



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Mārtiņš Kapickis

MIKROASINSVADU KŪLĪŠU
TRANSPLANTĀTI-
NEOANGIOĢENĒZES UN
REVASKULARIZĀCIJAS AVOTS

Promocijas darba
kopsavilkums

Specialitāte – plastiskā ķirurģija

Rīga, 2012. gads

Promocijas darbs veikts no 2006. līdz 2011. gadam: Rīgas Stradiņa universitātes ķirurģijas katedrā, Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīcā, stacionārā “Gaiļezers”, Singapūras Universitātes Slimnīcā, Luisvilles Universitātes Slimnīcas patoloģijas katedrā (ASV)

Darba zinātniskais vadītājs: Asociēts Profesors, Dr. Med. Guntars Pupelis, Rīgas Stradiņa Universitāte.

Darba zinātniskais konsultants: Asociēts Profesors, Dr. med. Sunil Thirkannad, Luisvilles Universitāte, ASV.

Oficiālie recenzenti: Profesors, Dr. hab.Med. Andrejs Skaģers, Rīgas Stradiņa Universitāte

Promocijas darba aizstāvēšana notiks “_____”. gada “_____”. _____ plkst._____ Rīgas Stradiņa universitātes _____ Promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, _____ auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā: www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu (ja tāds ir)



Promocijas padomes sekretārs:

Zinātniskais grāds latīņu val., zinātniskais nosaukums Vārds Uzvārds

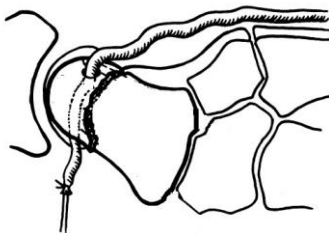
SATURS

1. Ievads.....	4.
1.1. Hipotēze	5.
1.2. Pētījuma novitāte.....	5.
1.3. Pētījuma mērķis un uzdevumi.....	6.
1.4. Pētījuma praktiskais pielietojums.....	6.
1.5. Darba struktūra un apjoms.....	7.
1.6. Publikācijas par darba tematu.....	7.
2. Izpētes materiāls un metodes.....	7.
3. Rezultāti.....	14.
4. Diskusija.....	22.
5. Secinājumi.....	26.
6. Praktiskās rekomendācijas.....	27.
7. Zinātniskās publikācijas	28.
8. Ziņojumi par darba rezultātiem.....	29.
9. Pielikumi.....	30.
10.1. IACUC protokola galviņa.....	30.
10.2. Patologa aizpildītās tabulas paraugs.....	32.
10. Izziņas un pateicības.....	33.

1. IEVADS

Izolētu asinsvadu kūlīši, kas sastāv no artērijas un pavadošajām vēnām, tiek izmantoti, lai revaskularizētu avaskulāru kaulu, mākslīgā kaula (kalcija hidroksiapatīta) materiālus, kā arī prefabricētu mīksto audu lēverus. Lēveri ir ķirurģiski izdalīti mīksto audu segmenti ar savu autonomu asinsriti. Prefabrikācija ir ligētu asinsvadu kūlīšu ievietošana mīkstajos audos, tādējādi radot šajā reģionā jaunu angiosomu ar savu barojošo aksiālo asinsriti. Jau daudzas desmitgades ir pazīstama metode, kurā išēmiski kaula segmenti tiek revaskularizēti ar asinsvadu kūlīšu transplantāciju (Vudhaus (Woodhouse) 1963, Šteins (Stein) 1971.). Līdz šim tika uzskatīts, ka jebkurš ķirurģiski izdalīts un ligēts asinsvadu kūlītis ir kā lēveris ar aksiālu asinsriti.

Joprojām literatūrā ir zināmas neskaidrības attiecībā uz šādu asinsvadu kūlīšu transplantāciju, jo nav skaidrības, kāpēc vienā gadījumā šādu asinsvadu kūlīšu transplantācija ir veiksmīga, bet citos - nē. Par klasisku rakstu šajā jomā tiek uzskatīts 1979. gadā publicētais Horī un līdzautoru darbs, kurā viņi ziņoja par simtprocentīgu asinsvadu caurteces saglabāšanos un revaskularizāciju eksperimentālo dzīvnieku grupās, kurās solitāras artērijas bija transplantētas apasiņotu un dzīvotspējīgu kaulu segmentos, un vairāk kā 2/3 veiksmīgu klīnisku gadījumu, transplantējot asinsvadu kūlīšus pacientiem ar dažādām kaula AVN (1.1.att.)



1.1. att. Hori tehnikas pamatprincips

Asinsvadu kūlītis izvadīts cauri avaskulāram kaula segmentam

Avots: autora pārzīmēts attēls

Klīnikā panākumus šī metode neguva neapmierinošu rezultātu dēļ. Vēlāk parādījās dažādas savā starpā pretrunīgas publikācijas, kuras nedeļa skaidrību par to, kurš revaskularizācijas modelis ir vislabākais: liģēti, caurtekoši asinsvadu kūlīši vai ķirurģiski arteriovenozi šunti (AVŠ). Pretrunu cēlonis bija fakts, ka autori izmanto dažādu anatomisko reģionu asinsvadu kūlītus un dažādus eksperimenta dzīvniekus. Šī iemesla dēļ minētos rakstus nav iespējams salīdzināt savā starpā. Tomēr ir skaidrs, ka virknē gadījumu liģētu asinsvadu kūlīšu transplantācija noteikti darbojas kā angiogēnēzes un revaskularizācijas avots. Balstoties uz šiem novērojumiem, bija pamats domāt, ka asinsvadu kūlīšu transplantācija avaskulāros audos un to revaskularizācijas potenciāls atšķiras dažādiem asinsvadu kūlīšiem un dažādām dzīvo organismu sugām. Angioneogēnēzes un sekojoši revaskularizācijas potenciāls, jādoma, ir atkarīgs no asinsvadu kūlīša spējas autonomi funkcionēt pēc transplantācijas avaskulārā vidē. Šī spēja ir atkarīga no trombozes riska pašā asinsvadu kūlītī. Vismazākais trombozes risks ir kūlīšiem, kuri darbojas, kā lēveri ar aksiālu asinsriti. Šis pētījums ir mēģinājums pierādīt iepriekšminēto apgalvojumu.

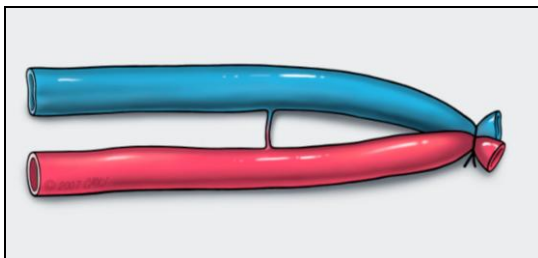
1.1. Hipotēze

Dzīvā organismā eksistē vismaz 2 reģionālās asinsrites veidi: (a) „paralēlo cauruļvadu tips” (b) aksiālā lēvera tips. „Paralēlo cauruļvadu tipa” liģēti kūlīši trombozēsies (1.2. att. A.), savukārt liģēti aksiālā lēvera tipa kūlīši netrombozēsies (1.2. att. B) un tajos turpināsies normāla audu mikrocirkulācija un neoangiogēnēze.

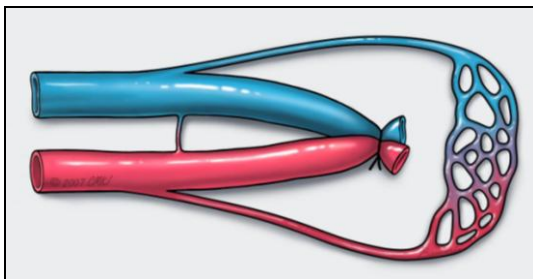
1.2. Novitāte

Darba pamatā ir divu tipu asinsvadu kūlīšu izdzīvošanas un revaskularizācijas potenciāla atklāšana un salīdzināšana. Līdz šim uzskatīja, ka jebkurš ķirurģiski izdalīts un liģēts asinsvadu kūlītis darbojas kā aksiāls lēveris. Ar šo eksperimentālo darbu tiek pierādīts, ka šis uzskats neatbilst

patiesībai un skaidro daudzo revaskularizācijas neveiksmju cēloni. Darba autors uzskata, ka šādas cēloņsakarības atklāšana ir šī darba novitāte.



