

A GYOMORVÉRZÉS BEFOLYÁSOLÁSA - KLINIKAI ÉS KÍSÉRLETES VIZSGÁLATOK

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Zöllei István

**Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Műtéttani Intézet,
Sebészeti Klinika**

SZEGED

2001

A témaválasztás indoklása

Napjaink betegellátásakor egyre magasabb korban levő emberek kerülnek a kórházak sebészeti osztályaira - a geriátria után kialakult a geriátriai sebészet is. Az idős betegek a modern anaesthesia segítségével még a súlyos vérvesztéssel járó, nagy műtéteket is általában átvészelik, de az átélt stressz, a műtéti vérzésekkel járó hipotenzív-reperfüziós állapotok, a műtét alatt és után szerzett fertőzések, a hosszantartó kórházi kezelések, valamint a posztoperatív fájdalomcsillapítók hatására a betegségük miatt alkalmazott hatékony terápia mellett súlyos szövődeményeket is átélnek. Az 1980-as évek elején a nagy gyűjtőstatisztikák azt bizonyították, hogy az 50 éven felüli kolorektális műtéten átesett betegek egyik legfenyegetőbb posztoperatív szövődménye a gyomor-duodénium vérzése volt. A 15-20 % -os arányban jelentkező gasztrointesztinális szövődmény gyakran a halál beálltához vezetett. Különösen nagy volt a korai mortalitás abban a csoportban, amelyben a gasztrointesztinális szövődmény miatt reoperációt kellett végezni. Az idősebb betegek gyógykezelésekor nemcsak a műtétek, hanem a fájdalomcsillapítók, a nem steroid típusú gyulladáscsökkentők okozta hasonló gyomor-bél rendszeri szövődmények is komoly gondot okoznak. A műtéti fájdalom, de a komoly társbetegségek miatt alkalmazott gyógyszerek mellékhatásai kedvezőtlenül összegződhetnek, s a várt javulás helyett állapotromlás jöhet létre.

Tanulmányunkban a felsorolt problémák okainak kutatását, különösképpen a posztoperatív gasztrointesztinális haemorrhagiás szövődmények megelőzésének és kezelésének lehetséges útvonalainak kidolgozását tűztük ki magunk elé feladatul. Vizsgálatainkat három különálló, egymással összefüggésben levő csoportban végeztük. Az első, klinikai, vizsgálat lezárása után fordítottuk figyelmünket a gasztrointesztinális haemorrhagia pathomechanizmusára, a kórfolyamat két fontos részelemének kísérletes kutatására.

1. Klinikai vizsgálatok

1.1. Céllkitűzés

A műtétek során összetett feladatot kell tehát vállalni, amely során egyszerre több prevenció eljárását kell alkalmazni, hogy csökkentjük a kolorektális műtétek követő szövődeményeket. Első, klinikai tanulmányunkban azt a célt tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az elektív, radikális végbélműtétek taktikájának és eredményeinek a változásait a Szegedi Orvostudományi Egyetem Sebészeti Klinikájának beteganyagán, különös tekintettel a gasztrointesztinális szövődemények alakulásának kérdésére.

1.2. Beteganyag és módszer

A Szegedi Orvostudományi Egyetem Sebészeti Klinikáján az 1985. január 1-e és 1997. december 31-e közötti 13 évet két 5 éves és egy 3 éves időszakra osztottuk. Ez idő alatt 1799 vastag- és végbélműtét történt. A beteganyag feldolgozása során szétválasztottuk az elektív radikális, az elektív palliatív és a sürgősségi műtétek csoportját. Az 1218 elektív radikális műtét korai mortalitása 2,3 % volt, amely a nemzetközi követelményeknek is megfelel. Tanulmányunkban, a továbbiakban, a 442 elektív, radikális végbélrák miatt végzett műtét adatainak elemzésével foglalkozunk, hiszen ezen műtétek alatt veszítenek a legtöbb vért a betegek, ekkor a legnagyobb a fájdalomcsillapítás igénye, valamint ebben a műtéti csoportban a legnagyobb a posztoperatív fertőzés kialakulásának a veszélye is.

1.3. Statisztikai számítás

A SZOTE Számítástechnikai Központjában kettős T-próba, Wilcoxon teszt készült.

1.4. Műtéti előkészítés, antibiotikum és thrombosis profilaxis

A vastagbélsebészet egyik legnagyobb veszélyforrása a bélben felhalmozódott bélsár. A belek kiürítésére, azaz a bél kitisztására a hagyományos beöntések mellett újabb és újabb eljárásokat vezettek be. A vizsgálat első szakaszában, ha nem volt bélszűkölet, a nemzetközileg elfogadott módszer szerint, a duodenum szondán keresztül bejuttatott 8-10 liternyi folyadékkal történő bélátmosást végeztünk, de ezt a módszert a beteg szervezetének, elsősorban a keringés megterhelése miatt fokozatosan elhagytuk. A vizsgálat későbbi, második és harmadik szakaszában a bélkatisztítást ozmotikus hashajtót tartalmazó 3 liter folyadék szájon át való elfogyasztásával értük el. A részleges elzáródás fennállásakor, vagy a hashajtás-bélátmosás során jelentkező erős hasi görcsök esetén a hagyományos beöntésekre térünk át. Az antibiotikum profilaxis alkalmazása rendkívül fontos a vastagbélsebészetben.

