

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Lokális, interpolált és áthelyezett musculocutan
lebenyek komplex áramlástanai vizsgálatai kísérletes
sebészeti modellen**

Dr. Kincses Gergő

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2026

Lokális, interpolált és áthelyezett musculocutan lebenyek komplex áramlástanai vizsgálatai kísérletes sebészeti modellen

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

Írta: Dr. Kincses Gergő okleveles orvosdoktor

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Experimentális és operatív orvostudományok programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert

Az értekezés bírálói:

Dr. Pál Balázs, MTA doktora
Dr. Varga Gabriella, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Méhes Gábor, MTA doktora
tagok: Dr. Pál Balázs, MTA doktora
Dr. Szántó Zalán, PhD
Dr. Tóth Imre, PhD
Dr. Varga Gabriella, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet
„A” épület tanterme
2026. június 4. 13:00

BEVEZETÉS

Napjainkban a modern orvostudomány dinamikus fejlődésének hála, az emberi test kiterjedt bőr- és lágyrész defektusainak pótlására számos lehetőség áll rendelkezésre. A technológiai fejlődés és az állatkísérletek során szerzett tapasztalatok a korábban inkurabilisnak vélt szituációkból is kiutat nyújthatnak. A mikrosebészet rohamos fejlődése az elmúlt évtizedekben forradalmi változásokat hozott a rekonstruktív sebészet területén. A különböző szöveti lebenyek átültetése – legyen szó bőr-, izom-, fasciocutan- vagy osteocutan lebenyekről – ma már rutinszerűen alkalmazott eljárások számos klinikai indikációban, a traumás, daganatos vagy égési eredetű defektusok rekonstrukciójától kezdve a komplex szövetpótlásokig.

A lebeny patofiziológiájának tanulmányozására, a lebenyképzés optimalizálására, a prekondicionálás és a megelőzési lehetőségek tanulmányozása érdekében számos, különböző lebenyre (elhelyezkedés, szövetösszetétel) vonatkozó kísérleti modell került publikálásra.

A szöveti lebenyek alkalmazása a rekonstruktív sebészet egyik alapvető pillére, melynek célja a szerzett vagy veleszületett szöveti hiányok anatómiai, funkcionális és esztétikai helyreállítása. A lebenyek használata akkor válik szükségessé, amikor a primer sebzés, illetve a helyi szövethiány bőrátültetéssel (grafttal) történő fedése nem biztosít kielégítő eredményt a vérellátás, szöveti vastagság, funkció vagy stabilitás szempontjából. A lebenyek – ellentétben a graftokkal – saját vérellátással rendelkező szövetegységek, amelyek különböző anatómiai komponenseket (bőr, bőr alatti szövet, izom, fascia, csont stb.) tartalmazhatnak, így komplex szövethiányok pótlására is alkalmasak lehetnek. A mikrosebészet fejlődésével lehetővé vált defektustól távoli szövetekkel való rekonstrukció, a szabadlebenyek (free flaps) alkalmazása. Ezek a lebenyek teljesen függetlenek az eredeti vérellátásuktól, és micro-anastomosisok révén átültethetőek a recipiens területre.

A lebeny ischaemiás károsodását hatékonyan lehet csökkenteni az egyes betegek számára személyre szabott technikák alkalmazásával. A megfelelő vérellátás megőrzése alapvető kritérium a sikeres transpositio és transplantatio szempontjából. A perfusio zavara késlelteti a gyógyulást, növeli a gennyesedés, tályogképződés és necrosis kialakulásának kockázatát, súlyos esetekben pedig a lebeny elhalásához vezethet. Bár a lebenyműtét major szövődményei, mint a necrosis, a perfusió/microcirculációs zavarok, az ischaemia/hypoperfusio, a vénás pangás, a varratelégtelesség és a fertőzés attributumai jól ismertek, számos kérdés továbbra is megválaszolatlan maradt. A lebeny túlélését előre jelző perfusió küszöbértéket és a pontos microcirculációs változásokat még tisztázni kell. Emellett hiányoznak az ischaemia vagy a vénás pangás megbízható korai indikátorai.

A különböző lebenytípusok ischaemia iránti toleranciája és az ischaemia-reperfusió (I/R) károsodás mögött meghúzódó molekuláris mechanizmusok további vizsgálatot igényelnek. Az artériás és vénás károsodások megkülönböztetése a klinikai gyakorlatban kiemelt jelentőségű. A műtéttechnikai szempontok, beleértve a varróanyagok biomechanikai tulajdonságait és az anastomosis stabilitását, továbbra is nagy figyelmet igényelnek. A bakteriális kontamináció, az immunválasz és a sebgyógyulás zavara közötti kapcsolat még nem teljesen tisztázott. Szisztematikus értékelésre van szükség a lebeny kialakításának és geometriájának, különösen a pediculus és a lebeny méretarányának, orientációjának és vastagságának a perfusióra és a necrosis kialakulására gyakorolt hatását illetően.