A



B

1.2. att. A- paralēlo cauruļvadu tips, B- aksiālā lēvera tips

1.3. Mērķi un uzdevumi

Pētījuma mērķis ir noskaidrot dažādu ligētu asinsvadu kūlīšu neoangiogēnēzes potenciālu.

Uzdevumi: (a) noskaidrot, kas notiek ar asinsvadu kūlīti dažādos laika intervālos pēc to ligēšanas, (b) noskaidrot ligēta asinsvadu kūlīša reakciju uz to avaskulāru vidi, (c) noskaidrot dažādu anatomisko reģionu asinsvadu kūlīšu reakciju, ievietojot tos līdzīgā vidē (e.g. avaskulārā vidē), (d) noskaidrot vai ligēti asinsvadu kūlīši var būt neoangiogēnēzes avots.

1.4. Praktiskais pielietojums

Liģētu asinsvadu kūlīšu angioģenģzes potenci  u var izmantot:

- (a) avaskul  ras kaula nekrozes   rstģ     ,
- (b) avaskulāru taukaidu transplant  tu dz  votspģ  s nodro        ,
- (c) M  ksto audu lēveru prefabrik  cija,
- (d) audu inģ  nierij  .

1.5. Darba struktūra un apjoms

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā un sastāv no 12 nodaļām. Kopģ  jais apjoms ir 101 lappuse, tai skaitā 51 att  li, 6 tabulas un 2 pielikumi. Liter  t  ras sarakstā ietvertas 144 v  res.

1.6. Publikācijas par darba tematu

Promocijas darba rezultāti 3 reizes publicģ  ti recenzģ  jamos zinātniskos izdevumos. Publikāciju saraksts pievienots kopsavilkuma noslģ  gum  .

2. MATERIĀLI UN METODES

Pģ  t  jums tika izstrādāts un iegūto datu apstrāde veikta Rīgas Stradi   a Universitātes   irurg  ģijas katedrā, Rīgas Austrumu Klīniskajā slimnīcā, klīnikā „Gai  lezers”. Praktiskā daļa veikta saskaņā ar Luisvilles Universitātes Medic    nas Fakultātes (ASV) apstiprināto IACUC protokolu. Pģ  t  jum   tika izmantoti divdesmit ķ  etri Sprague–Dawley žurku tģ  vi  i ar svaru 250-300 g. Dz    vnieki tika brīvi (randomizģ  ti) izvģ  lģ  ti. Pģ  t  juma ietvaros tika izvģ  rtģ  ti 48 asinsvadu k  l     i, kas tika iedalīti trīs lielās grupās A, B un C (2.1.tabula). Dz    vnieka a. saphena tiek uzskatīta par paralģ  lo cauruļvadu tipu. Šāds kūlītis, distāli liģģ  ts, trombozģ  sies. A. epigastrica mģ  s uzskatām par aksiālā lēvera tipu, kur   asinsrite turpināsies pat tad, ja tas tiks distāli liģģ  ts.

A grupā mēs iekļāvam dzīvniekus, kuriem tika pētīts trombozes biežums atraumatiski ligētos a. saphena (a. Femoralis turpinājums) asinsvadu kūlīšos pēc 2-24 stundām. B grupā tika izvēlēti astoņi dzīvnieki, kuriem vienas puses ligētie a. saphena asinsvadu kūlīši tika ievīstīti silikona apvalkā. Šiem dzīvniekiem brūces tika skalotas, sašūtas, un pēc tam tie tika pārvesti atpakaļ uz vivāriju aprūpei.

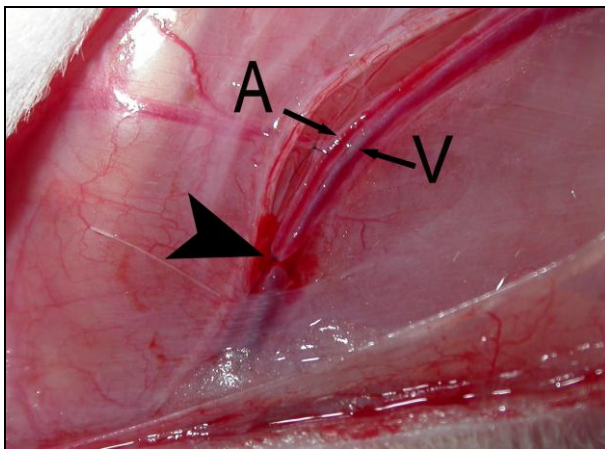
Šie dzīvnieki tika izvērtēti pēc 3 nedēļām. Šajā grupā četriem dzīvniekiem pretējās puses a. saphena kūlīši tika izmantoti kā kontroles, lai izvērtētu silikona iespējamo trombogenitāti – tie tika ievīstīti silikona apvalkā bez kūlīšu ligēšanas. Atlikušajiem četriem dzīvniekiem kā salīdzinoša kontrole ligētajiem a. saphena asinsvadu kūlīšiem tika izmantoti ligēti pretējās puses a. epigastrica asinsvadu kūlīši.

C grupā tika izvēlēti četri dzīvnieki un abpusēji tika ligēti a. epigastrica asinsvadu kūlīši, kuri tika ievīstīti silikona apvalkā līdzīgi kā iepriekš. C grupa tika izvērtēta pēc 3 nedēļām.

Eksperimenta dzīvnieki tika sagatavoti, anestezēti intraperitoneāli ar pentobarbitālu un eitanazēti saskaņā ar IACUC protokolu.

A Grupā (12 žurkas, bilaterāla a. saphena ligēšana). 10× optiskā palielinājumā mikroķirurģiski tika izpreparēti a. saphena asinsvadu kūlīši un ligēti, izmantojot Ethicon 9/0 mikroķirurģisko diegu. Ligatūra tika uzlikta 1,5 cm distāli no epigastrālo asinsvadu bifurkācijas. Preparējot asinsvadus, tika saglabāti perivaskulārie audi, kā arī artērijas un vēnas saistība (2.1.att). Brūce tika skalota ar fiziloloģisko šķīdumu un slēgta ar 3/0 ķirurģiskā zīda diegu (Ethicon). Līdzīga operācija tika veikta uz pretējās puses asinsvadiem. Astoņi dzīvnieki tika izvērtēti ar 2 stundu intervālu - pēc 2, 4, 6 stundām. Dienas beigās dzīvnieki tika eitanazēti. Vēl 4 dzīvniekiem brūces tika aizšūtas un dzīvnieki tika novietoti novērošanai uz vēl 18 stundām. Pēc tam dzīvnieki tika atkārtoti re-anestezēti, brūces atvērtas un asinsvadu kūlīši izvērtēti. Pēc izvērtēšanas dzīvnieki tika eitanazēti. Ligētiem asinsvadiem tika izdarīta

arteriotomija un flebotomija mikroķirurģiskā palielinājumā un tie vizuāli tika izvērtēti uz svaiga tromba klātbūtni. Mēs lietojām NaCl 0,9 %, lai izšķīdinātu eritrocītu agregātus, atšķirot tos no īsta tromba.



2.1. att. Atraumatiski izpreparēts a. saphena kūlītis.