Hazánkban az elsők között vezettük be az úgynevezett "one shot", azaz az egyszeri antibiotikum alkalmazását. A vizsgált beteganyag közel felében ezt a módszert, a másik felében pedig a 24 órás antibiotikum profilaxist alkalmaztuk.

A vizsgált periódusban a thrombosis profilaxis a kis molekulású heparin-származékokkal (Calciparin, Fragmin, Fraxiparin) történt.

1.5. Posztoperatív ulcus elleni prevenció

Egyetemünkön és klinikánkon lefolytatott klinikai kutatások eredményei alapján az 50 év feletti korosztályban H2-receptor gátló előkezelést alkalmaztunk. Az alkalmazott gyógyszer cimetidin, ranitidin, vagy famotidin volt. A H2-receptor gátló előkezelést a műtét napján kezdtük el, és a 7. posztoperatív napig alkalmaztuk. Ha az előzetes kórtörténetben fekélybetegség szerepelt, akkor a beteg felvételétől a távozásáig alkalmaztuk a megfelelő ulcus ellenes kezelést. Ha valamely okból nehezen indult a bélműködés, és tartós gyomorszonda kezelésre volt szükség, a gyomor nyálkahártya védelmét a szondán át bevitt lokálisan ható gyógyszerekkel is kiegészítettük.

1.6. Műtéti technika

Klinikánkon a rektum reszekciós műtétek során kézi anasztomosist csak kivételesen készítettünk. Erre csak a varrógépek használata során jelentkező technikai hibák esetében került sor. Az első szakaszban a kétsoros kapcsolót felhelyező amerikai körkörös varrógépet úgy alkalmaztuk, hogy mind a disztális, mind a proximális bélvégre nyitott állapotban helyeztük be a körkörös dohányzacskó varratot. A 2. és a 3. periódusban a kétfős varrógép technikát vezettük be, azaz a disztális bélvéget egyenes varrógéppel lezártuk a reszekció során, s a varratsoron keresztül vezettük fel a szétszedhető amerikai varrógép testében levő nyársat. Ezzel a "zárt" módszerrel a műtéti terület tisztaságát lehetett fokozni, amely a posztoperatív szeptikus szövődmények csökkenését eredményezte. Fontos változás volt az első szakaszban alkalmazott hasúrn keresztül drainezési módszer megváltoztatása. A második és harmadik periódusban az úgynevezett retrorectális, infraperitonealis drainezést alkalmaztuk. Az anastomosis felett a peritoneumot gondosan zártuk. Részleges tehermentesítés céljából a végbélnyíláson át felvezetett draint használtunk, amely segítségével az anasztomosis épségének vizsgálatára rutinszerűen festékpórárt végeztünk.

Az abdomino-perinealis rektum exstirpatiót mindhárom vizsgált időszakban a Lloyd-Davies által javasolt két munkacsoportos módszerrel végeztük.

1.7. Eredmények

A szövettani eredmények értékelésekor sajnálattal kellett megállapítanunk, hogy a vizsgált mindhárom időszakban a Dukes C stádiumú tumorok az esetek 2/3-át képviselték. A Dukes B stádium csak 20-25% között mozgott, míg a Dukes A stádium alig érte el a 10 % - t.

A végbélműtétek típus szerinti megoszlásában változás jött létre. Az első szakaszban több végbélkiirtás történt, mint reszekció, de a 2. és a 3. periódusban ez az arány megfordult a sphincter-megőrző műtétek javára. A legdöntőbb változás a középső harmadban elhelyezkedő tumorok kezelésében történt. Míg az első periódusban a végbél középső harmad tumorainak csak 33%-át reszekáltuk, addig ez az arány a második és harmadik szakaszban 72%-ra emelkedett. Az alsó harmadban levő tumorok miatt elvi meggondolás alapján abdomino-perineális végbélkiirtást végeztünk.

A végbélkiirtás utáni műtéti szövődményeket elemezve megállapítottuk, hogy jelentősebb javulás a húgyúti és a gáti fertőzésekben jött létre. A reoperációk részaránya és a korai műtéti mortalitás a harmadik periódusban enyhén emelkedett, de az emelkedés mértéke nem volt jelentős.

A reszekciós műtétek korai szövődményeit vizsgálva kijelenthetjük, hogy a mortalításban mérsékelt javulás volt kimutatható. Figyelemre méltó javulás jött létre a húgyúti fertőzések és a sebfertőzések terén. A sebfertőzések csökkenését nagy valószínűséggel a kettős varrógépes technika alkalmazása eredményezte. Kevesebb volt a reoperáció, mert az infraperitoneális drain nemcsak jelezte a varratelégtelenséget, de több esetben megakadályozta az általános hashártyagyulladás kialakulását. A kisebb fokú varratelégtelenség a konzervatív kezelés, a szívó-öblítő rendszer alkalmazásával gyógyult.

A posztoperatív szakban jelentkező gastrointesztinális vérzések adatainak elemzése azt bizonyítja, hogy az alkalmazott preventív kezelés (H2-receptor blokkolók), valamint az összes egyéb műtéti tisztaságot fokozó, a műtéti időt lerövidítő, a fertőzést csökkentő módszerek együttese alkalmasak voltak arra, hogy ez a szövődmény minden csoportban csak 3% körüli volt. Az egyes csoportokban nem volt szignifikáns eltérés.

