Feltételeztük, hogy lehetséges a VTS-ban szenvedő betegek körében spontán tct aggregáció, mely a betegség kialakulásában etiológiai tényezőként szerepelhet. Valamint úgy gondoltuk, hogy a TL-t követően a második és az ötödik nap között kialakulhat spontán tct aggregáció, ami az ezen időszakban gyakori reembóliát magyarázhatja. Vizsgálatunkkal egyetlen időpontban és egyik betegnél sem tudtunk kimutatni 10%-ot meghaladó spontán tct aggregációt. Méréseink alapján kimondhatjuk, hogy a spontán tct aggregáció sem a VTS kialakulásában, sem a reembóliában nem játszik szerepet.

A TL-t megelőzően valamennyi induktor esetében csaknem az összes betegnél csökkent tct aggregációt találtunk, melynek valószínű oka a diagnózis felmerülésekor adott heparin, de lehet, hogy egyéb tényezők károsítják a tct aggregációt masszív/szubmasszív PE-ban. Ennek pontos eldöntése csak további nagyobb esetszámú vizsgálatokkal lehetséges.

A TL-t követően az UH-SK csoportban valamennyi induktor esetében szignifikánsan csökkent a tct aggregáció a kiindulási értékhez képest, majd a 36. órára ismét elérte a TL előtti százalékot. Az indukálható tct aggregáció korai rendeződése magyarázhatja, hogy kevesebb vérzéses szövődményt észleltünk a szisztémás TL szövődményeként, mint amennyit az irodalom datál. A tct aggregáció korai, kifejezett csökkenése felelőssé tehető a tudományos közleményekben leírt vérzéses szövődményekért, bár betegeink között akut, masszív hemodinamikai konzekvenciával járó vérzés egy esetben sem lépett fel. Lassú és matematikailag szignifikáns anémizálódás kialakult, mely jól követhető a 5. ábrán. Ennek oka egyrészt az akut szakban alkalmazott intravénás gyors folyadék reszuszcitáció és a későbbiekben az optimális hemoreológiai paraméterek és jó hidrálttság elérése céljából bevitt infúziós kezelés, másrésztől laboratóriumi vizsgálatok céljából levett vérminták okozta veszteség (az első napon minimum 302 ml teljes vér). Mindezek együttesen lassú hemodilúciót eredményeztek, későbbiekben a mintavételezés frekvenciája csökkent, de a 2. és 4. nap között 6 betegünk szorult tervezett transzfúzió adására.

Publikációk szerint a masszív/szubmasszív PE kapcsán végzett TL mortalitása 4,7 és 11,8 % között mozog. A 3-10 éves mortalitást analizálva a halálozás 18 és 33% közötti, melynek elsődleges oka a reembóliázáció. Wan és munkacsoportja randomizált vizsgálatok metaanalízisében elemezte a heparinnal ill. TL-sel kezelt PE-s betegek kimenetelét, melyben Weltermann közleményével megegyezően igen gyakorinak találta a korai, akár fatális kimenetelű reembóliát. Első mérési eredményeink ismeretében felvetettük, hogy összefüggésbe hozható a 12. és 24. óra között normalizálódó tct aggregáció a korai reembóliázációval. Betegeink között azonban egy esetben sem alakult ki reembólia az egy hónapos nyomonkövetési idő alatt. Kiemeljük, hogy valamennyi betegünk TL kezelése sikeres volt, mortalitásról beszámolni az első 5 napos megfigyelési idő alatt nem tudunk.

Számos vizsgálat foglalkozik a tct funkciókkal az AMI-os betegek TL kezelése kapcsán és még szepszisben is elkezdtek humán vizsgálatokat végezni a tct aggregációra és egyéb hemoreológiai paraméterekre fókuszálva. A trombolitikumok tct aggregációra gyakorolt hatásával kapcsolatosan a vélemények megoszlanak. Egyes publikációk a tct aggregáció gátlását, mások azonban épp ellenkezőleg, annak aktiválását írják le. Mindezen vizsgálatok elsődlegesen a myocardialis infarctusos betegek kapcsán folytak, az UH-SK ezirányú hatását egy sem analizálta. Moser és munkatársai reteplase-zal, alteplase-zal és SK-zal kezelt myocardialis infarctusos betegek körében a TL-t követő első és a második órában a tct aggregáció csökkenését találta. Gurbel és munkacsoportja a tct funkciókat (aggregáció és sejtfelszíni receptorok flow citometriás vizsgálta) reteplase-zal és alteplase-zal kezelt szívinfarktusban szenvedő pácienseken analizálta. Vizsgálatai alapján a TL-t követően 4. és 6. órában a tct receptorok expressziójának csökkenése, majd a 12. és 24 óra között az expresszió profúz növekedése volt megfigyelhető. Az általunk végzett tct

aggregációs vizsgálatok a gyakori mérési időpontok alkalmazásával ugyanezen eredményeket igazolták, bár szignifikáns változásokat csak az UH-SK csoportban találtunk. Mindhárom induktorral (ADP, adrenalin és kollagén) történt mérésünk során a tct aggregáció a 4. órától a 12. óráig kritikusan lecsökkent, majd a 24. órában emelkedett, de nem érte el a kiindulási értéket. Ezt a javulást egy ismételt, sokkal enyhébb aggregáció csökkenés követte, majd a 3. napon érte el a tct aggregáció a TL-t megelőző értéket. A tPA csoportban mindezen változások nem voltak szignifikánsak, ADP és adrenalin esetében az UH-SK csoporthoz hasonlóan a 4. órában csökkenést, a 8. órában a kiindulási értéket is meghaladó emelkedést találtunk, majd a 12. órában ismételt enyhe csökkenés lépett fel. A kollagénnel indukált tct aggregáció a TL-t követő első két mérési időpontban enyhe emelkedést mutat, majd a 12. órában jelentős csökkenést. Ezt követően a 36. órától a TL-t megelőző tct aggregációs értékeket mértük. Bár a tPA betegcsoport eredményeinek változása nem szignifikáns, de elmondhatjuk, hogy Moser és Gurbel által közölt csökkenés a 4. órában itt is jellemző. Kiemeljük, hogy Gurbellel ellentétben mi profúz növekedést a TL-t követően nem találtunk.