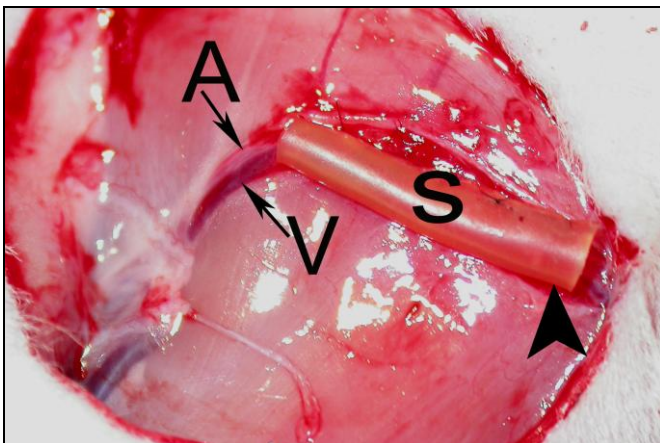
Preparēšanas laikā tiek saglabāta perivaskulāro audu saistība ap vēnu (V) un artēriju (A). Bulta norāda uz distāli ligatūru.

Diviem no 24 stundu laikā novērotajiem dzīvniekiem izvērtēšanā tika pielietots iepriekš aprakstītais protokols, bet atlikušajiem diviem dzīvniekiem papildus tika veikta arī asinsvadu kūlīšu histoloģiska HE izmeklēšana.

B grupā (6 dzīvnieki) tika liģēti labās puses asinsvadi un 1 mm biezs sterila urīnkatetra silikona apvalks tika aptīts ap a. saphena asinsvadu kūlīti un tubulāri nošūts ar 9/0 Ethicon mikroķirurģisko diegu (2.2.att). Šāda biezuma silikona apvalks tika izvēlēts ar nolūku, jo tas nesaplok ārējā spiediena ietekmē un pieļauj fizioloģisko šķidrumu brīvu piekļūšanu asinsvadiem. Tajā pašā laikā tas veic barjerfunkciju un nepieļauj asinsvada kūlīša un apkārtējo audu asinsvadu tīkla saskari, tā rezultātā nepieļaujot inoskulāciju. Šī grupa ērtības labad tika sadalīta divās apakšgrupās B1 un B2.

B1 grupā četriem dzīvniekiem labās puses a. Saphena asinsvadu kūlīši tika liģēti un ievīstīti līdzīgi iepriekš aprakstītajam protokolam. Savukārt

kreisās puses a. Saphena asinsvadu kūlīši tika ievīstīti bez līgēšanas. Šiem četriem asinsvadiem bija jākalpo par silikona apvalka trombogenitātes kontroli.



2.2.att. A. saphena asinsvadu kūlītis ietīts silikona apvalkā un nošūts ar 9/0 Ethilon.

A-artērija, V-vēna, bulta norāda uz kūlīša līgēšanas vietu silikona apvalkā (S).

B2 grupā četriem dzīvniekiem labās puses a. Saphena asinsvadu kūlīši tika līgēti un ievīstīti līdzīgi iepriekš aprakstītajam protokolam, bet kreisā pusē tika izpreparēts 1,5 cm garš a. epigastrica asinsvadu kūlīša segments. Tas tika distāli līgēts ar 9/0 Ethilon mikroķirurģisko diegu un ievietots silikona apvalkā līdzīgi kā a. saphena kūlītis labajā pusē.

Visi dzīvnieki tika atkārtoti anestezēti un operēti pēc 3 nedēļām. Operācijas laikā tika gareniski atvērts silikona apvalks un asinsvadu kūlīti tika izvērtēta asins plūsma. Līgēto a. saphena un a. epigastrica asinsvadu kūlīšu segmenti tika nosūtīti HE histoloģiskai izmeklēšanai. Ja pēc silikona apvalka atvēršanas asinsvados tika konstatēts trombs, tad tas tika mērīts ar mikrometru.

Neliģētie kreisās puses asinsvadi tika izpreparēti līdzīgi kā līģētie, labās puses asinsvadi. Pēc silikona apvalka atvēršanas asins plūsma asinsvados tika izvērtēta, izmantojot netiešos un tiešos plūsmas noteikšanas testus.

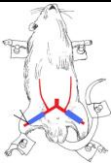
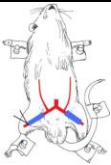
C grupā četrām žurkām abpusēji tika izpreparēti 1.5 cm gari a. Epigastica kūlīši, kuri tika ligēti ar 9/0 Ethilon mikroķirurģisko diegu un ievīstīti silikona apvalkā. Šīs grupas dzīvnieki tika atkārtoti izvērtēti pēc 3 nedēļām. Visi kūlīši tika rezecēti un nosūtīti aklai HE histoloģiskai izvērtēšanai.

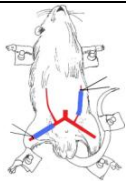
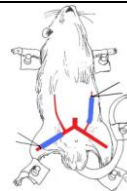
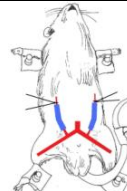
2.1.Tabula

Pētījuma dzīvnieku kopsavilkums

2-6 h	A Grupa	Dxt. saph	Sin. saph	Dxt. Saph	Sin. saph	Dxt saph	Sin. saph	Dxt saph	Sin. saph
									
		250G		255G		267G		290G	
		A-V-	A-V -	A-V-	A-V -	A-V-	A-V-	A-V -	A-V -
		Vizuāli stagnējošas asinis proksimāli no ligatūras (mm):							
		4	3	4	5	3	4	4	4
									
		310G		240G		245G		255G	
		A-V-	A-V -	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-
		Vizuāli stagnējošas asinis proksimāli no ligatūras (mm):							
		4	5	5	5	5	6	4	5

24 h					
		305G	300G	298G	245G

24h		Dxt. Saph	Sin. saph	Dxt. Saph	Sin. saph	Dxt saph	Sin. saph	Dxt saph	Sin. saph
		Artērijā trombs; garums mm							
		3	5	3	4	5	5	4	5
		Vēnā tromba nav							
		Apstiprina klīniski				Apstiprina klīniski un histoloģiski			
3 ned	B grupa								
		245G		256G		198G		305G	
		A+4 V+5	V-A-	A+5 V+6	V-A-	A+6 V+5	V-A-	A+4 V+4	V-A-
		Apstiprina							
		Klīn. + histol .	Klīn.	Klīn. + histol .	Klīn.	Klīn. + histol.	Klīn.	Klīn. + histol.	Klīn.
		Dxt. Saph.	Sin. Epig.	Dxt. Saph	Sin. Epig.	Dxt. Saph	Sin. Epig.	Dxt. Saph	Sin. Epig.

									
		248G		256G		298G		276G	
		A+5 V+5	V-A-	A+5 V+4	V-A-	A+4 A+5	V-A-	A+4 A+6	V-A-
		Apstiprina klīniski un histoloģiski							
3 ned.	C Grupa								
		Dxt. Epig.	Sin. Epig.	Dxt. Epig.	Sin. Epig.	Dxt. Epig.	Sin. Epig.	Dxt. Epig.	Sin. Epig.
		302G		278G		297G		288G	
		A- V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-	A-V-
		Apstiprina klīniski un histoloģiski							

Statistika.

Pētījumā tika iekļauti 24 dzīvnieki (žurkas), analizēti tika 48 asinsvadi (artērijas). Pētāmie dzīvnieki atbilstoši darba mērķim un uzdevumiem tika sadalīti 4 grupās. Rezultātu analīzē kā galvenais atkarīgais mainīgais ir tromboze – ir vai nav ligējot femorālos un/vai epigastrālos asinsvadus.

Kā references grupa tiek ņemta A jeb I grupa, kurā tika ligēti abi femorālie asinsvadi. Pētījuma laikā novēroja, ka tromboze izveidojas ne ātrāk kā 6 stundās un ne vēlāk kā 24 stundās.