2. A nyálkahártya védelem lehetősége antioxidáns kezeléssel (Kísérletes vizsgálatok)

2.1. Céldöntések

Első kísérletsorozatunk célja az volt, hogy meghatározzuk a haemorrhagiás shock alatt kialakuló gyomornyálkahártya károsodás mértékét, valamint az, hogy vizsgáljuk a H2-receptor gátló, a xantin oxidáz gátló és a szuperoxid gyökfogyó előkezelés hatását. Kiemelt cél volt az MTDQ-DS előkezelés hatosságának a vizsgálata, hiszen ennek az anyagnak korábban nem vizsgálták a „gyomornyálkahártya védő” hatását.

A második kísérletsorozatban a cél kettős volt. Az egyik cél annak a vizsgálata volt, hogy kimutatható-e hisztamin felszabadulás a shock periódus végén, vagy a keringés helyreállításakor, amikor a lebecsátott vért visszajuttatjuk a keringésbe. Másik célunk az volt, hogy megállapítsuk, vajon a xantin oxidáz enzim gátló, a szuperoxid gyökfogyó és a H2-receptor antagonisták előkezelés a gyomornyálkahártya károsodás kivédése mellett befolyásolja-e a hisztamin felszabadulás folyamatát.

2.2. Anyag és módszer

2.2.1. Műtéti előkészítés, kísérleti állatok

Hím Wistar patkányokat (300-400 g) normál laboratóriumi étrenden tartottuk. Az állatokat intraperitoneálisan adott 40 mg/kg nátrium pentobarbitállal (Nembutal) altattuk. Katétert vezetünk a bal artéria femorálisba az állat vérnyomásának folyamatos mérésére. Egy másik katétert vezetünk a jobb artéria carotisba a vér lebocsátására, s a keringésbe történő visszajuttatására. A hasüreget megnyitottuk, a nyelöcső-gyomor átmenetet lekötöttük. A megnyitott duodenumon át egy kis csővecskét vezetünk be a gyomorba, s azon át fiziológias sóval kimostuk a gyomortartalmat. Ezután 1 ml 0.1 N HCl/100 g testsúly oldatot fecskendeztünk a gyomorba. Végül a gyomorban levő csővecskét eltávolítottuk, s a pylorust lekötöttük.

2.2.2. A kísérlet menete

5 perccel a 0.1 N sósav gyomorba juttatása után, vérmintát vettünk a jobb carotis artériából (2 perccel fokozatosan; a fecskendő 0.4 ml heparint tartalmazott). Olyan mennyiségű vért bocsátottunk le, amivel az állat szisztémás vérnyomását 30 Hgmm alá tudtuk csökkenteni. A következő 20 percben az állat vérnyomását 20 és 30 Hgmm között tartottuk oly módon, hogy további kismennyiségű vért szívunk le a keringésből. A meghatározott 20 perc után (shock periódus) a levett vért a fecskendőből visszaadtuk a keringésbe 2 perccel át. 20 perccel később az állatokat a mellkas megnyitásával leöltük, s azonnal eltávolítottuk az állat gyomrát. Az állat leölése előtt 1 perccel a jobb carotis artériába elhelyezett kanülön át 1 ml 1%-os Evans-kék festéket jutattunk a szervezetbe, a mucosa permeabilitás vizsgálatára és a gyomornyálkahártya sérülés nagyságának megítélésére. Az eltávolított gyomrokat a nagygörbület mentén felvágtuk, majd kartonpapírra kiterítettük és rögzítettük, s ezután vagy 6 %-os formalin oldatban vagy Zamboni-féle fixáló oldatban rögzítettük.

2.2.3. Az alkalmazott kezelések

Az I. kísérlet sorozatba tartozó 70 állatot 6 csoportba osztottuk. Az úgynevezett álműtött, kontrol csoportban minden műtéti lépést végrehajtottunk, de nem hoztunk létre haemorrhagias shockos állapotot. A további csoportokban más és más gyógyszert, kémiai anyagot fecskendeztünk a hasüregbe a kísérlet elején, az altatószer beadása után.

Kontrol csoport:	A műtéti beavatkozás hatásának vizsgálatára (n=10)
Shock csoport:	Előkezelés nélküli állatok (n=13)
H2–receptor gátlás I. csoport:	50 mg/kg cimetidin előkezelés (Histodil, RichterGedeon, Budapest, Magyarország) (n=12)
H2–receptor gátlás II. csoport:	100 mg/kg cimetidin előkezelés (n=10)
Xantin oxidáz enzim gátlás:	50 mg/kg allopurinol előkezelés (Zyloric, Wellcome Co., Anglia) (n=12)
Szuperoxid gyökfagó: (MTDQ-DS csoport)	50 mg/kg MTDQ-DS előkezelés (Humán, Budapest, Magyarország) (n=13)

A II. kísérletsorozat 67 állatát 7 csoportba osztottuk. A különböző csoportokban más és más gyógyszert, kémiai anyagot fecskendeztünk a hasüregbe a kísérlet elején, amikor az altatószert adtuk az állatoknak.