Számos tanulmány vizsgálja az ischaemia mérséklésének lehetőségeit, mind gyógyszeres, mind műtéttechnikai eszközökkel. A vasopressorok eredményesnek bizonyultak szabad szövet átültetése kapcsán, csökkentve a lebenyelhalás valószínűségét. Klinikai vizsgálatokban vizsgálták a perioperatív aspirin, a heparin és a dextran alkalmazásának pozitív hatásait. A metaanalízisekben kiemelték a heparin és az LMWH dozírozásának fontosságát. Dextran-40 postoperatív alkalmazása csökkentette a részleges lebenyelhalás kockázatát,

ugyanakkor súlyos tüdőelégelenséget okozhat. A lebeny prekondicionálása szintén jó módszer a lebeny ischaemia előfordulásának csökkentésére. A negatív nyomású terápia, mint például a non-invasív vacuum-kezelés, elősegíti az angiogenezist, pozitív hatással van a szöveti perfúzióra és javítja a lebeny túlélési esélyét. Az elektromos stimuláció ideális módszer a lebeny túlélési esélyének javítására a lebeny preparálása előtt. A hyperbaricus oxigén kondicionálás csökkentheti a gyulladást, növelheti a perfúziót és csökkentheti a lebeny atrófiájának arányát.

A lehetséges lebenykárosodás mihamarabbi észlelésére különböző módszerek állnak rendelkezésre. Ezek a fizikális vizsgálat során tapasztalt bőr elszíneződés, a szövet hőmérsékletének változása, a kapilláris újratöltődés megnyúlása, valamint a lebeny perfúziójának eszközös mérési lehetőségei. Ugyanakkor ezek megfelelő értékelése nagymértékben függ a megfigyelő tapasztalatától és ítélőképességétől.

A laboratóriumi paraméterekben észlelt eltérések, mint például a vörösvérsejtek deformálhatósága és aggregációja szintén nagy jelentőséggel bírnak. Ezek a paraméterek számos kórélettani állapotban változást mutatnak, ezért vizsgálatuk a sebészeti és mikrosebészeti kísérletekben is elengedhetetlen. Thromboticus és ischaemia-reperfusio komplikációk a rekonstrukciós sebészeti beavatkozások minden fázisában előfordulhatnak: az előkészítés, a lebeny transpozíciója vagy rotációja, illetve a gyógyulási időszak alatt is.

Micro-rheológiai összefüggéseik azonban még nem teljesen tisztázottak. A szakirodalomban nem találtunk példákat a micro-rheologia és a microcirculatio egyidejű vizsgálatára, valamint a helyi és a forgatott lebenyek összehasonlítására szolgáló szövettani vagy biomechanikai adatokra. Hipotézisünk az volt, hogy a micro-rheológiai és a microcirculációs paraméterek, valamint a szövettani és biomechanikai tulajdonságok informatívak lehetnek a különböző lebenypozíciók összehasonlításában és a sebgyógyulási folyamat nyomonkövetésében a műtét utáni korai időszakban.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Patkányban kísérletes musculocutan-lebeny modell kidolgozása, amely jól reprodukálható, jelentős funkciókiesést nem okoz, és alkalmas a lokális-, az interpolált- és az átültetésre kerülő szabadlebenyek vizsgálatára.
2. A lebenyek perfuziójának komplex intra- és postoperatív követéses vizsgálata, a hemodinamikai és mikrokeringési módszerek összehangolásával.
3. A lebenyek regenerációja során a szöveti mikrokeringést is befolyásoló haematologiai és micro-rheologiai paraméterek (vörösvérsejt deformabilitás, vörösvérsejt aggregatio) változásainak vizsgálata.
4. A különböző lokalizációjú (lokális, interpolált, átültetett) lebenyek regenerációjának korai időszakában (első két postoperatív hét) zajló szövettani változások összehasonlító elemzése.
5. A lebenyek biomechanikai vizsgálata, különös tekintettel az ellátó értől különböző távolságra lévő területek összehasonlítására és az érnél feszülésének hatására.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1.1. Kísérleti állatok

A kísérleteket a megfelelő engedélyek birtokában végeztük (engedély nyilvántartási szám: 19/2022/DEMÁB) a nemzeti szabályozásoknak (1998. évi XXVIII. törvény az állatok védelméről és humánus kezeléséről) és az EU irányelveknek (2010/63/EU) megfelelően.

A kísérleti állatként a patkányokat választottunk, a jól kialakítható és reprodukálható kísérletes mikrosebészeti modellek tekintetében. A vizsgálatban 24 felnőtt hím Wistar patkányt (Crl:WI, testtömeg: $382,99 \pm 37,23$ g, Toxi-Coop Zrt., Budapest, Magyarország) használtunk. Az állatokat a tanszék konvencionális állatházában tartottuk (standard ketrecek: Eurostandard IV, Tecniplast, Buguggiate, Olaszország; hőmérséklet: 22 ± 2 °C; páratartalom: $55 \pm 10\%$;

világítás: 12–12 órás világos/sötét ciklus). Szabadon hozzáférhettek a standard patkánytáphoz (SAFE® D132, Complete Care Competence, Augy, Franciaország) és vízhez. Az állatok 2 hetes akklimatizációs időszak után vettek részt a kísérletekben.