Korbut és munkatársai szerint a tct-ák jelentős szerepet játszanak a plazma fibrinolitikus aktivitásának közvetítésében. Méréseik alapján a SK és tPA tct aktivációhoz vezet a TL-t követően, amely felelős lehet a korai reokklúzióért. Vizsgálatunkat ezzel az eredménnyel összehasonlítva valóban találtunk a tPA csoportban az első 48 órában a TL-t megelőzőnél fokozottabb aggregációs értékeket, ezek időpontja azonban nem homogén, és egy esetben sem haladja meg a normálnak megadott ( $\geq 50\%$ ) értéket. Kimondhatjuk, hogy Korbut eredményeit méréseink nem erősítették meg, reembólia pedig nem lépett fel betegeink körében.

Agnelli és munkatársai igazolták, hogy a tPA folyamatos adása a vérzéses komplikációkat fokozza, szemben az egyszeri bólusban alkalmazott TL-hez képest. Ennek oka szerintük, hogy az egyszeri dózis esetében minimálisra csökken az az idő, amíg a trombolitikum hatást gyakorol a hemosztatikus rendszerre, ezzel redukálódik a szisztémás litikus státusz ideje és csökken a tct funkciókra gyakorolt depresszív hatás is.

Martin a SK-zal kapcsolatban hasonló konklúzióra jutott mind a SK szérumszintjének vizsgálatát, mind pedig az UH-SK-zal végzett TL-t követően a plazminogén és fibrinogén szinteket illetően. A hemosztatikus rendszerre történő hatást közvetett módon a tct aggregációs vizsgálatok mellett a fibrinogén szintek elemzésével tudtuk nyomonkövetni. Plazminogén mérésre csak naponta egy, maximum két alkalommal van mód klinikánkon, ezért gyors változások elemzésére így nem lett volna alkalmas vizsgálata. Mindkét terápiás csoportban a rövid bólusban alkalmazott trombolitikus szert követően a fibrinogén szint jelentősen csökkent. Ez a változás a tPA csoportban nem volt szignifikáns és a fibrinogén szint a 24. órától kezdve emelkedni kezdett, majd a 2. napon elérte a TL-t megelőző értéket. Ezzel szemben az UH-SK csoportban a TL megkezdését követően már a 4. órában kritikus csökkenést detektáltunk és a fibrinogén szint csak a 3. napon érte el a normál laboratóriumi érték alsó határát (1,7 - 4 g/l). A két kezelt csoport között a 24. órától az 5. napig szignifikáns különbséget észleltünk. Fenti eredményeinkből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az UH-SK kezelés hosszabb ideig és sokkal kifejezettebben ledálja a hemosztatikus rendszert, jobban csökkenti a fibrinogén szintet, ennek okaként a két szer eltérő farmakológiai hatása, a SK nem fibrinspecifikus volta tehető felelőssé. Véleményünk szerint magyarázható ezzel az UH-SK kezelés esetében a tct aggregációban kialakult szignifikáns csökkenés is, hiszen a fibrinogén receptoroknak jelentős szerepük van a normál aggregációs folyamatokban. Kiemelnénk, hogy az UH-SK csoportban sem tapasztaltunk súlyos vérzéses szövödményt, melyért az alacsony fibrinogén szint lenne felelős.

Céljaink között szerepelt, hogy találjunk egy olyan gyors laboratóriumi paramétert, mely jól jelzi invazív vizsgálat nélkül is a TL effektusát. Logikusan következett, hogy a

sikeres TL-t a fibrin degradációs produktum jelentős megemelkedése követi. A D-dimer szintek 8 óránkénti analízise mindkét csoportban már az első mintavételkor erősen szignifikáns emelkedést mutatott, majd értéke ettől kezdve az 5. napig fokozatosan csökkent. Ez az emelkedés a tPA csoportban korábban jelentkezett és kifejezettebb volt. Az UH-SK csoportban ugyanez a változás elhúzódóbb volt, melyet a két szer eltérő hatássebességével magyarázhatunk. Korreláció analízissel azonban szignifikáns összefüggést a D-dimer változása és a TL-t követő tüdőperfúzió százalékban megadott javulása között nem találtunk. Ugyanezen relációban a fibrinogén változás és a perfúziós javulás között erős szignifikancia mutatkozott ( $r= 0,451$ ,  $p=0,002$ ). A D-dimer és a fibrinogén értékek elemzésekor ugyancsak kifejezett szignifikáns negatív korrelációt észleltünk ( $r=-0,462$ ,  $p=0,004$ ). Eredményeink alapján úgy tűnik a fibrinogén szint változása jól alkalmazható marker a TL eredményességének akut felmérésére.