Shock csoport:	Előkezelés nélküli állatok (n=14)
H2 –receptor gátlás I. csoport:	1 mg/kg ranitidin előkezelés (Zantac, Glaxo Co.) (n=10)
H2 –receptor gátlás II. csoport:	2 mg/kg ranitidin előkezelés (n=9)
H2–receptor gátlás III. csoport:	4 mg/kg ranitidin előkezelés (n=7)
H2 –receptor gátlás IV. csoport:	8 mg/kg ranitidin előkezelés (n=9)
Xantin oxidáz enzim gátlás:	Allopurinol (50 mg/kg) előkezelés (n=10)
SOD csoport:	20000 U/kg SOD előkezelés (szuperoxid dizmutáz, marha májból, S4761, Sigma Chem. Co., USA) (n=8)

2.2.4. A gyomor nyálkahártya károsodásának meghatározása

Mindkét kísérletsorozatban Evans kék oldatot használtunk iv. a gyomornyálkahártya károsodások, fekélyek hangsúlyozottabbá tételére. A keringésbe juttatott vitális festék a fokozott membrán permeabilitás miatt megjelenik a gyomor lumenében. Az eltávolított és kifektetett gyomrokról fotókat készítettünk. Háromszoros nagyítás után egy független vizsgáló meghatározza a nyálkahártya teljes felszínét, majd a sérült területek nagyságát (mm^2).

2.2.5. Statisztikai számítás

A károsodott területek összehasonlítására variancia analízist és Sheffe próbát a SZOTE Számítástechnikai Központban végezték el. A hisztamin változások kiértékelésére Wilcoxon tesztet végeztünk (Asahikawa College, Japan). Szignifikáns volt az eltérés, ha a $p < 0.05$ volt.

2.3.1. Az endogén peroxidáz aktivitás meghatározása

A Zamboni-féle oldatban fixált gyomorból készített 3-4 mikron vastagságú metszeteket használtuk fel az endogén peroxidáz enzim aktivitás kimutatására. A metszetekre normál nyúlszérumot vittünk fel 1:100 hígításban, majd peroxidál jelzett birka nyúlelleses IGG (H+L) szérummal (Institute Pasteur, Paris) inkubáltuk. A peroxidáz aktivitást 3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloriddal (DAB) (Serva, Germany) mutattuk ki.

2.3.2. Hisztológiai vizsgálatok

A formalinban fixált gyomrokból készített metszeteket haematoxilín-eosinnal festettük meg. A sérült területek az Arvidsson (4) által leírt pontrendszer szerint értékeltük.

A nyálkahártya sérüléseit 0-tól 4-ig pontoztuk.

0 fok	= ép nyálkahártya
I fok	= felszíni epithelium alatti oedema
II fok	= a felszíni epithelialis sejtek eltűnése
III fok	= gyomor kripták glanduláris sejtjeinek a felső része károsodott
IV fok	= a mirigyek eltűnése, súlyos károsodás

A gyomornyálkahártya károsodási indexet úgy számítottuk ki, hogy a fundus három legjobban károsodott területének pontszámát összegeztük. Így az index 0-12 között mozoghatott.

2.3.3. Hisztamin meghatározás

Plazma hisztamin meghatározást végeztünk az alábbi csoportokban: „shock” csoport, allopurinollal, SOD-dal és 8 mg/kg ranitidennel előkezelte csoportok. A carotis artériából az első vérmintát hűtött kémcsőbe a kanuláláskor, a másodikat a preparálás végén, a harmadikat a 20 Hgmm-es vérnyomás elérésekor, a negyediket a shock periódus végén, majd a vér retranzsfúziója után 1., 5. és 19. perccel, azaz az állat leölése előtt 1 perccel vettünk. A vért 4 °C-on azonnal centrifugáltuk 10 percen át 4000g-vel (Kokusan H-500 R, Japan). A plazmát szeparáltuk, és -20 °C-on tároltuk a hisztamin meghatározás időpontjáig (a tárolási idő nem volt három hétnél hosszabb). A plazma hisztamin meghatározását radioimmunoassay (IMMUNOTECH S.A, Marseille, Franciaország) módszerrel határoztuk meg, 1282 Compugamma LKB Wallac segítségével.

2.4. Eredmények

• Sérült terület:

Az első kísérleti sorban a haemorrhagiás shock által kiváltott gyomornyálkahártya sérülések területe a „shock” csoportban szignifikánsan nagyobb volt, az álműtött, kontrol csoporthoz képest, amely csoportban minden műtéti lépést végrehajtottunk, kivéve a véreztetést. Az allopurinol és az MTDQ-DS előkezelés szignifikáns védő hatását mutatott a területvédelemben. A cimetidin előkezelés, mindkét előkezelés szignifikáns védő hatását mutatott a területvédelemben. A cimetidin előkezelés, mindkét dózisában kevésbé volt hatékony a sérülések ellen, mint az allopurinol és az MTDQ-DS.

- *Szövettan:*

A gyomornyálkahártya károsodási indexét a szövettani vizsgálat alapján számoltuk ki. A „shock” csoport indexe 8, a kontrol csoporté 1, míg az allopurinol csoportjánál 1,5. Az MTDQ-DS és a cimetidin 100 mg/kg-os előkezeltekénél 3, míg az 50 mg/kg-os cimetidin előkezeltekénél 3,5 volt az index, vagyis a szövettani vizsgálat is bizonyította az allopurinol és MTDQ-DS, valamint a nagyobb dózisu cimetidin előkezelés védő hatását.