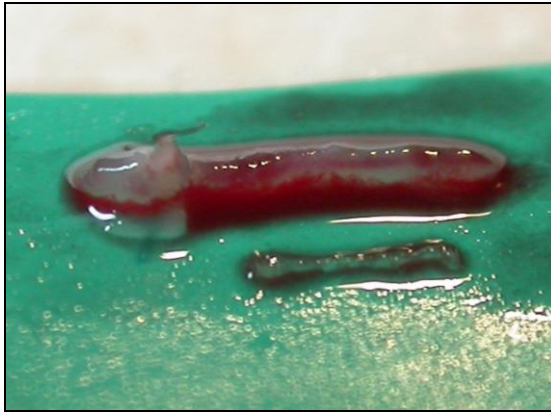
A grupas dzīvnieku asinsvadi un tromboze tajos tika salīdzināti ar pārējo grupu dzīvnieku asinsvadiem un trombozi.

Pētījuma dati tika apstrādāti, izmantojot programmas SPSS, CIA (Confidence Interval Analysis), Microsoft Excel. Analīzei lietotas aprakstošās un analītiskās statistikas metodes – aprēķināta vidējā vērtība, maksimums, minimums, standartnovirze, izmantots Fišera tests, lai noteiktu atšķirības starp kategoriju mainīgajiem, kā arī relatīvā riska (RR) aprēķini. Rezultātu statistiskā ticamība tika noteikta ar 95% ticamības intervālu (95%TI) un p vērtībām. Par statistiski ticamu tiek uzskatīts, ja p vērtība mazāka par 0,05.

3. REZULTĀTI

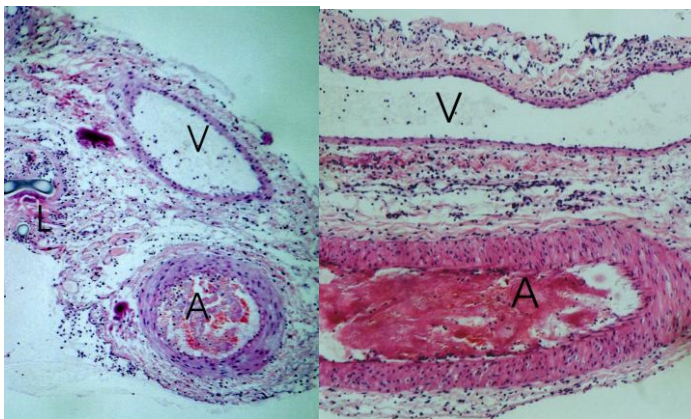
A grupā pēc 2,4,6 stundām trombu nekonstatē. Divi A grupas dzīvnieki, kuri tika novēroti 24 stundas tika pakļauti tiešai un netiešai asins plūsmas izvērtēšanai a. saphena kūlīšos. Abos gadījumos tika vizualizēta artēriju tromboze ar tromba vidējo garumu 5 mm (3.1.att.). Pēdējo divu šīs grupas dzīvnieku abpusējās artērijas tika nosūtītas histoloģiskai izvērtēšanai. Tajā tika konstatēti svaigi, arteriāli piesienas trombi. Savukārt vēnas proksimāli no ligatūras bija tukšas, bez trombozes iezīmēm (3.2.att.).

B grupā, kura tika izvērtēta pēc 3 nedēļām ligētās a. saphena artērijas, bija trombozētas, bez nosakāmas asins plūsmas. Tāpat netika novērota granulācijas neoangioģenēze ap šo artērijas kūlīti (3.3.att.). Histoloģiskā izmeklēšanā gan artērijā, gan vēnā tika konstatēts organizēts trombs ar kalcija depozītiem. Tromba garums svārstījās no 4.6mm līdz 7.6mm (3.4.att.). Papildus mēs novērojam masīvu neoangioģenēzi uz silikona caurulītes virsmas.



3.1.att. rezecētais a. saphena kūliša segments A grupa, 24 stundas.

Izdarīta trombektomija. Trombs artērijas segmenta priekšā.

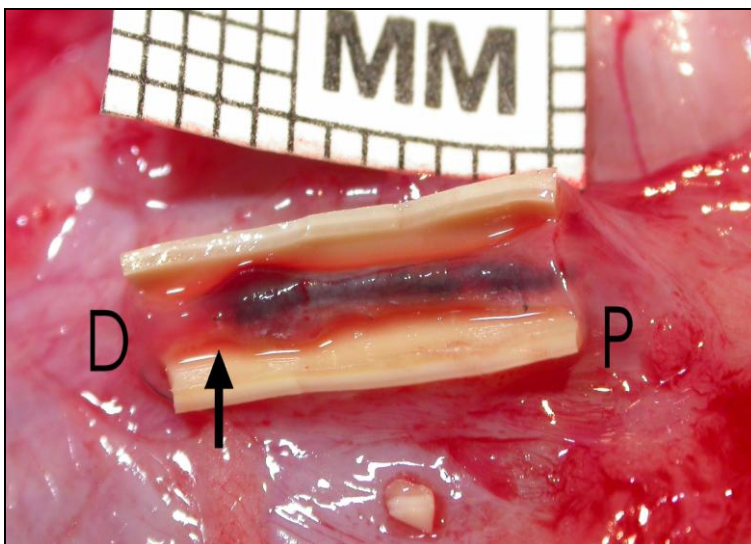


X

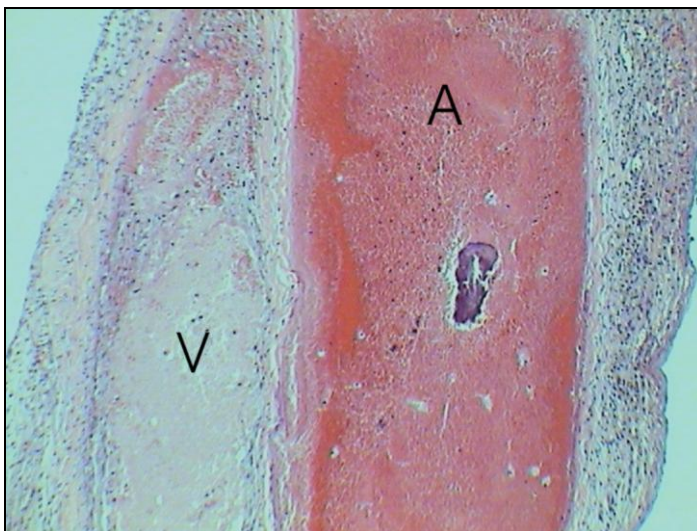
Y

3.2.att. A grupa, 24 stundas, HE krāsojums.

X - Longitudināls grieziens, Y – šķērs grieziens, 400X.



3.3.att. B grupa. 3 nedēļas. A. saphena tromboze.
 Milimetru lineāls dod priekšstatu par tromba izmēriem.
 Ligatūras vieta apzīmēta ar bultu, P-proksimāli, D-distāli.

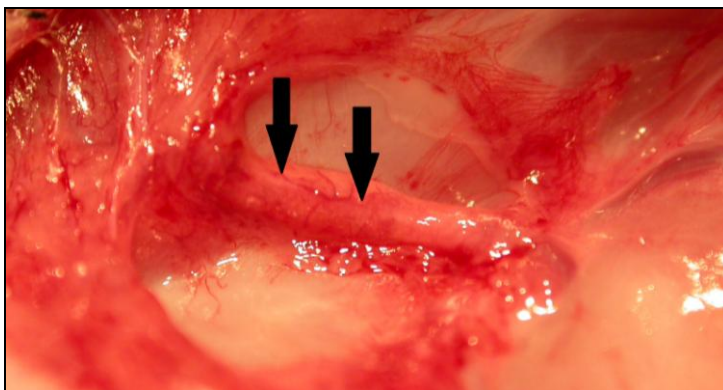


3.4.att. B grupa. 3 nedēļas. HE krāsojums.
Longitudināls grieziens. 400 X.
 Artērijas (A) un vēnas (V) lūmenā redzams organizēts trombs ar kalcija depozītiem.