1.2. Kísérleti csoportok

Számítógéppel generált randomizálás alapján az állatokat három kísérleti csoportba osztottuk:

- kontroll csoport (Kontroll, n = 8)
- helyi- és interpolált lebenyek összehasonlítására kialakított csoport (Flap, n = 8)
- helyi- és átültetett lebenyek összehasonlítására kialakított csoport (TransFlap, n = 8).

A kontroll csoportban a protokoll elemei a következők voltak: érzéstelenítés, a releváns területek feletti szőrtelenítés és a műtét idejére történő rögzítés (hasonlóan a többi csoporthoz).

A Flap csoportban a musculus cutaneus maximuson alapuló izom-bőrlebenyeket készítettünk mindkét oldalon. Az egyik lebenyt visszavarrva eredeti helyére (lokális lebeny, jobb oldal), a másikat pedig egy subcutan alagúton keresztül átvezetve a mellkas elülső falára rögzítettünk (interpolált lebeny, bal oldal).

A TransFlap csoportban a lokális lebeny kialakítása mellett a másik lebenyt a bal lágyéki régióba helyeztük át szabad lebenyként, microvascularis anastomosisokat.

1.3. Műtéti protokoll

Az általános érzéstelenítéshez ketamin-hidrokloridot (100 mg/testtömeg-kg, i.p., CP ketamin-hidroklorid 10%, Produlab Pharma BV, Raamsdonksveer, Hollandia) és xilazin-hidrokloridot (10 mg/testtömeg-kg, i.p., CP xilazin-hidroklorid, 2%; Produlab Pharma BV, Raamsdonksveer, Hollandia) alkalmaztunk. Az állatok spontán lélegeztek. Az anesztézia ellenőrzése érdekében megfigyeltük a légzésszámot és -mélységet, a nyálkahártya és a

végtagok színét. A műtét alatt fűtőpárnával (Bremed, Budapest, Magyarország) tartottuk fenn a testhőmérsékletet.

A musculocutan flap (izom-bőrlebeny) képezéséhez a patkány oldalán elhelyezkedő musculus cutaneus maximus (amelyet az arteria thoracalis lateralis lát el), a fedő fascia réteg és bőr mindkét oldalon felhasználásra került. A szőrtelenítés után és a lebeny előkészítése előtt az angiosoma kiterjedését CytoCam-IDF kamerával (Braedius Medical, Huizen, Hollandia) határoztuk meg. A mérés eredménye alapján megközelítően bab alakú műanyag sablon lapot (felülete = 7,13 cm²) használtunk a lebeny kontúrjának megjelöléséhez a megfelelő bőrbemetszés és preparálás érdekében. A domború rész az állat háta felé nézett, a felső csúcsa pedig a hónalj elülső részén helyezkedett el. A mellkasi régió bőre viszonylag vékony, ezért a bemetszést pontosan és óvatosan kellett elvégezni.

A m. cutaneus maximus egy bőrízom, azaz a bőr vérellátásának egy része az izomból származik. Ezért elkerültük az izom teljes leválasztását a bőrről, hogy megőrizzük a vérellátást. 5–6 mm széles izomszélet hagytunk meg a lebeny körül. A maradék izomszövet vitalitása a kollaterális keringésnek köszönhetően kielégítő volt. A kollaterális keringés megóvása érdekében fontos volt preparálás során megtalálni a megfelelő avascularis kötőszöveti réteget. Az izomréteg alatt a vérellátó ereket zsírszövet borította. Az erek károsodásának elkerülése érdekében ezt a zsírréteget leválasztottuk és a mellkasfalra hagytuk.

Az ellátó ereket és a hónalj régiót szintén zsírszövet veszi körül. A legerősebb véráramlás az oldalágak eredése alatt található, ahol elvégeztük a véráramlás méréseket. A kipreparált lebenyeket a hidratáltság megóvása érdekében a mérés idejére nedves gézzel (testhőmérsékletű fiziológiás sóoldattal átitatott) borítottuk.

Lokális lebenyek (jobb oldalon) esetén azokat a szükséges mérések elvégzését követően feszülésmentes, szituáló csomós öltésekkel és az öltések közötti intracutan tova futó öltésekkel

varrtuk vissza eredeti anatómiai helyzetükbe. Az öltések elkészítéséhez 4-0-ás polipropilén varróanyagot használtunk reverz vágótüvel (Pidelen; KOLLSUT, Hauppauge, NY, USA).

Az interpolált lebenyek preparálását követően, iatrogén kiterjedt bőr- és lágyrész-defektus imitálunk. A sternum és hasizmok feletti mellkasfalán bőrt és subcutan réteget magába foglaló kör alakú 3x3 cm-es sebet ejtünk. A képzett defektus alatt az izmok épek. A környező subcutist gondos preparálás mellett felválasztjuk az izomról. A lebeny nyelének fedéséhez a donor terület és a defectus közötti bőrhíd alatt egy ún. „tunnelt” alakítottunk ki, amely elég széles volt a feszülésmentes lebeny-interpolációhoz, s nem okozott leszorítást. Ezután óvatosan áthúztuk a lebenyt a befogadó helyre. A folyamat során el kellett kerülni a lebeny érnyelének megtöretését, csavarodását és túlnyújtását. A subcutan alagút külső sérülésektől védő réteggént is szolgált. A lebeny izomrétegét horgonyzó öltésekkel a sebalaphoz rögzítettük, ezzel segítve az izom kiterülését, a lebeny meggyűrődését. A bőregyesítés a helyi lebenyekhez hasonlóan történt. Ezt követően elvégeztük a donorhely elsődleges sebzését is.