A szubtotális PE trombolízissel történő kezelése során az OS kialakulását és a leukocita aktivációt ismereteink szerint mindeddig nem vizsgálták, bár a reperfúziós kórképek patomechanizmusa alapján feltételezhető e folyamatok megléte. Tüdőembólia során a pulmonális artériák részleges, vagy teljes elzáródása következtében a tüdőn átáramló vér mennyisége kritikusan esik, ezért a bal kamra töltővolumene lecsökken, megnő a jobb kamra utóterhelése. A pulmonális hipertónia progrediál, az intrapulmonális sőnt keringés kialakulása következtében artériás hipoxia és oxigénszaturáció-esés jön létre. Az akut tüdőembólia kezelés nélkül a keringés összeomlásához vezethet. A PE egyik kezelési módja lehet a TL, mely a korábban hipoxiás és iszkémiás szövetek reoxigenizációjához, illetve reperfúziójához vezet.

Közismert azonban, hogy a hipoxia-reoxigenizáció, illetve az iszkémia-reperfúzió oxidatív stresszt indukál, melynek során megbomlik a szervezetben folyamatosan képződő oxigén eredetű szabad gyökök és az azokat hatástalanító endogén antioxidánsok egyensúlya. Iszkémia, illetve hipoperfúzió során az érintett szövetekben katabolikus folyamatok zajlanak le, az intracelluláris kalcium szint megemelkedik, ami lebomlási folyamatok beindulásához vezet. A keringés helyreállítását követően az újból nyitottá váló rendszerben megnő az oxigén kínálat és a xantinoxidáz enzim hatására a reperfúzió során nagy mennyiségű szuperoxid gyök keletkezik, mely a reperfúzió által indukált gyöktermelés egyik elsődleges forrása. A megemelkedett intracelluláris kalcium szint másik hatása a foszfolipáz C aktiválódása, ami a sejtmembránból arachidonsavat szabadít fel, mely a lipoxigenáz, illetve ciklooxigenáz úton számos fontos mediátor keletkezéséhez vezet. A tct aktiváló faktor, a tumornekrózisfaktor-alfa, a leukotrién B<sub>4</sub> fokozott szintézise neutrofil granulocita aktivációt vált ki, melynek során a granulociták külső membránjában jelenlévő NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát) oxidáz enzim aktiválódik, és ugyancsak nagy mennyiségben termel szuperoxid gyököket. A granulocita aktiváció MPO enzim felszabadulással jár. A leukocita aktiválódást felszíni adhéziós molekula expresszió kíséri, melynek következtében a leukociták többlépcsős mechanizmusban végiggördülnek az endotélium felszínén, majd gyulladáshoz vezető mediátorok hatására stabilan kitapadnak és az extracelluláris térbe vándorolnak. A kitapadásban és migrációban a  $\beta 2$  integrinek, a CD11a/CD18, CD11b/CD18 játszanak meghatározó szerepet. Az erek falához kitapadó, a trombocitákkal együtt aggregálódó leukociták mikrocirkulációs zavart, ezen keresztül szöveti károsodást idéznek elő.

Munkánk során a PE trombolízisét kísérő OS és leukocita aktiváció mértékét vizsgáltuk, választ kerestünk arra, hogy mutatkozik-e különbség az egyes trombolitikus szerek OS-re és leukocita aktivációra gyakorolt hatásában.

A két kezelési csoportba randomizált betegek demográfiai adataiban, a PE súlyossági fokának tekintetében nem volt szignifikáns különbség, melyet az 1. táblázatban foglaltunk

össze. Az állapot súlyossági és prognosztikus SAPS II score értékek csaknem azonosak voltak. Ugyanolyan arányban fordult elő súlyos, reanimáció közeli állapotot okozó shock is. A tromboemboliára hajlamosító anamnesztikus adatok elemzésekor gyakoribbnak találtuk az UH-SK csoportban a MVT-t és a megelőző tartós diuretikum szedést. Ez alátámasztja azt az ismert irodalmi adatot, hogy a diuretikummal kezelt betegek körében gyakoribb a MVT és a következményes PE. Nem mutatkozott szignifikáns különbség a magas vérnyomás, diabetes mellitus, tüdőbetegség, szívelégtelenség, ritmuszavar, dohányzás, antikonceptív szedés, visszérbetegség, orális antikoaguláció kezelésben a két csoport között. A tromboembóliák kialakulásában a magasvérnyomás-betegség fontos etiológiai szerepére utal az a megfigyelésünk, hogy mindkét betegcsoportban jelentős számban fordultak elő kezelt hipertóniások, melyre az ezirányú irodalmi elemzések nem fektetnek megfelelő hangsúlyt.

Nem mutatkozott szignifikáns különbség a vérzéses szövődményekben és az alkalmazott transzfúzió mennyiségében sem a két csoport között.

A fehérvérsejt szám mindkét betegcsoportban emelkedett szintű volt a TL-t megelőzően, mely a PE-t kísérő általános gyulladási folyamat létére utal. A kezelés hatására a fehérvérsejt szám az első naptól kezdve folyamatosan csökkent, és a 30. napon mindkét csoportban normalizálódott. Az eredmények között részletesen nem ismertetett, de a gyógyulási folyamatban játszott szerepük miatt szükséges megjegyezni, hogy a keringő monociták száma a TL-t követően átmenetileg lecsökkent, majd a 3-5. napon jelentősen megemelkedett mindkét típusú kezelést követően, ami a monociták gyulladási folyamatban játszott jelentős szerepére utal.

A vizsgálatba bevont betegek klinikai állapotát a kórházba érkezésüket megelőzően kialakult PE következtében keringési instabilitás, hipoperfúzió, hipoxia és részleges iszkémia jellemezte, mindez az oxidatív stressz meglétére utal. Ezt a feltételezést támasztja alá a betegek vérmintáiban mért emelkedett MPO és SOD enzim aktivitás, a lipidperoxidációs marker, az MDA emelkedett szintje és a szulhidril csoportok valamint az endogén antioxidáns, a GSH csökkent szintje és a fehérvérsejtek emelkedett szabadgyök termelő kapacitása. Mivel vizsgálatunk eredményeit összevetettük egészséges kontrollokból vett vérminták eredményeivel is, mindezek alapján egyértelműen kimondhatjuk, hogy az akut masszív/szubmasszív PE fokozott oxidatív stresszel és leukocita aktivációval jár.