B1 apakšgrupas dzīvniekiem tika konstatēts, ka silikona caurulīte nerada trombozi, jo, atverot silikona materiālu neliģētajā pusē, tika konstatēta asins plūsma gan artērijā, gan vēnā. Visiem četriem dzīvniekiem labās (pretējās) puses a. saphena kūlīšos histoloģiski tika konstatēts organizēts trombs.

B2 apakšgrupas dzīvniekiem nevienā no a. epigastrica kūlīšiem trombs netika konstatēts. Gan klīniski (3.5.att.), gan histoloģiski (3.6.att.) novērojot, tika konstatēta masīva granulācijas audu veidošanās ap kūlīti silikona trubiņas iekšpusē. Visu četru dzīvnieku pretējās puses a. saphena kūlīšos histoloģiski tika konstatēts organizēts trombs.

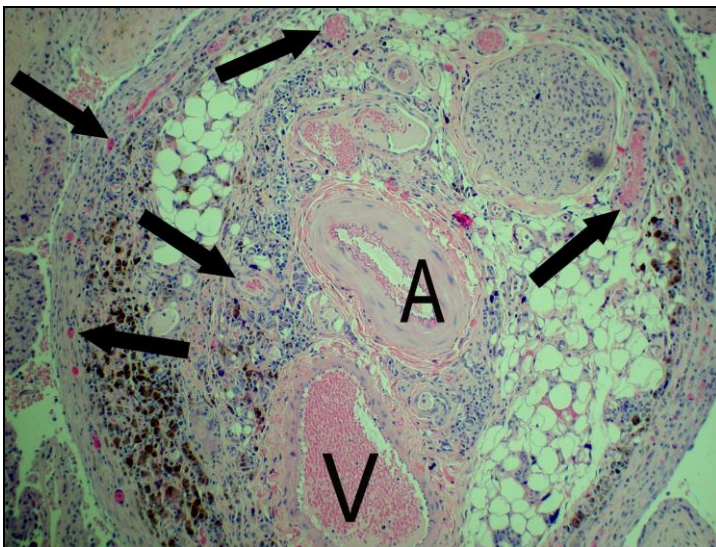
C grupā visiem dzīvniekiem tika konstatēta masīva granulācijas audu veidošanās ap a. epigastrica kūlīti. Šajos kūlīšos tika konstatēta normāla asins plūsma bez trombozes pazīmēm, bet ar masīvu neoangioģenēzi.



3.5.att. B2 apakšgrupa.

A. epigastrica kūlītis pēc silikona apvalka noņemšanas. 10X

Bultiņas norāda uz neovaskularizāciju un granulācijas audu veidošanos iekš silikona trubiņas.



4.10.att. B2 apakšgrupa, 3 nedēļas.

HE krāsojums. 400 X. a. epigastrica šķērsgriezniens.

Artērijā (A) un vēnā (V) trombus nenovēro.

Ap kūlīti novēro masīvu mikroasinsvadu tīklu, kurš sastāv no arteriolām un vēnulām (bultiņas)

Statistiska rezultātu analīze

Pētījumā iekļauto dzīvnieku (žurku) vidējais svars bija 271,1g (95%TI 259,1-283,2), grupu starpā netika novērotas statistiski ticamas atšķirības vidējam dzīvnieku sveram. Analizējot vidējo tromba garumu labajā artērijā, starp grupām tika novērotas statistiski ticamas atšķirības. Vidējais tromba garums statistiski ticami pēc Fišera testa atšķīrās A un B1 grupā ($F=4,8$; $p=0,05$), starpība 3,5mm (95%TI -1,3; -5,6), nozīmīgākas atšķirības tika novērotas A un B2 grupu starpā ($F=8,3$; $p=0,01$), starpība 3,3 (95%TI -1,1; -5,4) (4.1.tabula).

Vispārējo pazīmju raksturojums pētījumā iekļautajiem dzīvniekiem.

Pazīme	Vērtība	Grupa				Kopējais
		A	B1	B2	C	
Svars, g	Vidējā vērtība	271,7	251,0	269,5	291,25	271,1
	95% TI	(254,7 - 288,7)	(181,1 - 320,9)	(233,9 - 305,1)	(233,9 - 305,1)	(259,1 - 283,2)
	SD	26,8	43,9	22,4	10,6	28,6
	Min	240	198	248	278	198
	Max	310	305	298	302	310
Tromba garums (mm) labajā artērijā	Vidējā vērtība	1,3	4,8	4,5	N	2,2
	95% TI	(0,03-2,5)	(3,2-6,3)	(3,6-5,4)	N	(1,2-3,1)
	SD	1,9	0,9	0,6	N	2,3
	Min	3	4	4	N	3
	Max	5	6	5	N	6
Tromba garums (mm) kreisajā artērijā	Vidējā vērtība	1,6	N	N	N	0,8
	95% TI	(0,1-3,1)	N	N	N	(0,02-1,6)
	SD	2,4	N	N	N	1,8
	Min	4	N	N	N	4
	Max	5	N	N	N	5
Tromba garums (mm) vēnā	Vidējā vērtība	N	5	5	N	1,7

	95% TI	N	(3,7- 6,3)	(3,7- 6,3)	N	(0,6- 2,7)
	SD	N	0,8	0,8	N	2,4
	Min	N	4	4	N	4
	Max	N	6	6	N	6

95% TI – 95% ticamības intervāls (apakšējā un augšējā robeža)

SD – standartnovirze

Min – minimālā vērtība

Max – maksimālā vērtība

N – pazīme nav novērota

Datu analīzē tika izmantota asociāciju rādītāju aprēķināšanas metode pēc Kohran-Mantel-Henzel (Kohraan-Mantel-Henzele statistics). Datu aprēķinos tiek izmantotas 2x2 tabulas. Darbā kā asociāciju rādītājs tiek aprēķināts RR jeb relatīvais risks, ko izmanto arī dažādos klīniskā rakstura pētījumos. Relatīvo risku mēdz izmantot arī mazām izlasēm un retām slimībām jeb retiem iznākumiem. Relatīvais risks parāda un mēra proporcijas pieaugumu vai samazinājumu pētāmā notikuma (dotajā gadījumā trombozes iespējamību asinsvados) iespējamībai.

Rezultātu analīzē galvenais atkarīgais mainīgais ir tromboze. Tās klātbūtni vai neesamību konstatē, liģējot femorālos un/vai epigastrālos asinsvadus.

Kā references grupa tiek ņemta A jeb I grupa, kurā tika liģēti abi femorālie asinsvadi, un pētījuma laikā novēroja, ka tromboze izveidojas ne ātrāk kā 6 stundās un ne vēlāk kā 24 stundās.

A grupas dzīvnieku asinsvadi un tromboze tajos tika salīdzināti ar pārējo grupu dzīvnieku asinsvadiem un trombozes iespējamību. Relatīvais risks

jeb iespējamība iegūt trombozi ir 0,66 mazāka grupā A nekā grupā B1 un B2, taču minētās atšķirības netika novērtēts kā statistiski ticamas, jo 95% ticamības intervāls ietver vērtību „1”, kas nozīmē, ka risks ir vienāds abās salīdzināmās grupās, kā arī to parāda χ^2 kavdrāts, pēc Mantela-Hanzela, jo p vērtība ir lielāka par 0,05 ($\chi^2 = 0,69$; $p = 0,20$). Tas nozīmē, ka asinsvadu liģēšanas veids neietekmē tromba rašanās iespējamību (4.2.tab.).

4.2.tabula.

Trombozes riska iespējamības dati.

Trombozes iespējamība, risks	Vērtība	95% TI
A grupā	33,3%	17,8%-53,4%
B1 grupā	50%	21,5%-78,5%
B2 grupā	50%	21,5%-78,5%
RR (A/B1 un A/B2)	0,66	0,27-1,63

Procentuāli izteikta trombozes iespējamība norāda, ka A grupā, kurā tika liģēti abi femorālie asinsvadi trombozes iespējamība ir par 66% (95%TI 27%-63%) mazāka salīdzinājumā ar grupu B1, kurā tika liģēts 1 femorālais asinsvads un papildus abi femorālie asinsvadi ietīti silikona apvalkā. Tāda pat procentuālā iespējamība ir trombozei A grupā salīdzinājumā ar grupu B2, kurā tika liģēti 2 dažādi asinsvadi gan femorālais, gan epigastrālais.