- *Enzim vizsgálat:*

Az endogén peroxidáz enzim aktivitásának fokozódását észleltük a shock csoport állataiban. Fokozott peroxidáz aktivitást figyelhettünk meg a lamina propria felszíni rétegében és a kitágult capillarisan levő vörösvértestekben.

- *Sérült terület:*

A második kísérleti sorban a 4 mg/kg-os és 8 mg/kg-os ranitidin, az allopurinol és a SOD előkezelés egyaránt hatékony volt, azaz szignifikánsan csökkent a nyálkahártya károsodás mértéke a kezeletlen csoporthoz viszonyítva. Az 1 mg/kg és 2 mg/kg ranitidin előkezelés azonban nem volt hatékony.

- *Szövettan:*

A második kísérleti sorban számított gyomornyálkahártya károsodási indexének vizsgálata ismételtén a SOD, az allopurinol és a nagy dózisu ranitidin előkezelés hatásosságát bizonyították.

- *Hisztamin meghatározás:*

A plazma hisztamin meghatározás eredményeinek elemzésekor több, egymás után bekövetkező jelenségre kell figyelnünk. A „shock” csoportban a műtéti preparálás alatt és azt követően nem jött létre hisztamin emelkedés, de a shock periódus végére a kiindulási hisztamin értékhez képest szignifikáns hisztamin felszabadulás következett be. A vér retranzsfúziója nem váltott ki újabb hisztamin felszabadulást, a plazma hisztamin szintje változatlan maradt 5 percen át. A kísérlet végére, az állat keringésének a rendeződésekor, a plazma hisztamin szint gyakorlatilag a kiindulási érték alá csökkent. Az allopurinol és a SOD előkezelés jelentős mértékben nem befolyásolta a plazma hisztamin görbét. Mindkét csoportban mérsékeltén alacsonyabb hisztamin szintet találtunk. Mindhárom csoportra érvényes, hogy a vér retranzsfúziója nem váltott ki újabb hisztamin felszabadulást. A ranitidin (8 mg/kg) csoportban teljesen más görbe volt megfigyelhető, mint az előző csoportokban. A szer bolusban való beadása hisztamin felszabadulást váltott ki, s a kiindulási hisztamin érték szignifikánsan nagyobb lett a shock csoporthoz képest. A magas indulási érték ellenére a shock periódus végére ugyanúgy létrejött egy újabb szignifikáns hisztamin szint emelkedés, mint a többi csoportban. A kísérlet végére viszont rapid értécsökkenést észleltünk a hisztamin meghatározáskor.

3. A nyálkahártya endogén védelmének erősítése exogén betain-palmitát alkalmazásával (Kísérletes vizsgálatok)

3.1. Célküzdés

Tanulmányunk célja az volt, hogy megvizsgáljuk, hogy az ASA által kiváltott ATP-szintézisben létrejövő változások és a patkányok gyomornyálkahártyának strukturális és funkcionális károsodásai milyen módon függhetnek össze. Ebben az összefüggésben megvizsgáltuk, hogy exogén betain előkezelésnek van-e védő szerepe az ASA által okozott gyomornyálkahártya károsodások ellen. A tanulmány kiterjedt arra is, hogy vajon javul-e a védőhatás akkor, ha a betaint palmitinsavval, egy hosszú láncú zsírsavval együtt alkalmazzuk. Erre a célra a palmitinsavat választottuk, mert feltételezésünk szerint a palmitinsav elősegítheti a betain beépülését a gyomor mucinjába.

3.2. Anyag és módszer

3.2.1. A gyomornyálkahártya károsodás létrehozása

Kísérleteinket hím Wistar patkányokon (n=101, átlagos testsúly 250g) végeztük. Az állatokat előbb standard laboratóriumi diétán, majd a kísérlet kezdete előtt 3 napig szénhidrát dús étrenden tartottuk. Szubakut gastritist oly módon hoztunk létre, hogy az állat gyomrába felületes éter narkózisban puha, hajlékony szondán át napi 3 alkalommal, 3 napon át ASA oldatot (acetilszalicilsav, Reanal, Budapest, 200 mg/kg KOH-ban oldva, 10 ml/kg volumenben) fecskendeztünk be.

3.2.2. Kísérleti csoportok

Az állatokat, random módon 5 csoportba osztottuk.

- | | |
|-------------------------|------------------------------------------------------------|
| 1. Kezeletlen csoport: | 15 ml/kg volumenben 0,11 M (oldószer) KOH |
| 2. ASA-csoport: | 10 ml/kg volumenben 200 mg/kg ASA + 5 ml/kg KOH |
| 3. ASA+betain: | 10 ml/kg 200 mg/kg ASA + 5 ml/kg (37,5 mg/kg) betain |
| 4. ASA+betain-palmitát: | 10 ml/kg 200 mg/kg ASA+5 ml/kg (100 mg/kg) betain-palmitát |
| 5. ASA+palmitinsav: | 10 ml/kg 200 mg/kg ASA + 5 ml/kg (62,5 mg/kg) palmitinsav |

3.2.3. Az utolsó kezelést követő 2 óra elteltével vizsgált paraméterek

- A gyomornyálkahártya károsodásának meghatározása

Az eltávolított és kifektetett gyomrokról S-VHS videofilm-felvételt készítettünk. Ezek után számítógépes planimetriás program (IVM Pictron, Budapest) segítségével végeztük el az egyes csoportok értékeinek az elemzését. A károsodott (eróziós) nyálkahártya mértékét a teljes gyomornyálkahártyához viszonyítva, százalékos arányban határoztuk meg.