Az effektív TL hatására az OS még tovább fokozódott, mely a lipidperoxidációs marker MDA szint további megemelkedésében, az endogén antioxidáns GSH és szulhidril csoportok csökkenésében, valamint a fehérvérsejtek gyöktermelésének fokozódásában tükröződött. Az OS fenti markereinek időbeli alakulásából levonható az a következtetés, hogy a PE-t követő TL során a gyógyulási folyamat a beavatkozást követően hosszabb időt vesz igénybe, mivel a vizsgált paraméterek normalizálódása a legtöbb értéket tekintve az 5-30. nap között következett be. Az OS markereinek tPA kezelést követő nagyobb mértékű változása e szer intenzívebb és gyorsabb rögzítő hatása következtében kialakuló sokkal jelentősebb és intenzívebb reperfúziós károsodásra utal. Úgy gondoljuk, hogy ezen eredményeink alapján a tPA kezeléstől a tüdőkeringés gyorsabb helyreállítása várható, mely adott esetben a kritikus állapotú betegnek rövidebb hipoxiás periódust és hemodinamikai instabilitást jelent, így életmentő lehet.

Vizsgálataink másik fő megfigyelése, hogy a PE TL-sel történő kezelése átmenetileg csökkent a  $\beta 2$  integrinek (CD11a, CD18) és a gyulladási marker CD97 expresszióját a keringő granulociták és monociták felszínén. Ez a csökkenés tPA kezelést követően nagyobb a CD18 és CD97 esetében, és a monocitákon még a TL-t követő 3. napon is szignifikáns mértékű. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy TL-t követően az érett, aktívabb sejtek kitapadnak az endotéliumhoz és a reperfundált szövetekbe vándorolnak. A keringésből kikerülő granulociták és monociták azonban továbbra is hozzájárulnak a

gyulladásos folyamatok fenntartásához. A kitapadó monociták ugyanis nagy számú pro- és antiinflammatorikus citokint termelnek, melyek a későbbi gyógyulási folyamatot szabályozzák, a granulocitákból pedig reaktív oxigén gyökök és szövetkárosító enzimek szabadulnak fel. A kitapadásra utaló MPO enzim TL utáni emelkedését eredményeink is igazolni látszanak. Az aktiválódott granulociták kitapadási hajlama különösen nagy a tüdőszövetben. A tPA kezelés hatására létrejövő jelentősebb mértékű sejtfelszíni antigén expresszió csökkenéshez hozzájárulhat még az a megfigyelés, mely szerint az endotéliumban termelődő szöveti típusú plazminogén aktivátor gátolja az adhézións molekula expressziót a keringő sejteken. A SK és a tPA adhézións molekulák változására kifejtett eltérő hatása az AMI-son átesett betegek TL kezelése során is igazolódott.

A tPA kezelést követő 8. napon szívinfartusban elhunyt beteg adatait vizsgálva számos OS paraméter abszolút értéke feltűnően különbözött, vagy ellentétes irányban változott mindkét betegcsoport átlagától. Emiatt e beteg vérmintáiból mért értékeket nem vettük figyelembe az tPA kezelt betegcsoport átlagának kiszámításakor. E beteg esetében a kiemelkedően magas plazma MDA szint, az emelkedett plazma MPO aktivitás, a fehérvérsejtek rendkívül alacsony felszíni adhézións molekula szintje felveti, hogy a mért paraméterek prediktív értékűek lehetnek a kórfolyamat kedvezőtlen irányú változásában.

Klinikai vizsgálataink új adatokat szolgáltatottak a PE és trombolitikus kezelésének leukocita aktivációra kifejtett hatásáról. Eredményeinkből összefoglalóan megállapítható, hogy a szubmasszív/masszív pulmonális embóliát OS és leukocita aktiváció kíséri, és mindkettő fokozódik a TL után. A markerek változása az egyes terápiás sémák esetében eltérő, így új lehetőség nyílik a trombolitikumok hatékonyságának, farmakokinetikájának összehasonlítására.

Az OS és a leukocita aktiváció markereinek normalizálódása időben elhúzódóak, így a reperfüzió sikerességének gyors nyomonkövetésére alkalmatlanok.

Vizsgálatunk egyetlen limitációja az alacsony esetszám, bár az előzetes statisztikai kalkulációknak mindenben megfelel. A karakterisztikus és számos esetben igen szignifikáns változások ellenére a kis esetszám miatt vizsgálatunkat csak kellő óvatossággal szabad értékelni. A masszív/szubmasszív PE TL-t kísérő patomechanizmus részletes tisztázása további, több évig elhúzódó adatgyűjtést és elemzést igényel.

## **6. TÉZISEK**

1/ Megállapítottuk, hogy a betegség kialakulásában kórokként szereplő vagy a korai

reembóliát magyarázó spontán trombocita aggregáció nem lépett fel a masszív/szubmasszív PE-ás betegek körében.

2/ Megállapítottuk, hogy az indukálható trombocita aggregáció mindkét terápiás csoportban a normál értéknél alacsonyabb volt a TL előtt, majd azt követően tovább csökkent. E változás az UH-SK csoportban szignifikáns volt, míg a tPA csoportban a hasonló tendencia ellenére szignifikáns eltérést nem találtunk. A trombocita aggregáció normalizálódása a tPA csoportban korábban következett be. Eredményeink azt mutatják, hogy maga a masszív/szubmasszív PE és az alkalmazott trombolitikus terápiás eljárások károsítják a trombocita funkciókat.