Analizējot trombozes riska iespējamību vienas grupas ietvaros, varam secināt, ka trombozes risks A grupā, kad ir liģēti abi femorālie asinsvadi, tika novērots 33,3% (95%TI 17,8%-53,4%), kas norāda, ka tromboze pēc femorālo asinsvadu liģēšanas novērojama no 17,8% līdz 53,4% gadījumu. Savukārt trombozes procentuālā iespējamība grupas B1 ietvaros, kad tika liģēts 1 femorālais asinsvads, bija 50% (95%TI 21,5%-78,5%), tāda pat proporcija trombozes iespējamībai tika novērota arī grupā B2 – 50%, kad tika liģēti 2 dažādi asinsvadi – gan femorālais, gan epigastrālais, kas norāda, ka tromboze

pēc femorālā un epigastrālā asinsvada liģēšanas novērojama no 21,5% līdz 78,5%. C grupā, kur tika liģēti abi epigastrālie asinsvadi, netika novērota trombozes iespējamība.

4. DISKUSIJA

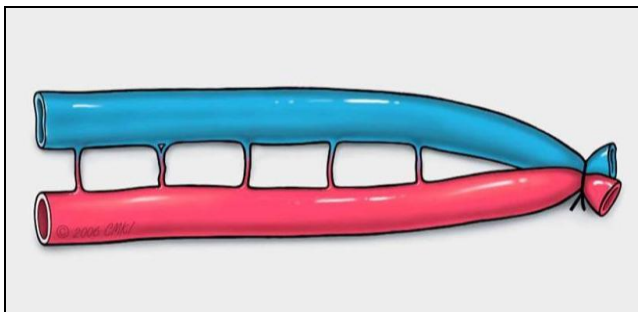
Klasiskais Hori pētījums 1979. gadā radīja apvērsumu uzskatos par iespējam revaskularizēt avaskulārus kaulaudus ar asinsvadu kūlīšu transplantātiem. Autoriem eksperimentā izdevās sasniegt artēriju caurteci 77 % ar sekojošu revaskularizāciju, kad nekrotiskā kaulā tika transplantēts viss arteriovenozais kūlītis. Tāpat jāatzīmē, ka arī Hori pētījumā, transplantējot arteriovenozās fistulas, veiksmīgs iznākums bija 33%. Pētot asinsvadu kūlīšu transplantācijas iespējas, Grišins (1983), Liu F. (1988) un Divakovs (1999) norādīja uz līdzīgiem rezultātiem. Savukārt Tanaka 2000. gadā ar līdzautoriem konstatēja, ka tieši arteriovenozas fistulas daudz labāk atjaunoja asinsriti (revaskularizēja) un radīja jaunu asinsvadu tīklu (neovaskularizēja) audos, salīdzinot ar arteriovenoziem kūlīšiem. Šīs problēmas pētīšana pēc Kenozora (Kenzora et al.), publikācijas 1978. gadā tikai pastiprināja neskaidrību par transplantētu asinsvadu kūlīšu lietderību avaskulāru kaulu nekrozes ārstēšanā. Gregs un Valders (Gregg, Walder 1980), kā arī Džills (Gill et al. 1998) ar līdzautoriem izteica hipotēzi, ka spontāna revaskularizācija notiek lielākajā išēmisko audu daļā, ja tiem ir blakus pieguļoši normāli, apasiņoti audi. Šo faktu apstiprināja Kenozoras un līdzautoru pētījums ar išēmiskām ciskas kaulu galviņām trušiem, kur var izdarīt secinājumus, ka revaskularizācija noritējusi no pieguļošā kaula ar normālu asinsriti .

Analizējot publikācijas kļūva skaidrs, ka šajos pētījumos atšķiras metodoloģijas, jo 1) tie lietoja dažādus asinsvadu kūlīšus un 2) dažādi sagatavoja šos asinsvadu kūlīšus. Daži autori lieto žurkas femorālos asinsvadus, bet citi epigastrālos asinsvadus, bet daži autori izmantoja tikai

surālo artēriju, tajā pašā laikā citi autori izmantoja surālo artēriju, atstājot nelielu liģētu epigastālās artērijas segmentu, bet savos pētījumos norādīja, ka tā ir tikai femorālā artērija (Gartsman, 1985), (Takato 1991). Tāpat bija arī tehniskas atšķirības, kā šie pētījumi tika veikti, jo daži autori transplantēja asinsvadu kūlītšus nekrotiskā kaulā, kas bija pilnīgi izolēts no apkārtējiem audiem, tajā pašā laikā citi autori transplantēja šādus asinsvadu kūlītšus išēmiskos kaulu segmentos, kuriem joprojām saglabājās kontakts ar veselo apasiņoto kaulu (Tanaka et al. 2000).

Mūsu pētījuma metode izvērtēja divus dažādus asinsvadu kūlītšus viena eksperimentālā dzīvnieka ietvaros, kā arī pakļāva tos identiskiem avaskulāriem ārējas vides apstākļiem. Tas ļāva objektīvi tos salīdzināt savā starpā, kas praktiski nebija iespējams ar iepriekš apskatīto rakstu metanalīzes metodi.

Šī pētījuma rezultāti parāda, ka liģētajos a. saphena asinsvadu kūlītšos, kuros nenotiek efektīva venozo asiņu attece, veidojas tromboze. Šādiem kūlītšiem nav angioneoģenēzes (jauna, funkcionējoša mikro asinsvadu tīkla rašanās) potenciāla. „Paralēlo cauruļvadu tipa” asinsvadiem ir raksturīgi, ka nepastāv fizioloģiski nozīmīgas mikro-asinsvadu anastomozes starp artēriju un pavadošām vēnām. (1.1.-A.att.). Aksiālā lēvera tipam asinsvadu kūlītīm ir raksturīgi, ka starp artēriju un vēnu ir klasiska mikrovaskulāra komunikācija: artērija-arteriola-kapilārs-vēnula-vēna (1.1.-B.att.). AVŠ gadījumā komunikāciju starp artēriju un vēnu nodrošina tieša arteriovenoza komunikante (4.1. att.). Fizioloģiski šādus šuntus visbiežāk novēro audos, kuros notiek asinsrites plūsmas termoregulācija – ādā un muskuļos.



**4.1.att. Asinsvadu kūlītis, kurā caurteci nodrošina
arteriovenozi šunti**

Gan aksiālā lēvera tipa asinsvadu kūlītis, gan AVŠ fizioloģiski uzvedas līdzīgi, tomēr ne vienādi. Abos notiek eferenta asiņu plūsma, un tie var līdzīgi aksiālam lēverim izdzīvot avaskulārā vidē, un abiem šiem tipiem ir galvenie ass asinsvadi. Šie abi pēdējie tipi var būt neovaskularizācijas avots avaskulāriem, jeb išēmiskiem audiem, jo tie tajos spēj izdzīvot. AVŠ varētu būt priekšrocības audu neovaskularizācijā (revaskularizācijā) un lēveru prefabrikācijā.

Pirmie mēģinājumi uzlabot išēmisku audu asins apgādi ar citu anatomisko reģionu asinsvadu kūlīšiem vai lēveriem notika 20. gadsimta sākumā. Vinebergs (Vineberg) miokardā transplantēja a. thoracica interna ar mērķi uzlabot išēmiskā miokarda apasiņošanu. Vudhaus (Woodhouse 1963) un Šteins (Stein 1971) lika pamatus koncepcijai par kaula revaskularizāciju, izmantojot asinsvadu kūlītšus. Erol un Spira veiksmīgi attīstīja šo konceptu vēl tālāk, cenšoties prefabricēt lēveri, izmantojot AVŠ. Mians (Mian et al.) jau izmantoja šādas mākslīgas fistulas ne tikai lēveru prefabricēšanā, bet arī jaunu audu radīšanā, tādējādi izmantojot šo konceptu audu inženierijā.