A szabad lebeny átültetéshez a femoro-inguinalis régiót találtuk alkalmasnak. Az arteria és a vena femoralis az anastomosis kialakításához jó hozzáférhetőséget biztosít. A lebeny viszonylag hosszú pediculusa egyedülálló lehetőséget adott a szabad szövetátültetéshez. A lebenyt ellátó erek külső átmérője 1 mm alatt volt (arteria: $0,53 \pm 0,06$ mm; vena: $0,91 \pm 0,11$ mm), ezért mikrosebészeti technikákra volt szükség a vascularis anastomosisok létrehozásához.

Iatrogén bőr- és lágyrész-defektust hoztunk létre az inguinalis régióban, ahová a szabad lebenyt átültettük. Egy 3x3 cm-es kör alakú bőr és subcutist érintő sebet ejtettünk. Az izmok intaktak maradtak, azokat nem érintette a resectio. Az arteria és a vena epigastrica superficialist atraumatikusan kipreparáltuk, majd visszakövettük a femoralis erekből való eredésükig. Az erek körül lévő kötőszöveteket felszabadítottuk, hosszanti irányba a kirekesztés szintjéig felpreparáltuk, a képleteket körüljártuk. A femoralis arteria proximalis lefogását a Murphy-ág után, a distalis lefogást az epigastricus arteria után helyeztük fel. Az érátmérő

diszkrepanciájának csökkentése érdekében az epigastricus artériát kiemelve, annak eredését megnagyobbítva metszettük le, alkalmassá téve a femoralis artériát az end-to-side anastomosishoz. Az anastomosis nyílások kialakítása és a lumen hígított heparin-nátrium-oldattal történő öblítése után (először az artériát) end-to-side anastomosisokat képeztünk a lebeny pediculusanak arteriája és az arteria femoralis között.

A lebenyek átültetését megelőzően a pediculus ereken keresztül heparin-oldattal perfundáltuk a lebenyeket. Az ér-anastomosisokat 11-0 monofil, nem felszívódó poliamid-6 varróanyaggal és serosa (kúpos) tűvel (Daclon, SMI, Vith, Belgium), csomós öltésekkel készítettük. Az arteriás anastomosis követően a vénás oldalon keringés megindult, ezáltal visszajelzést kaptunk a perfusio minőségéről. Az anastomosis elkészítésének idejét 20 perc alatt tartottuk. Az átjárhatóságot „milking”-teszttel igazoltuk, mely során proximalisan lefogott ér lumenéből a vér exprimáljuk, majd figyeljük annak visszatelődését. A véna esetében hasonló technikákat alkalmaztunk. A bőr zárása hasonlóan történt, mint a többi lebenyítípus esetében.

Az állatok nyakára az autophagia kiküszöbölése céljából műanyag gallért helyeztünk. Az utánkövetés két héten át zajlott, naponta ellenőrizve a sebeket. A műtét utáni első három napon Tramadolt (15 mg/testtömeg-kg/nap) adtunk analgesia céljából. A kísérlet végén az állatokat elaltattuk, elvégeztük a méréseket, majd a farokvénás kanülön keresztül bejuttatott nagy dózisú altatószerrel (50 mg/ttkg ketamin és 5 mg/ttkg xilazin) exterminálásra kerültek.

1.4. Lebeny életképességének vizsgálata

A vizsgálat során mértük a bőr felületi hőmérsékletét (rágcsáló NIBP infravörös hőmérő, LaserSight-tal, ADInstruments, USA) az összes lebeny és az ép hasi bőrterületek, a sternum processus xyphoideusa felett, a lebeny előkészítése előtt, közvetlenül bőrzárás után, valamint a műtét utáni 14. napon.

A lebeny pediculusában a perfúziós véráramlást (ml/min) Transonic T206 készülékkel (Transonic Microcirculation Flowprobe; Transonic Systems Inc., Ithaca, NY, USA) mértük. A készülék ultrahangos mérőfejét óvatosan az ellátó pedicularis artéria alá helyeztük. A méréseket a lebeny preparálása után, közvetlenül a bőr összevarrása előtt, valamint a műtét utáni 14. napon végeztük.

A bőr microcirculációját CytoCam-IDF kamerával (Braedius Medical, Huizen, Hollandia) figyeltük meg. A felvételeket a műtét előtt (alapállapot), közvetlenül a műtét után, valamint a műtét utáni 14.napon készítettük. A módszer az incident dark field technológián alapul, amely valós időben teszi láthatóvá a microcirculációt. A készülék szoftverének (CytoCamTools V3 Bedside Manager, Braedius Medical, Huizen, Hollandia) segítségével offline módon elemeztük a nagy felbontású videofelvételeket, meghatározva a microvascularis áramlási indexet (MFI [au]), a perfundált erek arányát (PPV [%]), valamint a perfundált erek sűrűségét (PVD [mm/mm²]).