- **Microvasculáris permeabilitás növekedésének a mérése**

Evans-kék oldat (10 mg/kg 1 ml fiziológias sóoldatban oldva) festéket adtunk a Na-pentobarbitallal altatott állatok vena jugularisába. 30 perccel később 0.5 ml vért vettünk bal kamrából, hogy megállapítsuk a plasma Evans-kék koncentrációját. A gyomrot eltávolítottuk, a nagygyöbület mentén felvágtuk, és a gyomortartalmat fiziológias sóval leöblítettük. A gyomornyálkahártyát tárgylemezzel lekapartuk, és azt 1 ml formamidban homogenizáltuk 1 percig. A homogenizátumot szobahőmérsékleten, 18 órán át inkubáltuk. A mintákat centrifugáltuk (5000g, 60 percig), a felülúszó és a plasma Evans-kék festék koncentrációját 650 nm-en a formamid oldathoz viszonyítva UV-1601 típusú spektrofotométerrel (Shimadzu, Japán) megmértük. A minták protein tartalmát Lowry-féle eljárással (52) határoztuk meg. A gyomorfal microvasculáris permeabilitásának a jellemzésére permeabilitási indexet határoztunk meg: a nyálkahártya Evans-kék tartalmát a plasma festékkoncentrációjához viszonyítottuk:

$$PI = \text{szöveti Evans-kék koncentráció} / \text{plasma Evans-kék koncentráció}$$

- **A gyomorfal ATP koncentrációjának mérése**

A gyomorfal teljes vastagságát magába foglaló mintákat Wollenberg fogóval folyékony nitrogénbe tettük, majd a szövetet -70°C hőmérsékleten tároltuk a mérés időpontjáig. Fagyasztott állapotban lemértük a minták súlyát, majd a mintákat 6%-os triklór-ecetsavban (250 mg/ml) centrifugáltuk 5000g 10 percen át. A felülúszót egyenlő mennyiségű 0.4 M kálium-hidrokarbonáttal neutralizáltuk, majd újabb 10 perces (5000g) centrifugálás következett. Az ATP-szint meghatározását Lamprech és Trautschold (50) szerint spektrofotometriás úton végeztük. Az eljárás során a beta-nikotinamid adenin dinukleotid foszfát meghatározása történik, ami egy enzimatis reakcióban képződik, s amely folyamatot a glukóz-6-foszfát dehidrogenáz és hexokináz katalizál ATP koncentrációfüggő módon.

- **Szöveti vizsgálatok**

A formalinban fixált gyomrokból készített metszeteket haematoxilín-eosinnal festettük meg. A fénymikroszkopos vizsgálat során a sérült területek az Arvidsson (4) által leírt pontrendszer szerint értékeltük.

A nyálkahártya sérüléseit 0-tól 4-ig pontoztuk.

0 fok	= ép nyálkahártya
I fok	= felszíni epithelium alatti oedema
II fok	= a felszíni epithelialis sejtek eltűnése
III fok	= gyomor kripták glanduláris sejtjeinek a felső része károsodott
IV fok	= a mirigyek eltűnése

A gyomornyálkahártya károsodási indexet úgy számítottuk, hogy a fundus 3 legjobban károsodott területének pontszámát összegeztük. Így az index 0-12 között mozoghatott.

2.2.6. Statisztikai számítás

Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztuk, hogy megállapítsuk a különböző csoportok eredményei összehasonlíthatóságát. Dunnett és Friedmann tesztet alkalmaztunk, hogy megállapítsuk a kontrollhoz képest kialakult szignifikancia mértékét ($p < 0.05$).

2.3. Eredmények

- *Sérült terület:*

A 3 napos ASA-kezelés súlyos, időnként az egész gyomorra kiterjedő nyálkahártya eróziókat hozott létre. Az ASA-val kezelt, de védő anyagot nem kapott állatok csoportjában a teljes gyomornyálkahártya felület átlagosan 30%-a károsodott.

A betain-palmitat és a palmitinsav előkezelés szignifikáns védőhatást biztosított a gyomornyálkahártya károsodások ellen. A kezelések közül a betain-palmitat előkezelés volt a hatékonyabb ($p < 0.01$). A betain előkezelés csak enyhe védelmet jelentett az ASA által kiváltott gyomornyálkahártya károsodások ellen (a védőhatás foka nem érte el a szignifikáns szintet).

- *Szövetten:*

A nyálkahártya károsodási index medián értékei a következők voltak: kezeletlen csoport: 1, csak ASA-val kezelték: 7, betain-palmitat előkezeltek csoportja: 5, palmitinsav előkezeltek csoportja: 6. A betain-palmitat előkezelés volt a leghatékonyabb az ASA által kiváltott gyomornyálkahártya károsodások kivédésében.

- *Microvascularis permeabilitás:*

Permeabilitási indexet (PI) számoltunk, s a következő eredményeket kaptuk: A kezeletlen csoporthoz képest a PI szignifikánsan nőtt a csak ASA-val kezelt patkányok gyomrában. A betain-palmitat és palmitinsav előkezelés szignifikánsan csökkentette az emelkedett permeabilitást. A betain kezelés önmagában ugyanakkor nem eredményezett védőhatást a fokozott nyálkahártya permeabilitás ellen.