3/ Az irodalomban részletezett vérzéses szövődmények és a trombocita aggregáció csökkenése között összefüggést nem találtunk, mivel mindhárom induktor alkalmazásakor a trombocita aggregáció gyorsan és jelentősen csökkent mindkét kezelési csoportban, ugyanakkor betegeinknél hemodinamikai jelentőséggel járó vérzést nem észleltünk.

4/ Az irodalom által taglalt SK és tPA által kiváltott jelentős tct aggregáció fokozódás egy esetben sem lépett fel, ezért a reembólia és a tct aggregáció fokozódása között nem tartjuk valószínűnek az összefüggést. Vizsgálatunkban egyetlen betegnél sem lépett fel reembólia.

5/ A PE reperfüziója során a fibrinogén szint csökkenése szignifikáns korrelációt mutat a tüdőperfúzió javulásával, ezek alapján a fibrinogén szint változása jól alkalmazható marker a TL eredményességének akut felmérésére.

6/ Megállapítottuk, hogy valamennyi vizsgált masszív/szubmasszív PE-ás beteg esetében a TL előtt fokozott oxidatív stressz állt fenn az egészséges populációhoz képest.

7/ Igazoltuk, hogy TL-t követően az oxidatív stressz és a leukocita aktiváció még kifejezettebb, és e paraméterek csak a 30. napra normalizálódnak.

8/ A két trombolitikus szer hatására mind az időben, mind pedig a változás mértékét illetően eltérő fokú oxidatív stressz és leukocita aktiváció alakult ki, mely tükrözheti az alkalmazott trombolitikum hatásosságát.

9/ A TL sikerességének megítélésére az oxidatív stressz és a leukocita aktiváció markerei, mint gyors laboratóriumi módszer nem tűnnek alkalmasnak, mivel normalizálódásuk időben elhúzódó.



## 7. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI

### A szerző értekezéssel kapcsolatos publikációi

Impact factor:

#### Közlemények:

**Mühl D**, Sárosi I, Udvaros E: Nagykiterjedésű tüdőembólia tünetei, diagnosztikája és sürgősségi ellátása. *M Mentésü* XXIV. évf 2004; **1**: 23-31.

**Mühl D**, Füredi R, Cristofari J, Ghosh S, Bogár L, Borsiczki B, Gasz B, Róth E, Lantos J: Evaluation of oxidative stress in the thrombolysis of pulmonary embolism. *J Thromb Thrombolys* 2006; **22**(3): 221-228 **1,155**

**Mühl D**, Füredi R, Gecse K, Ghosh S, Falusi B, Bogár L, Róth E, Lantos J: The time course of platelet aggregation during thrombolytic treatment of massive pulmonary embolism. *Blood Coagul Fibrin* 2007; **18**(7): 661-667 **1,370** (2006)

**Mühl D**: A keringés betegségei: Pulmonalis embolia 4.4.3 fejezet. *Aneszteziológia és intenzív terápia. Medicina Könyvkiadó Zrt.* 2007 (Könyvfejezet. Kiadás alatt)

Sárosi I, **Mühl D**, Battyányi I, Horváth L, Nemessányi Z: Subtotalis pulmonalis embóliás betegünk ultranagy-dózisú thrombolyticus kezelése. *Aneszteziol Intenz Ter* 1994; **2**: 97-103

Sárosi I, Bogár L, Tekeres M, **Mühl D**, Kéri Gy, Battyányi I, Horváth L: A pulmonalis embóliák felosztása az érelzáródások száma, a perfúziós defektusok nagysága és a klinikai kép kialakulása alapján. *Aneszteziol Intenz Ter* 1995; **25** (1): 7-15

Sárosi I, Bogár L, **Mühl D**, Battyányi I, Horváth L, Nemessányi Z: Klinikai halálhoz vezető nagykiterjedésű tüdőembóliák kezelése. *Orv Hetil* 1995; **136**. **20**: 1049-1054

Sárosi I, **Mühl D**, Bogár L, Battyányi I, Horváth L, Nemessányi Z: Nagykiterjedésű tüdőembóliák kezelési lehetőségei, mint a Trendelenburg-műtét alternatívái. *Orv Hetil* 1995; **136**. **47**: 2553-2559

Sárosi I, **Mühl D**, Tekeres M, Debreceni G, Kónyi A, Szabó A, Farkasfalvi K, Battyányi I, Horváth L: Életmentő thrombolysis - a kontraindikációk tükrében. *Orv Hetil* 1997; **138**. **49**: 3105-3109

Sárosi I, **Mühl D**, Tekeres M, Bogár L, Battyányi I, Horváth L, Nemessányi Z, Zámbo K: What to do in 1998? The urgent lifesaving non-surgical treatment of subtotal pulmonary embolism. *XIII. World Congress of Cardiology*. Copyright by Monduzzi Editor S.p.A.-Bologna (Italy): International Proceedings Division 1998; 1019-1023

Sárosi I, **Mühl D**, Erményi Á, Zámbo K, Batthányi I: Az acut masszív pulmonalis embólia intenzív osztályos kezelése. *Medicina Thoracalis* 2000; **53**: 51-54.