Citējamajā literatūrā ir daudz eksperimentālu pētījumu, kuros a. Femoralis (vai a. Saphena) tiek izmantota mīksto audu lēveru prefabrikācijai vai išēmisku audu revaskularizācijai (e.g. osteonekrozes gadījumā). Diemžēl

šos pētījumus praktiski nav iespējams salīdzināt savā starpā, jo atšķirīgi ir izvēlētie gan eksperimenta dzīvnieki, gan ķirurģiskā metodika.

Daļa autoru uzskata, ka ir nepieciešama kāda speciāla „kritiska mikrocirkulācija”, lai izolēts asinsvadu kūlītis izdzīvotu. A. saphena kūlītim iztrūkst šī „kritiskā mikrocirkulācija”, kas spētu novērst kūlīša trombozi. Šādi kūlīši var izdzīvot tikai situācijās, kurās tie tiek transplantēti normāli vaskularizētā vidē ar mērķi radīt jaunu angiosomu, nevis uzlabot vai atjaunot išēmisku audu apasiņošanu. Balstoties uz Teilora un Palmera radīto angiosomas konceptu, var uzskatīt, ka transplantējot audos asinsvadu kūlīti un radot jaunu angiosomu, audu asinsrite neuzlabojas, bet izmainās apasiņošanas anatomija. Ievietojot ligētu a. Saphena vai a. Femoralis kūlīti normāli vaskularizētā vidē, notiek strauja inoskulācija ar apkārtējiem audiem, kas novērš trombozes iespējas un nodrošina venozo asiņu atplūdi, vai arī trombozes gadījumā nodrošina normālu rekanalizāciju ar efektīvu eferentu venozo atplūdi. Šis fakts arī izskaidro, kāpēc autoriem, kuri izmantoja a. saphena kūlīšus lēveru prefabrikācija neradās problēmas ar kūlīšu trombozi. Tas tāpēc, ka līdz laikam, kad lēveri tika pētīti un transplantēti (3 nedēļas), trombolīze jau bija notikusi un bija atjaunosies normāla asinsrite, radot jaunu angiosomu. Mūsu pētījumā pielietotais silikona apvalks novērsa inoskulāciju a.saphena kūlīšiem un iepriekšminētais scenārijs nevarēja realizēties.

Asinsvadu kūlīšu transplantācija tiek izmantota arī kaulaudu inženierijā. Kaulaudu inženierijā dažādas uzbūves mākslīgos kalcija hidroksiapatīta (KHA) keramikas materiālos ievieto asinsvadu kūlīti ar mērķi panākt asinsvadu tīkla ieaugšanu mākslīgā materiālā. Osteocītu ieaugšana porainos HA ir atkarīga no iepriekšējās asinsvadu ieaugšanas materiālā (Akita, 2005).

Ozireks (Ozyurek, 2008) ar līdzautoriem transplantēja trušu asinsvadu kūlīšus gan kaula autotransplantātā, gan svaigi saldētā allotransplantātā, gan ksenotransplantātā. Jāatzīmē, ka kūlīša transplantācija veicināja ne tikai

autografta sadzīšanu ar recipienta kaulu, bet arī allografta un ksenografta sadzīšanu ar truša tibijas segmentu.

Mūsu pētījuma mērķis bija dažādu liģētu asinsvadu kūlīšu trombozes riska noteikšana un līdz ar to arī šo kūlīšu iespējamā revaskularizācijas potenciāla atklāšana. Mēs tieši nepētījām „paralēlo cauruļvadu” tipa asinsvadu kūlīša revaskularizācijas potenciālu, tomēr iepriekšminēto autoru pētījumi ar neliģētiem caurteces asinsvadu kūlīšiem norāda, ka arī šādiem kūlīšiem var būt angioneoģenēzes un līdz ar to revaskularizācijas potenciāls.

Lielākā daļa no citētajiem kūlīšu transplantācijas pētījumiem balstās uz priekšpieņēmumu, ka jebkuram dzīvam organismam jebkuri liģēti asinsvadu kūlīši izdzīvo un funkcionē kā lēveris un kā angioneoģenēzes avots. Zināms, ka viens no galvenajiem eksperimentālā, zinātniskā pētījuma pamatkritērijiem ir uzstādījums: zinātniskam pētījumam nevar būt iepriekšpieņēmumi, kuri nav eksperimentāli pierādīti. Lielākā daļa autoru uzsāka savus pētījumus balstoties uz nepierādītu iepriekšpieņēmumu, kas izkropļoja eksperimenta rezultātu interpretāciju. Neskatoties uz šo kļūdaino iepriekšpieņēmumu, citējamā literatūra nepārprotami norāda uz šādu kūlīšu izteiktu angioģenēzes, potenciālu, situācijās, kurās šo kūlīšu trombozi nenovēro.

Mūsu pētījumā mēs pierādījām, ka dažādu anatomisko reģionu asinsvadu kūlīši var anatomiski atšķirties, un tikai tie kūlīši, kuros notiek patstāvīga venoza attece vai caurtece, ir izmantojami revaskularizācijā. Mūsu pētījums dod pamatu daudziem jauniem eksperimentiem, kuros galvenā uzmanība būs jāvērs uz laboratorijas dzīvnieka asinsvadu tipu izvēli katram konkrētam pētījumam.

5.SECINĀJUMI

A. saphena kūlītis netrombozējas 2,4 vai 6 stundu laikā, bet trombozējas 24 stundu laikā un tam nenovēro rekanalizāciju un neoangioģenēzi vismaz 3 nedēļas pēc liģēšanas. A. epigastrica kūlītis netrombozējas un saglabā no

apkārtējās vides neatkarīgu dzīvotspēju arī 3 nedēļas pēc ligēšanas. Ap šo kūlīti silikona apvalkā (avaskulārā vidē) novēro masīvu angioneoģenēzi.

Ligēts a. saphena kūlītis avaskulārā vidē (silikona apvalkā) trombozējas, bet tas saglabā savu dzīvotspēju arī pēc 3 nedēļām, ja netiek ligēts, bet iet cauri avaskulārai videi. Ligēts a. epigastrica asinsvadu kūlītis avaskulārā vidē netrombozējas un saglabā dzīvotspēju.

Eksperimentālā dzīvnieka – žurkas modelī, a. saphena kūlīša un a. epigastrica kūlīša morfoloģija un fizioloģija ir atšķirīgas, un atšķirīgas ir konsekvences (angioģenēzes potenciāls), tos ievietojot avaskulārā vidē. A. saphena kūlītis trombozēties un nebūs avots angioneoģenēzei. Savukārt, a. epigastrica kūlītis avaskulārā vidē ne tikai izdzīvo, bet arī uzrāda labu angioneoģenēzes potenciālu. Mēs uzskatām, ka tas notiek, pateicoties efektīvam venozo asiņu atces mehānismam a.epigastrica kūlītī.

Mikroskopiski vizualizējot asinsvadu kūlīšus ap a. Epigastrica, var novērot labi attīstītu adventīcijas slāni, kurš satur arteriovenoza asinsvadu tīklu. Savukārt, ap a. saphena šādu adventīcijas slāni novērot nevar.

Mēs uzskatām, ka arī cilvēka ķermenī visi asinsvadu kūlīši nav vienādi, kā tas līdz šim tika uzskatīts. Dažus noteikti var izmantot avaskulāru audu revaskularizācijai un lēveru prefabrikācijai, bet citus noteikti nevar.