A Cytocam-IDF kamerával történő videofelvételek szabványosítása érdekében állandó mérési helyszíneket választottunk ki, és a felvételek során pontos fókuszbeállításokat alkalmaztunk ($\pm 2 \mu\text{m}$). Rövid (~3 másodperces) felvételek készültek megfelelő megvilágítás, stabil pozicionálás és minimális nyomáskifejtés mellett. Mérési pontonként három-három videót rögzítettünk, majd a fókusz, a fényerő, a stabilitás és az artefaktumok értékelése után a rossz minőségű felvételeket kizártuk az értékelésből. Az alkalmas felvételeket offline módon, speciális szoftverrel, állandó algoritmusok alkalmazásával elemeztük. A szoftver (Cytocam Tools 4.0.2) az elkészült felvételeket elemzés céljából 4 kvadránsra osztotta. A felbontást és a látómezőt állandónak tartottuk ($720 \text{ \AA} \sim 580 \text{ px}$, $0,94 \text{ \AA} \sim 0,75 \text{ mm}$). Az MFI-t az egyes kvadránsok skálán (0-3) való szemikvantitatív értékelésével határoztuk meg.

1.5. Laboratóriumi mérőműszerek

A műtét előtt és után, valamint a műtét utáni 7. és 14. napon vérmintákat vettünk az lateralis farokvénából (0,4 ml/db; 26 G Neoflon™ Pro IV kanül; K3-EDTA, Vacutainer®; mindkettő: Becton Dickinson GmbH, Franklin Lakes, NJ, USA) a haematologiai és micro-rheologiai paraméterek vizsgálatához.

A haematologiai paramétereket Sysmex K-4500 automatával (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japán) határoztuk meg. Elemeztük a fehérvérsejtek számát (Fvs [$10^9/L$]), a vörösvérsejtek számát (Vvs [$10^{12}/L$]), a haematocritot (Hct [%]), a vérlemezkék számát (Thr [$10^9/L$]), a haemoglobin koncentrációt (Hbg [g/dL]), az átlagos vörösvérsejt térfogatot (MCV [fL]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobintartalmat (MCH [pg]) és az átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentrációt (MCHC [g/dL]).

A vörösvérsejtek deformabilitásának vizsgálatához LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytométert (RR Mechatronics International B.V., Zwaag, Hollandia) használtunk, amely meghatározza az elongációs indexet (EI) a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében 0,3–30 Pa tartományban. A vizsgálatához 10 μ L teljes vért elegyítettünk 2 mL polivinil-pirrolidon (PVP) – PBS oldattal (PVP: 360 kDa, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA; PVP-PBS oldat viszkozitása = 30–35 mPas, ozmolalitása = 290–310 mOsmol/kg, pH = 7,5). Az EI–SS görbék összehasonlító adatait kiszámítottuk, beleértve a 3 Pa-nál mért EI-értékeket, a maximális elongációs indexet (EI_{max}) és az EI_{max} feléhez tartozó ($SS_{1/2}$, [Pa]) nyírófeszültséget a Lineweaver–Burk egyenlet segítségével. A vörösvérsejtek deformabilitásának romlását alacsonyabb EI vagy EI_{max} , valamint magasabb $SS_{1/2}$ értékek jelzik.

A vörösvérsejt aggregációt Myrenne MA-1 erythrocyta aggregométerrel (Myrenne GmbH, Roetgen, Németország) vizsgáltuk, fénytranszmissziós módszerével. A vizsgálatához mérésenként 20 μ l vért használtunk. Az értékeket az aggregációs folyamat 5. és 10. másodpercében mértük stasis alatt (sebesség-gradiens: $0 s^{-1}$, M 5s és M 10s indexek), vagy

alacsony sebesség-gradiens mellett (sebesség-gradiens: 3 s^{-1} , M1 5s és M1 10s indexek). A magasabb indexértékek a vörösvérsejtek fokozott aggregációját jelzik.

1.6. Szövetteni elemzés

A műtét utáni 14. napon az állatokat termináltuk, és standard méretű és alakú mintákat vettünk mind a kontroll, mind a forgatott lebenyekből szövetteni vizsgálat céljából. Ezek a minták tartalmaztak ép szövetet, lebenyszövetet és a szövetek anastomosisának átmeneti zónáját. A mintákat formalinba helyeztük, majd hagyományos módszerekkel beágyasztuk és metszeteket készítettünk belőlük. A sorozatmetszeteket a morfológiai elemzéshez hematoxylin-eozinnal (H&E, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), az elasztin vizualizálásához pedig orceinnal (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) festettük.

Minden festési eljárás a gyártó protokolljait követte. A mikroszkópos felvételeket egy DP74 kamera (Olympus Corporation, Tokió, Japán) segítségével készítettük, amelyet egy Olympus BÅ~53 mikroszkópra (Olympus Corporation, Tokió, Japán) szereltük. Az erekben található kollagénszálak orientációjának vizsgálatához Picrosirius vörös festést (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) alkalmaztunk. A mintákat polarizált fényben elemeztük egy Olympus BÅ~53 polarizációs mikroszkóppal (Olympus Corporation, Tokió, Japán), a fény síkját $\lambda/4$ mintákkal forgatva. A felhám vastagságának méréséhez a 20-szoros nagyítású, H&E-festéssel színezett metszetek mikroszkópos felvételeit elemeztük az ImageJ 1.40 g freeware segítségével. Minden mikroszkópos preparátumból húsz független mérést végeztünk, és kísérleti csoportonként hat független bőrcsíkot vizsgáltunk. Az orcein festett metszetekben a normál színt zöldre és feketére cseréltük a pixelek kontrasztjának javítása érdekében. A zöld pixelek számát ImageJ freeware segítségével számszerűsítettük.