---

2,525

#### Témához kapcsolódó citálható absztraktok:

Sárosi I, **Mühl D**, Battyányi I, Horváth L: Nagykiterjedésű pulmonalis embóliák acut kezelése és localis thrombolysise. *Aneszteziol Intenz Ter* 1992; Előadáskivonatok: 21

Sárosi I, Bogár L, **Mühl D**, Battyányi I, Horváth L, Nemessányi Z: Short-term ultrahigh dose thrombolytic treatment in 7 patients with subtotal pulmonary-embolism. *Thromb Haemostasis* 1995; **73**(6): 1107 **4,582**(1997)

**Mühl D**, Sárosi I, Erményi Á, Molnár T, Tekeres M, Zámbo K: Systemic thrombolysis of extensive pulmonary embolism in the early postoperative period. Is it really a severe risk? *Anasth Intensiv Notf* 1999; **34** (Suppl:2) 128 **0,473**

**Mühl D**, Sárosi I, Erményi Á, Zámbó K: Subtotalis tüdőembólia differenciáldiagnosztikai problémái-tanulságos esetek intézetünkben. *Aneszteziol Intenz Ter* 2000; Előadás-kivonatok: 32

**Mühl D**, Sárosi I, Heigl P, Zámbó K: Diagnostical problems in subtotal pulmonary embolism- interesting case reports. *Anaesth Intens Care: The Emerging Discipline*, 2001. *Suppl. W11*, 23. 0,843

**Mühl D**, Sárosi I, Heigl P, Zámbó K: Diagnostical problems in subtotal pulmonary embolism- interesting case reports. International Symposium on Progress in Cardiovascular Diseases (Italian Federation of Cardiology), 2001. *Book of Abstracts*: 61

**Mühl D**, Sárosi I, Nagy K., Bogár L: Halálhoz vezető tüdőembólia-sikeres reanimáció ultrahigh dózisú streptokinase adásával. Magyar Kardiológusok Társasága és a Magyar Tüdőgyógyász Társaság kardiopulmonalis munkacsoportjának tudományos ülése, 2002. *Előadás kivonatok*: 24

**Mühl D**, Nagy K, Füredi R, Szabó P: Összefügg-e a thrombocyt (TCT) funkciók és a haemostaseológiai paraméterek változása a vérzéses szövődmények gyakoriságával tüdőembólia vérrögoldó kezelésében? A Magyar Kardiológus Társaság és a Magyar Tüdőgyógyász Társaság Kardiopulmonalis Ülése, Kiskunhalas, 2003. *Összefoglalók*: 13

**Mühl D**, Füredi R, Szabó P: Thrombocyt (TCT) funkciók és hemostaseológiai paraméterek változása ultra-high dózisú streptokinase (UH-SK) kezelésében. *Aneszteziol Intenz Ter* **33**, 2003; *Suppl*: 1, 27-28

Lantos J, **Mühl D**, Gasz B, Borsiczky B, Bogár L, Róth E: Oxidative Stress and Leukocyte Activation Following Thrombolysis in Pulmonary Embolism. *Eur Surg Res* 2004; **36** (Suppl 1): 134 0,903

**Mühl D**, Füredi R, Lantos J, Gasz B Borsiczky B, Róth E, Bogár L: Oxidatív stressz a subtotalis pulmonalis embólia (PE) thrombolyticus kezelése során. *Cardiol Hung* 2004; *Suppl*: C, 34: C83

Füredi R, **Mühl D**, Szabó P, Bogár L: Thrombocyt (TCT) funkciók változása subtotalis pulmonalis embólia thrombolyticus kezelésekor. *Cardiol Hung* 2004; *Suppl*: C, 34: C67

**Mühl D**, Lantos J, Füredi R, Szabó P, Gasz B: A subtotalis pulmonalis embólia (PE) thrombolyticus kezelése és az oxidatív stressz. *Aneszteziol Intenz Ter* **34**, 2004; *Suppl*: 2, 32

Füredi R, **Mühl D**, Szabó P, Bogár L: Rögoldó kezelés hatása a thrombocyt (TCT) funkciókra masszív tüdőembóliában. *Aneszteziol Intenz Ter* **34**, 2004; *Suppl*: 2, 43.

Füredi R, **Mühl D**, Lantos J, Gasz B, Róth E, Bogár L: Pulmonary embolism (PE), thrombolysis and oxidative stress. Rudolf Kucher Lecture 4<sup>th</sup> International Danube Symposium Austrian Internat. Congr., *Anaesth Intens Care News*, 2004 (Suppl 2); **54**: 84 (best of abstarcts) 0,843

**Mühl D**, Füredi R, Szabó P, Bogár L: How does platelet function (PF) alterate during thrombolysis? Rudolf Kucher Lecture 4<sup>th</sup> International Danube Symposium Austrian Internat. Congr., *Anaesth Intens Care News*, 2004 (Suppl 2); **54**: 86 0,843

Lantos J, **Mühl D**, Füredi R, Gasz B, Borsiczky B, Bogár L, Róth E: Pulmonalis embólia trombolízisét kísérő oxidatív stressz és leukocita aktiváció vizsgálata. *Érbetegségek*, 2005 (Suppl 1): 6

Lantos J, **Mühl D**, Gasz B, Borsiczky B, Füredi R, Bogár Lajos, Róth E: Leukocita gyulladásos markerek változása pulmonális embólia trombolitikus kezelése során. *Cardiol Hung* 2005; *Suppl*: A, 35: A88

**Mühl D**, Füredi R, Gecse K, Cristofari J, Lantos J: Thrombolytikumok hatása a thrombocyt funkciókra masszív pulmonalis embóliában. *Cardiol Hung* 2005; *Suppl*: A, 35: A89

Füredi R, **Mühl D**, Lantos J Gasz B, Bogár L, Róth E: A pulmonalis embólia trombolitikus kezelésére adott szisztémás gyulladásoos válasz a leukocita aktiváció tükrében. *Aneszteziol Intenz Ter* **35**, 2002; Suppl: 2, 14