- *ATP tartalom meghatározása:*

A kezeletlen csoporthoz képest az ASA-val kezelt csoportban szignifikánsan csökkent a gyomorfal ATP tartalma. Egyik alkalmazott előkezelés sem jelentett védelmet az ATP tartalom csökkenése ellen, valamennyi kísérleti csoportban szignifikánsan alacsonyabb maradt a gyomorfal ATP tartalma a kezeletlen csoporthoz viszonyítva.

4. Végső összefoglalás (Önálló következtetések)

- **Klinikai vizsgálatok**

1. A SZOTE Sebészeti Klinikáján a vizsgált időszakban az elektív, radikális végbélműtétek nemzetközileg elfogadható szinten (alacsony korai mortalitás és posztoperatív szövődményráta) történtek.
2. A körkörös varrógépek kiterjedt használatával és a dupla varrógépes technika bevezetésével nemcsak a sphincter-megőrző műtétek részaránya emelkedett (a rektum középső harmadi tumorai esetében 33 %-ról 72 %-ra), de csökkent a posztoperatív morbiditás és a reoperációk száma is.
3. Az 1980-as évek elején bevezetett perioperatív ulcus elleni rutinszerű preventív kezelés eredményesnek bizonyult, hiszen a nemzetközi irodalom szerint is kitűnő 3 % körüli szintre sikerült leszorítani ezt a szövődményt, de az a leggondosabb modern preoperatív béltisztítás, a műtéti idő lerövidülése és a korszerű, hatékony antibiotikum prevenció mellett sem tűnt el.

- **A nyálkahártya védelem antioxidáns kezeléssel (állatkísérlet)**

1. A patkányokon végzett kísérleteinkkel bizonyítottuk, hogy a haemorrhagias shock, majd az azt követő retranzfúzió jelentős gyomornyálkahártya laesiókat hozott létre.
2. Tanulmányunkban hisztokémiai módszerrel igazoltuk, hogy a gyomornyálkahártya falában fokozott endogén peroxidáz aktivitás alakult ki.
3. Az allopurinol, a SOD, valamint a nagy dózisu cimetidin és ranitidin előkezeléssel a nyálkahártya károsodások mértéke és a mucosa fokozott peroxidációja jelentős mértékben csökkenthető voltak.
4. Az eredmények azt a feltételezést támasztották alá, hogy az oxigén-eredetű szabad gyökök jelentős szerepet játszanak az ischaemiás állapotban létrejövő gyomornyálkahártya károsodások kialakulásában.
5. Az MTDQ-DS előkezelés hatásos volt mind a nyálkahártya károsodások kiküszöbölésében, mind az endogén peroxidáz emelkedésének megakadályozásában.
6. Az MTDQ-DS sikeresen alkalmazható, mint antioxidáns kezelés, a gyomornyálkahártya védelemben is.
7. Kísérleteinkben az oxigén-eredetű szabad gyököket nem találtuk endogén hisztamin felszabadító faktornak.
8. A ranitidin bolusban való beadásakor jelentős hisztamin felszabadulást igazoltunk.

- **A nyálkahártya endogén védelmének erősítése betain palmitáttal (állatkísérlet)**
- 1. Vizsgálataink bizonyították, hogy a patkányokon alkalmazott 72 órás ASA-kezelés gyomor-nyálkahártya károsodást okozott.
- 2. Az ASA-kezelés szignifikánsan csökkentette a gyomor-nyálkahártya ATP-tartalmát, növelte a microvasculáris permeabilitást.
- 3. Tanulmányunkban három anyag „védő” hatását vizsgáltuk. Sem a betain, sem a palmitinsav, sőt a kettő együttes alkalmazását jelentő betain-palmitat sem befolyásolta a gyomorfallal csökkent ATP-szintézisét.
- 4. A betain-palmitat előkezelés jelentős mértékben csökkentette a nyálkahártya struktúrájának a károsodását, és szignifikánsan csökkentette az ASA-kezelés által kiváltott fokozódott microvasculáris permeabilitást.
- 5. A betain-palmitat, véleményünk szerint, azért volt hatásosabb az őnmagában adott betainnál, mert jobb volt a molekulából felszabaduló betain biológiai hozzáférhetősége.
- 6. A betain-palmitat az ASA által kiváltott nyálkahártya károsodás elleni gyógyszerre fejleszthető, de feltételezhetjük hatékonyságát az egyéb okokból bekövetkező gyomorvérzések terápiájában is.

Köszönetnyilvánítás

Tisztelettel köszönöm Dr. Nagy Sándor professzor úrnak, hogy a kísérleti munkámat az általa vezetett munkacsoportban végezhettem.

Megkülönböztetett tisztelettel köszönöm Dr. Boros Mihály professzornak azt a hatalmas segítséget, amivel a disszertációm befejezését elősegítette.

Köszönettel tartozom Dr. Petri Gábor, Dr. Karácsonyi Sándor, Dr. Balogh Ádám sebész professzoroknak, akik vezetése alatt klinikai munkát végezhettem.

Köszönettel tartozom Dr. Baradnay Gyula professzornak, aki bevezetett a vastag- és végbél sebészet művelésébe.