1.7. Szakítószilárdság-mérések

A szakítószilárdsági vizsgálathoz, amelyeket egy egyedi fejlesztésű eszközön végeztünk, a műtét utáni 14. napon egyenlő szélességű (5 mm) kimetszett bőrdarabokat használtunk. Ezek a minták mind az ép területeket, mind a műtéti részeket, valamint a gyógyult varratvonalat is tartalmazták. A mintákat szakítószilárdság-mérő készülékbe helyeztük, ahol fokozatosan növekvő húzóerőt fejtettünk ki rájuk, amíg el nem szakadtak. A minták szakadás pillanata előtti maximális teherbírása jelzi a szövet szakítószilárdságát. A szakadáshoz és nyúláshoz szükséges erőt folyamatosan rögzítettük, és a gép által generált feszültség-megnyúlás görbe segítségével meghatároztuk a maximális feszültséget, a szakadási pontot és a görbék meredekségét.

1.8. Statisztikai elemzés

A kísérlethez szükséges elemszám meghatározásához a Mead-egyenlet módszerét alkalmaztuk. A statisztikai elemzéseket SigmaStat Software 3.1.1.0 (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) szoftver segítségével végeztük. Az adatok átlag \pm szórás (SD) formájában kerültek feltüntetésre. A csoportok közötti összehasonlításokhoz t-próbát vagy Mann-Whitney rang sum tesztet használtunk, a csoportokon belüli összehasonlításokhoz pedig egyirányú varianciaanalízist (ANOVA) vagy Kruskal-Wallis-próbát, az adatok eloszlásának normalitásától függően. A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

EREDMÉNYEK

2.1. Általános megfigyelések

Valamennyi lebeny vitalitása megtartott volt, és nem tapasztaltunk olyan súlyos szövődményeket, amelyek a lebeny elhalásához vezettek volna. Nem tapasztaltunk thromboticus szövődményeket, duzzanatot vagy kiterjedt lebeny-necrosist.

A sebek gyógyulása megfelelő volt a granulációs fázisban. A 16 lebenyből csak 2 esetben (1 helyi és 1 forgatott lebeny) figyeltünk meg részleges, vékony széli necrosist. Ezeket az eseteket nem vettük figyelembe a végső adatelemzésben.

2.2 Testtömeg

A műtét előtt, az első és a második héten mértük az állatok súlyát. A műtétet követően többnyire a műtét utáni második hétre jelentős súlyvesztést tapasztaltunk az interpolált és átültetett lebenyes egyedeknél.

2.3 A lebenyek bőrének hőmérséklete

A lokális és interpolált lebenyek bőrhőmérséklete nem változott jelentősen közvetlenül a műtét után és a 14. postoperatív napon. Átültetett szabadlebeny esetén a bőrhőmérséklet közvetlenül a műtét után átlagosan 4,77%-kal csökkent, és a követési időszak végén is alacsonyabb volt (3,47% az alapértékhez képest).

2.4 A lebenyeket ellátó arteria áramlási értékei

A lebeny pediculusának artériás véráramlása (ml/min) a lebenyek előkészítése után nem mutatott szignifikáns eltérést. A legmagasabb véráramlási értékeket az eredeti anatómiai pozícióban megmaradt lokális lebenyek esetében figyeltük meg.

Megfigyeltük, hogy az artériás véráramlás értékei a műtét utáni 14. napon minden lebeny típusnál szignifikánsan alacsonyabbak voltak. A legalacsonyabb értékeket az átültetett lebenyeknél figyeltük meg ($p = 0,039$).

2.5 Mikrokeringési vizsgálatok

A videomikroszkópos felvételek elemzése során microcirculációs vagy látható érrendszeri rendellenesség nem volt észlelhető a preparálás előtt. A lebenyek preparálása után a microcirculatio átmeneti, mérsékelten romlását figyeltük meg, hypoperfúziós területek jelentek meg. A bőrseb zárása után a microcirculatio normalizálódott. A műtét utáni 14. napon néhány hypoperfúziós terület, megnagyobbodott átmérőjű erek és vörösvérsejt aggregátumok voltak láthatóak, főként a forgatott lebenyekben.

A microvasculáris áramlási index (MFI) értékei minden esetben 2 felett voltak (2,72–2,84), így a videofelvételek jól elemezhetőek voltak a további paraméterek biztonságos értékeléséhez. A perfundált erek sűrűsége (PVD [mm/mm²]) minden csoportban változatlan maradt a kontroll bőrterületen. A lokális, interpolált és átültetett lebenyekben a PVD értékek nem szignifikánsan csökkentek közvetlenül a műtét után, és az értékek a 14. postoperatív napon is alacsonyabbak voltak. A különbségek azonban nem voltak szignifikánsak. A perfundált erek aránya (PPV [%]) közvetlenül a műtét után szignifikánsan csökkent az interpolált ($p=0,001$ vs. alap) és az átültetett lebenyben ($p<0,001$ vs. alap). A 14. postoperatív napon az értékek megegyeztek az kiindulási értékekkel.