**Mühl D**, Füredi R, Gecse K, Bogár L, Gasz B, Lantos J: Hogyan változik a thrombocytá aggregatio és a fibrinogen szint különböző thrombolytikumok hatására pulmonalis embóliában? *Aneszteziol Intenz Ter* **35**, 2002; Suppl: 2, 14-15

**Mühl D**, Füredi R, Gecse K, Bogár L, Lantos J: Platelet function (PF) and thrombolytics in massive pulmonary embolism (PE). 4th International Meeting on Intensive Cardiac Care, Tel Aviv, Israel, *Book of Abstracts*: 87 (P041) (<http://www.cardiac-care2005.com>)

Füredi R, **Mühl D**, Cristofari J, Gasz B, Lantos J: Leukocytá inflammation markers during reperfusion due to thrombolysis off pulmonary embolism (PE). 4th International Meeting on Intensive Cardiac Care, Tel Aviv, Israel, *Book of Abstracts*: 88 (P042) (<http://www.cardiac-care2005.com>)

Gecse K, **Mühl D**, Cristofari J, Bogár L, Füredi R, Lantos J: Masszív pulmonalis embólia streptokinase és alteplase kezelésének hatására bekövetkező thrombocytá aggregatio változás. *Cardiol Hung* 2006; Suppl: A, 36: A37

Cristofari J, **Mühl D**, Gecse K, Füredi R, Lantos J: Masszív pulmonalis embólia streptase és alteplase kezelése és az oxidatív stressz. *Cardiol Hung* 2006; Suppl: A, 36: A34

Lantos J, Csontos C, **Mühl D**, Kürthy M, Bogár E, Róth E: Monitoring of phagocyte function during treatment of critically ill patients: respiratory burst and adhesion molecule expression. 2<sup>nd</sup> European workshop on the analysis of the phagocyte functions, Krtiny, Czech Republic 2006. 06. 15-17. *Book of Abstracts* : 14

---

8,487

#### A szerző egyéb publikációi

Impact factor:

**Mühl D**, Kosztolányi Gy: Hajlamosító tényezők obstructív bronchitisben. *Gyermekgyógyászat* 1984; **35**: 295-300.

**Mühl D**, Farkasfalvi K: Az agyhalál orvosi, etikai és jogi kérdései. *Orv Hetil* 1994; 135. 7: 383-384

**Mühl D**, Farkasfalvi K: A Landeskrankenhaus Graz, Aneszteziológiai és Intenzív Terápiás Klinikáján folytatott neuroanestéziái gyakorlat. *Orv Hetil* 1994; 135. **13**: 717-719

**Mühl D**, Schwarz G, List W: A kiváltott agyi potenciál vizsgálata: újabb diagnosticus lehetőség az intenzív therápiában (esetismertetés). *Aneszteziol Intenz Ter* 1995; **2**: 69-74

**Mühl D**, Sárosi I, Kónyi A, Csontos Cs, Bogár L: Ondansetron (Zofran) alkalmazása acut myocardialis infarctust kísérő hányinger és hányás kezelésében illetve prevenciójában. *Gyógyszereink* 1998; **3**: 3-8

Sárosi I, Debreceni G, **Mühl D**, Kónyi A, Bogár L, Tekers M, Tóth K, Habon T, Czopf L, Zámbo K, Schmidt E: A verapamil és bisoprolol összehasonlító vizsgálata szívinfarctuson átesett betegek szekunder prevenciójában. *Orv Hetil* 1997; 138. **31**: 1939-1944

Sárosi I, Debreceni G, **Mühl D**, Kónyi A, Bogár L, Tekeres M, Tóth K, Habon T, Czopf L, Zámbo K, Schmidt E: Comperative assesment of verapamil and bisoprolol in the secondary prevencion of myocardial infarction. *Cardiovasc Drug Ther* 1997; (11. Suppl.) **2**: 384  
1,098

Kőszegi T, Kéri Gy, Molnár Zs, **Mühl D**, Nagy Á: Szisztémás fertőzés monitorozása a szérum procalcitonin szint és a keringő kismolekulasúlyú fehérjék analízisével. *Focus Med* 2000; **II. 1-2**: 38-43

Rónai A, Olasz L, **Mühl D**: Odontogén fertőzés foghúzás után kialakult halálos szövődménye egy kezeletlen diabeteses betegben (Esetismertetés). *Fogorv Szle* 2001: 27-31

Vidra T., Szomor Á., Battyány I., **Mühl D.**, Losonczy H: Congenitalis vena cava inferior malformatio és thrombosisra hajlamosító tényezők kombinált megjelenése fiatal férfi mélyvénás thrombosisában. *Orv Hetil* 2003; 144 évf, **46**: 2283-2286.

Szlovák Dóra, **Mühl Diana**: Perioperatív myocardium ischaemia vizsgálata Holter-EKG monitorral. *Aneszteziol Intenz Ter* 2005; 35. **1**: 3-11.

Kenyeres P, Juricskai I, Tarsoly P, Kesmarky G, **Mühl D**, Tóth K, Bogár L: Low hematocrit per blood viscosity ratio as a mortality risk factor in coronary heart disease. *Clin Hemorheol Micro* 2007; (közlésre elfogadva) 1,242 (2006)

---

2,340

### **Könyvfejezetek:**

**Mühl D**: Cardiogen shock. Melania Könyvkiadó Kft. Budapest, *Tabularium therapiae intensivae* 2002. 60-65

**Mühl D**: Transzplantációs folyadékterápia – aneszteziológiai vonatkozások. A folyadék- és elektrolitháztartás zavarai: új felismerések és terápiás konzekvenciák. (VII. Hortobágyi Szimpózium 2003. április 24-26). *Bibliomed* 2004. 46-56.