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

1) Kaulu revaskularizācijā, izmantojot vaskularizētus kaula transplantātus, neskeletonizēt asinsvadus, bet ņemt tos kopā ar fascijas strēmeli, tādējādi maksimāli saglabājot adventīciālos audus un nodrošinot efektīvu venozo asiņu atceci un kaula transplantāta izdzīvošanu un inkorporāciju.

2) Kaulu revaskularizācijā, izmantojot ligētus asinsvadu kūlīšus, līdzīgi kā iepriekš, neskeletonizēt asinsvadu kūlīšus, bet tos ņemt ar iespējami biežāku

adventīciālo audu slāni, ideālā gadījumā uz fascijas pamatnes. Nepieciešams nodrošināt papildus garumu asinsvadu kūlītim, tā, lai izvelkot to cauri avaskulārā kaula kanālam, asinsvadu kūlīša distālais gals būtu ārpus revaskularizējamā kaula. Tieši distālais asinsvadu kūlīša gals ir pakļauts vislielākajām trombozes briesmām. Mūsu pētījumā a. saphena tromba garums svārstījās no 4.6mm līdz 7.6mm. Tāpēc mēs rekomendējam kūlīti ievietot avaskulārajā kaulā tā, lai tā distālais gals atrastos vismaz 7.6 mm ārpus kaula ar mērķi uzlabot kontakta virsmu ar asinsvadu kūlīti, kuram ir vislabākais revaskularizācijas potenciāls. Šī rekomendācija attiecas uz mikroasinsvadu kūlīšu transplantātiem.

3) Audu revaskularizācijā izmantot tikai aksiālā tipa asinsvadu kūlīšus un/vai arī paralēlo cauruļvadu asinsvadu kūlīšus, kuri tiek izmantoti caurplūsmā bez līgēšanas.

7. ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS

1. Kapickis M., Lim A., Lahiri A., Different angiogenic behaviour of ligated saphenous and epigastric vascular bundles in avascular environment: an in-vivo experimental study // Journal of Hand Surgery (Asian), 2010; 15(1): 17-25.
2. Kapickis M., Sassu P., Thirkannad SM. Evaluation of Two types of vascular bundles for revascularization of avascular tissue // Journal of Hand Surgery (Am), J Hand Surg Am, 2009; 34(8): 1461-1466.
3. Kapickis M., Pupelis G. Failed revascularization of the avascular tissue as a result of the thrombosis of the transplanted vascular bundle // Rīgas Stradiņa Universitātes Zinātniskie raksti/ RSU Scientific papers, 2008; 23-30.

8. ZIŅOJUMI PAR DARBA REZULTĀTIEM

1. Kapickis M., Pupelis G., Lim A., Lahiri A. 23rd Scandinavian Hand Society Meeting, Gotland, Sweden. May 26, 2010. *Different angiogenic behaviour of ligated saphenous and epigastric vascular bundles in avascular environment: an in-vivo experimental study.*
2. Kapickis M., Pupelis G., Thirkannad MS., Lim A. 1st Baltic Hand Surgery Meeting. Riga, Latvia. May 24, 2010. *Evaluation of Two Types of Vascular Bundles for Revascularization of avascular Tissue.*
3. Kapickis M., Sunil TM., Sassu P. ASSH 62nd Annual Meeting in Seattle, WA on September 26 – 29, 2007. *Vascular bundles for revascularization of tissues. Are they all the same?*
4. Kapickis M., Sunil TM., Indiana/Louisville/Cincinnati Tri-State Hand Surgery Conference 2007. *Two types of vascular bundles for revascularization of tissues.*

9. PIELIKUMI

9.1. IACUC protokola galviņa

IACUC protocols apstiprināts Luisvilles Universitātes zinātnes daļā
2007. gada 24. maijā. Pilns dokuments satur 13 lpp.

Revision

FOR IACUC USE ONLY
PROPOSAL # 07-033
CLASSIFICATION(S) II

UNIVERSITY OF LOUISVILLE
PROPOSAL TO USE LABORATORY ANIMALS IN RESEARCH AND TEACHING
(PLEASE TYPE)

I. ADMINISTRATION

Project Director (Individual with responsibility for the proposed study):

Name Sunil Thirkannad

University Title Assistant Clinical Professor

Department Surgery **Division** Hand and Microsurgery

University Address (Bldg./Room #) Kleinert Institute 225 Abraham Flexner Way Suite 250

Phone Number 562-0323 **E-mail** sthirkannad@cmki.org **ID** 1520107 **FAX** 562-0326

Co Director(s) Martins Kapickis, MD

Project Title (limit to 60 characters including spaces)

RATE OF THROMBOSIS OF ATRAUMATICALLY LIGATED VASCULAR BUNDLES

Funding Source Kleinert Institute

Dates of Proposed Project - From: 4/15/2007 **To:** 1/7/2008

II. PROPOSAL TYPE (See Instructions, pages i,ii, sections III,IV)

☒ (X) New Proposal

☐ () 3-Year Renewal

☐ () Modification of Previously Approved Proposal

RECEIVED MAY 22 2007

Provide the following information (if applicable):

Current IACUC Proposal Number (If Applicable)

UofL Speedtype Number (Please include if you know)

Date of Current IACUC Approval

Z 2004

III. PROPOSAL PURPOSE

☒ (X) Research

☐ () Education

☐ () Professional Education

☐ () Undergraduate Education

☐ () Graduate Education

☐ () Continuing Medical Education

IACUC # _____

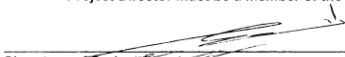
IV. SIGNATURES AND APPROVALS

I certify that the statements herein are true and that if protocol changes are required, I will resubmit the proposal according to instructions given for the modification of a previously approved proposal.

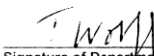
As Project Director,** I will conduct the proposed research according to the principles of the "NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" and will conform to federal, state, and institutional laws or guidelines concerning the care and use of animals in research, teaching, or testing.

I understand that the IACUC has concern for the ethical aspects and implications of all studies involving animals and I will cooperate with the Committee in its consideration of these issues. I also understand that the individuals listed as project participants must comply with all IACUC training and occupational health and safety requirements.

**Project Director must be a member of the University of Louisville faculty.


Signature of Project Director _____ Date 3/29/07

DEPARTMENTAL APPROVAL: Approval implies that the Department has reviewed and endorses the proposed research, including the use of laboratory animals.

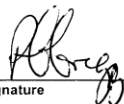

Signature of Department Chair _____ Date 3/29/07

.....
..

IACUC ACTIONS

Approved _____
Contingent Approval _____
Disapproved _____

CONTINGENCIES/REMARKS:


IACUC Chair Signature _____ Date 5/24/2007

9.2. Patologa aizpildītās tabulas paraugs

Patologanatoms par katru histoloģisko slaidu aizpildīja sekojošu tabulu:

Atraumatically ligated vascular bundles – Kapickis & Thirkannad study

Animal specimen from rat thigh

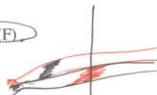
Specimen number : 3 F

Type of specimen : Epigastric – (E) / ~~Femoral bundle – (F)~~

Harvested on :

Duration : 3 weeks

Impression:



Findings – YES / NO	Artery	Vein
Neovascular sprouting		
Thrombus	no	yes ✓
Adherence of thrombus	no	yes ✓
Length of thrombus (in mm)	—	
Type / organization of thrombus		organizing stasis thrombus
If no thrombus seen, what else was seen in the lumen		
Any other findings	calcifications in vessel wall new small vessel formation @ artery, vein, + nerve bundle	

.....
Name of pathologist

.....
Signature

10. IZZIŅAS UN PATEICĪBAS

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu.



Paldies Singapūras Universitātes Slimnīcas mikroķirurģijas laboratorijai un tās darbiniekiem, kā arī Luisvilles Universitātes Slimnīcas Patoloģiskās Antomijas katedras darbiniekiem par sniegto tehnisko atbalstu zinātniskā darba izstrādē.