Az átültetésre nem került lebenyek összehasonlításakor (lokális vs. interpolált) a legszembetűnőbb változások a perfundált erek arányának változásában mutatkoztak az alapértékekhez képest. Az ép hasi bőrterületen nem történt változás, míg mind a lokális, mind az interpolált lebenyekben jelentős csökkenés volt megfigyelhető közvetlenül a műtét után (interpolált lebeny: $p = 0,002$ vs. ép bőrterület), és az értékek a 7. (interpolált lebeny: $p = 0,014$) és a 14. postoperatív napon (interpolált lebeny: $p = 0,004$) emelkedtek.

A post hoc analízis eredményei a lokális lebeny esetében a következők voltak: Kontroll 14. p.o. nap: 69,5%; Flap 7. p.o. nap: 95,2%, 14. p.o. nap: 99,7%, míg interpolált lebeny esetén: Kontroll 7. p.o. nap: 59%, 14. p.o. nap: 75,3%, Flap 7. p.o. nap: 99,9%, 14. p.o. nap: 99,6%.

2.5.1 A haematológiai paraméterek változásai

A haematológiai paraméterek a kéthetes megfigyelési időszak alatt a gyulladáshoz és a sebgyógyulás korai granulációs fázisában jelentkező akut fázisú reakciókat tükrözték. A fehérvérsejtek és a vérlemezkék száma a műtét utáni 1. és 2. héten emelkedett, nagyobb mértékben a Flap csoportban (Fvs a 7. napon: $p=0,013$ és a 14. napon: $p<0,001$; Thr a 7. napon: $p<0,001$ és a 14. napon: $p=0,002$ vs. alap). A vörösvérsejtek száma, a haemoglobin koncentrációja és a haematocrit nagyobb mértékben csökkent a Flap csoportban (mind: $p<0,001$).

2.5.2 A vörösvérsejt deformabilitás változásai

A vörösvérsejtek 3 Pa nyírófeszültség mellett mért elongációs indexe a műtét utáni 7. napra csökkent, a számított EI_{max} értékekkel együtt ($p<0,001$) és az $SS_{1/2}$ enyhe emelkedésével, ami mérsékelten károsodott erythrocyták deformálhatóságát tükrözi.

2.5.3 A vörösvérsejt aggregatio változásai

A vörösvérsejt aggregációs index M 5s értéke a műtét utáni 7. és 14. napra jelentősen emelkedett (mindkettő: $p<0,001$, műtét utáni 7. nap: 32,1% és műtét utáni 14. nap: 31,2%) a Flap csoportban, míg a Kontroll csoport értékei nem mutattak jelentős változást. Más index értékek, mint az M1 5s, nem változtak jelentősen.

2.6 Szöveti változások

Az ép bőrterületről vett minták nem mutattak szövettani eltéréseket. Az interpolált lebenyek esetében a sebgyógyulási folyamat normális részeként granulációs szövet jelent meg a műtét területén. Amennyiben a seb szélei nem illeszkedtek megfelelően, a sarjszövet

képződés kifejezettebb volt, mely fokozott neovascularisatióval, valamint nagyobb számú fibroblasttal és gyulladásoos sejttel járt.

A lebeny alapján szintén granulációs szövetek jelentek meg, kitöltve a szöveti réseket. A granulációs szövetek a bemetszési terület mellett a lebenyek körül is megjelentek. Az ép és a granulációs szövetek közötti határ egyértelműen felismerhető volt.

Néhány metszeten a varratok miatt idegen test típusú óriássejtek (macrophagok fúziója) is megjelentek.

2.7 Szakítószilárdság

A szakítószilárdság mérések során az interpolált csoportok szöveti gyengeséget mutattak. A rugalmasság és a funkcionalitás is csökkent ebben a csoportban. A műtét utáni 14. napon az ép bőr maximális szakítószilárdsága sokkal magasabb volt, mint a helyi vagy interpolált lebenyeké (mindkettő: $p < 0,001$). A lebeny forgatása esetén a szövet szilárdsága nagyobb mértékben csökkent. Ezzel párhuzamosan az erő-megnyúlás görbe meredeksége szignifikánsan alacsonyabb volt az ép bőrterülethez képest (helyi lebeny: $p = 0,021$; forgatott lebeny: $p = 0,002$).

FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Patkányban m. cutaneus maximus izom területén kialakítottunk egy jól standardizálható, jól reprodukálható kísérletes musclocutan-lebény modellt, amely nem okozott jelentős funkciókiesést. A standard lebények különböző típusként, mint lokális, interpolált pozíciójú, vagy átültetett szabadlebény formájában tanulmányozható.
2. A lebények perfúziójának komplex intra- és postoperatív követéses vizsgálatát végeztük. A lebényt ellátó érnél véráramlásának monitorozása a mikrokeringési mérésekkel együtt fontos adatokat nyújtott az intraoperatív pozícionálás optimalizálásához, az érnél feszülés- és megtörés-mentes alakításához. A videomikroszkópos vizsgálatok hasznosnak bizonyultak a lebények életképességének pontosabb monitorozásában a szövődemény lehetőségek szempontjából is kritikus korai postoperatív időszakban.
3. A kéthetes követéses időszakban zajló akut fázis reakciókat tükrözték az általános haematologiai és a haemorheologiai eltérések, amelyek jellemzően a korai postoperatív időszakban voltak kimutathatóak. A microcirculációs változások és a vér micro-rheologiai eltérései összefüggést mutattak.
4. Szövettani vizsgálatok során kimutattuk, hogy a lebények jelentős gyógyulási zavart nem szenvedtek. A granulációs folyamatok jelenléte a lebény új pozícióba történő integrációját mutatta. A varratvonal mentén neovascularisatio, a fonalak körül idegentest reakció jelent meg.
5. Kimutattuk, hogy az interpolált és átültetett lebények perfúziós és biomechanikai szempontból sérülékenyebbek lehetnek, ami zavart mikrokeringés, szöveti gyengeség és lassabb regeneráció képében is mutatkozhat. Mindez a gondos postoperatív monitorozás fontosságát támasztja alá a klinikai gyakorlat számára.

Hitelesített publikációs lista



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/4/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kincses Gergő
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kincses, G.**, Fazekas, L., Varga, Á., Mátrai, Á. A., Flaskó, A., Adorján, D. M., Molnár, Á., Deák, Á., Németh, N.: A refined experimental model for local, interpolated flap, and free tissue transfer studies using musculus cutaneus maximus-based musculocutaneous flap in the rat.
Acta Cir. Bras. 40, 1-11, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/acb408125>
IF: 1.3 (2024)
2. **Kincses, G.**, Fazekas, L., Varga, Á., Mátrai, Á. A., Nguyen, X. L., Barabási, K., Flaskó, A., Juhász, T., Molnár, Á., Németh, N.: Following-Up Micro-Rheological and Microcirculatory Alterations During the Early Wound Healing Phase of Local and Rotated Musculocutaneous Flaps in Rats.
Life (Basel). 15, 1-14, 2025.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/life15091424>
IF: 3.4 (2024)

További közlemények

3. Flaskó, A., Fazekas, L., **Kincses, G.**, Varga, Á., Mátrai, Á. A., Csóka, L. D., Záhorszki, S., Tóth, A. Z., Fillér, C., Juhász, T., Molnár, Á., Németh, N.: Tissue perfusion and its influencing factors in epigastric adipocutaneous flaps affected by ischemia-reperfusion in rats.
Acta Cir. Bras. 41, 1-13, 2026.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/acb410226>
IF: 1.3 (2024)





4. Flaskó, A., Fazekas, L., **Kincses, G.**, Varga, Á., Mátrai, Á. A., Czirják, I., Dodity, N., Bácskay, I.,
Pető, Á., Reglődi, D., Fillér, C., Juhász, T., Németh, N.: Impacts of PACAP 1-38 and BGP-15
on the Healing of Fasciocutaneous Groin Flaps Affected by Ischemia-Reperfusion in Rats.
Biomedicines. 13 (9), 1-18, 2025.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines13092129>

IF: 3.9 (2024)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,9

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
4,7**

A DEENK a Jelölt által a Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2026.01.09.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Németh Norbert tanszékvezető Úrnak, aki kiemelkedő szakértelmével és segítségével mindvégig támogatta munkámat. Köszönöm, hogy lehetőséget kaphattam kutatásom véghezviteléhez. Hálás vagyok a szakmai iránymutatásért, amely nélkül ez az értekezés nem jöhetett volna létre.

Köszönöm Prof. Dr. Furka Istvánnak (1935-2021), hogy szilárd mikrosebészeti alapokkal indulhattam.

Köszönettel tartozom Dr. Fazekas Lászlónak, aki jelentős segítségemre volt az állatkísérletek kivitelezésében.

Köszönöm Dr. Pető Katalin Tanárnőnek, Dr. Deák Ádám adjunktus Úrnak, Dr. Varga Ádámnak, Dr. Mátrai Ádám Attilának, Dr. Bedőcs-Baráth Barbarának, Füzesi Róbertnek, hogy segítettek, munkámat támogatták.

Köszönetet szeretnék mondani a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi Munkatársának, hogy baráti környezetben végezhettem kutatásomat.

Köszönettel tartozom Dr. Tóth Dezső tanár Úrnak, hogy klinikum mellett lehetőséget nyújtott tudományos előmenetelemhez és szakmai inspirációt adott kutatásom alapjához.

Disszertációm nem készülhetett volna el a Családom, valamint a Barátaim szeretete, támogatása és ösztönzése nélkül, melyért mindig hálás leszek. Köszönöm Feleségemnek, Kislányomnak, Édesanyámnak, Édesapámnak és Testvéremnek, hogy mindig velem voltak, támogattak, ösztönöztek, illetve megteremtették a biztos háttérrel, hogy most itt lehessenek.