**Mühl D**: A keringés betegségei: Acut myocardialis infarctus, cardiogen shock. 4.4.1 fejezet, A szív ingerületképzési és- vezetési zavarai 4.4.2 fejezet. Aneszteziológia és intenzív terápia. *Medicina Könyvkiadó Zrt* 2007. (Két könyvfejezet. Kiadás alatt)

### **Nem az értekezéssel kapcsolatos citálható absztraktok:**

**Mühl D**, Szalai F, Nyárádi J, Brolly M: Mikrotraumatológiai műtétek anesztéziája. *Aneszteziol Intenz Ter* 1990; Suppl. (előadáskivonatok), 23

**Mühl D**, Sárosi I, Gál J, Tekeres M: Az időskori szívinfarktus incidenciája és jellegzetessége intézetünk beteganyagában. *Cardiol Hung* 1994. Abstract könyv, 10

**Mühl D**, Schwarz G. (Pécs-Graz): A kiváltott agyi potenciál vizsgálata: újabb diagnosticus lehetőség az intenzív terápiában (esetismertetés). *Aneszteziol Intenz Ter* 1994; Abstract, 43

**Mühl D**, Márton S, Sárosi I: Ondansetron adása az akut miokardiális infarctusban jelentkező hányinger, hányás prevenciója és kezelése céljából. *Fiatal Aneszteziológusok II. Országos Találkozója*, Gyula 1995; Absztrakt – gyűjtemény: 27

**Mühl D**, Kónyi A, Sárosi I, Bogár L, Tekeres M: Ondansetron administration for prevention and treatment of nausea and vomiting in acute myocardial infarction. *Austrian Internat. Congr., Wien, Acta Anaesth Scand* 109, 1996; **40**: 234 1,435

Szélíg L, **Mühl D**, Sárosi I, Tekeres M: Hypothyreoticus crisis, intenzív ellátást igénylő endocrin coma (esetismertetés). *Aneszteziol Intenz Ter* 1998; Suppl. (előadáskivonatok), 37

**Mühl D**, Szlovák D: Perioperatív myocardium ischaemia vizsgálata Holter-EKG monitorral. *Cardiol Hung* 2003; Suppl: 2, 33: A25

Szlovák D, **Mühl D**: Perioperatív szövődmények monitorozása Holter-monitorral – fókuszban az etiológiai faktorok. *Aneszteziol Intenz Ter* **33**, 2003; Suppl: 1, 15

**Mühl D**: Korai célvezérelt terápia-ScvO2 folyamatos monitorozásának jelentősége a klinikumban. *PiCCO Klub Tudományos Ülése Budapest, 2005*, Előadás összefoglaló: 1-3

Szlovák D, Szaló G, Hermes G, **Mühl D**: Perioperatív kardiális események a rizikó stratifikáció tükrében – összehasonlító analízis Holter-EKG-val. *Aneszteziol Intenz Ter* **36**, 2006; Suppl: 1, 23

Mühl D: Szerinted szükség van rutinszerű ulcus profilaxisra? M A I T T Dél-Dunántúli Szekció VIII. Kongresszusa, Tihany, 2006. 11. 2-4. *CD-elektronikus összefoglaló*

R Furedi, **D Mühl**, T Kiss, J Cristofari, K Gecse, E Roth, J Lantos: Predictive role of oxidative stress in sepsis and multiple organ failure. European Society of Intensive Care Medicine *Intens Care Med* **32**, 2006; Suppl: 1, 126 (0476) 4,406

---

5,841

Kumulatív impact factor:

19,193

## **8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Sárosi István Tanár Úrnak, aki közös munkánk során a szubmasszív/masszív pulmonális embóliás betegek kezelése és vizsgálata iránt érdeklődésemet felkeltette valamint Prof. Dr. Tekeres Miklósnak, egykori főnökömnek, aki mindig inspirált a tudományos munka irányába és mindenben támogatott. Intézetünk valamennyi orvos és nővér, asszisztens dolgozójának, mivel segítségük nélkül ez a dolgozat nem készülhetett volna el.

Külön köszönet programvezetőmnek, a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet vezetőjének, Prof. Dr. Róth Erzsébetnek, aki mint tudományos támogatóm a kutatómunkám

oxidatív stressz részében igen sok segítséget adott. Külön hálával tartozom témavezetőimnek: Dr. Lantos Jánosnak és Prof. Dr. Bogár Lajosnak technikai és a kutatásban nyújtott fáradhatatlan segítségükért, biztatásukért.

Köszönettel tartozom a Sebészeti Oktató és Kutató Intézet további dolgozóinak: Fajtik Csillának, aki felvállalta a hétvégén, éjjel érkező betegek mintáinak vizsgálati előkészítését, Dr. Gasz Balázsnak, Dr. Borsicky Balázsnak.

Kiemelten szeretném megköszönni volt tudományos diákkörös hallgatóim lelkes segítségét Dr. Füredi Rékának, Dr. Cristofari Juliának és Dr. Gecse Krisztiánnak.

Hálával tartozom Dr. Ghosh Subhamay kollégámnak angol nyelvű publikációim kiváló korrekciójáért, Dr. Lantos Jánosnak és Dr. Tóth Ildikónak a statisztikai analízisek során nyújtott segítségéért.

Vizsgálatunkat az OTKA (Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok) elfogadta és támogatta (T038035, K060227), ezzel lehetővé tette anyagi szempontból is a költséges vizsgálatok elvégzését.