Köszönettel tartozom Dr. Kulka Frigyes professzornak, aki segített az első ösztöndíjas utam megszervezésében.

Köszönettel tartozom Stig Bengmark professzornak (Lund, Svédország), aki az oxigen eredetű szabad gyökök kutatására hívta fel figyelmemet.

Köszönettel tartozom Michio Mito professzornak és barátomnak Hiroichi Asakawanak (Asahikawa Medical College, Japan), akik lehetőséget nyújtottak kísérleti munka végzéséhez.

Köszönetet mondok Dr Szabó Andrea tanársegédnőnek a nyálkahártya védelmére végzett állatkísérletek kivitelezésében nyújtott elméleti és gyakorlati segítségéért.

Köszönetet mondok minden kollegának, matematikusnak, asszisztensnek, nővérnek, akik a klinikai és a kísérleti munkámban segítséget nyújtottak.

Köszönetet mondok Dr. Muth Lajos kórházigazgató főorvosnak (Tolna megyei Önkormányzat Kórháza, Szekszárd), aki bizalommal volt irántam a munka befejezésekor.

A doktori képzéssel kapcsolatos közlemények jegyzéke

- I. Zöllei I, Karácsony G, Baltás B, Nagy S: Role of oxygen-derived free radicals in haemorrhagic shock-induced gastric lesions of rats
Acta Physiol Hung 73 (2-3): 357-362, 1989 Impact factor: 0,236
- II. Zöllei I, Asakawa H, Karácsonyi S: Histamine release and SOD, Allopurinol and Ranitidine pretreatment in haemorrhagic shock in the rat
Acta Physiol Hung 80 (1-4): 303-309, 1992 Impact factor: 0,228
- III. Zöllei I: Experimental study of hypovolaemic shock-induced gastric mucosal lesions in the rat.
Ann Acad Med Singapore 28 (1): 85-89, 1999
- IV. Zöllei I., Balogh Á.: A végbélrákok sebészi kezelésének javuló eredményeiről
Magy. Seb. 52 (3): 107-110, 1999
- V. Zöllei I, Szabó A, Kaszaki J, Tiszlavicz L, Ghyczy M, Boros M:
Betaine-palmitate reduces acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats
Scand J Gastroenter 36: 811-816, 2001 Impact factor: 2,336

A doktori képzéssel kapcsolatos kongresszusi összefoglalók jegyzéke

- I. Zöllei I., Karácsony G., Baltás B., Nagy S.:
Haemorrhagias shock által létrehozott gyomornyálkahártya laesioi kivédése különböző anyagokkal patkányban
Quarterly Bulletin of the Hungarian Gastroenterological Society, 6: 75, 1988
- II. Zöllei I, Karácsony G, Nagy S, Karácsonyi S:
Preventive treatment of haemorrhagic shock induced gastric mucosal lesions in the rat
Eur Surg Res 20 (Suppl.1): 153, 1988 Impact factor: 0,892
- III. Zöllei I, Asakawa H, Karácsonyi S:
Histamine release and SOD, Allopurinol and Ranitidine pretreatment in haemorrhagic shock in the rat
Circ Shock 34: 157, 1991 Impact factor: 2,182
- IV. Zöllei I., Varga J.:
Different anastomosis techniques in colorectal surgery
Magy. Seb. 47 (Suppl.): 128 , 1994
- V. Zöllei I., Balogh Á., Lázár Gy.:
A rectumsebészet problémáiról
Magy. Seb. 49 (Suppl.): 100 , 1996
- VI. Zöllei I, Balogh Á, Lázár Gy:
Changes of tendency of rectal surgery
Br J Surg 83 (Suppl.2): 38, 1996 Impact factor: 1,697
- VII. Zöllei I, Balogh Á, Lázár Gy:
Efforts for decreasing the complication rates in rectal surgery
Int J Colorect Dis 12 (3): 190, 1997 Impact factor.:1,244
- VIII. Zöllei I, Balogh Á:
Economical problems in colorectal surgery
Zeitschrift für Gastroenterologie 36: 454, 1998 Impact factor: 0,777
- IX. Zöllei I:
Cost-benefit problems in colorectal surgery in Hungary
Br J Surg 85 (Suppl.2): 23, 1998 Impact factor: 1,697
- X. Balogh Á, Lázár G, Zöllei I, Szederkényi Edit:
The value of augmentin profilaxis in colorectal surgery: a double blind randomized prospective study
Br J Surg 85 (Suppl.2): 24, 1998 Impact factor: 1,697

- XI Zöllei I, Balogh Á:
Improvement of results in the colorectal surgery
Digestion 59 (Suppl.3): 747, 1998 Impact factor: 1,745
- XII Zöllei I., Szabó A., Tizslavicz L., Boros M., Ghyczy M.:
A betaine gyomor nyálkahártya védő hatása subacut gastritisben palkányon
Magy. Seb. 52. (4): 228, 1999
- XII Zöllei I, Balogh Á:
Improvement Results in the Colorectal Surgery
Canadian J Gastroenter 13 (Suppl. B): 89B, 1999
- XIV Zöllei I, Szabó A, Boros M, Tizslavicz L, Ghyczy M:
The protective effect of betaine pretreatment in subacute gastritis cauesed by intragastric
administration of acetylsalicylic acid in rats
Canadian J Gastroenter 14 (Suppl.A): .57-58, 2000