

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**Fasciocutan és adipocutan lebenyek regenerációjának
vizsgálata kísérletes modelleken**

Dr. Flaskó Anna Orsolya

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2026

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. BEVEZETÉS.....	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	7
2.1 Lebenyek	7
2.1.1 Lebenyek felhasználása	7
2.1.2 Lebenyek fajtái	8
2.1.3 Fasciocutan vs. adipocutan epigastrialis lebenyek	9
2.1.4 Különböző lebenyek alkalmazása a klinikumban - Saját tapasztalatok	9
2.2 Haemorheológiai paraméterek és vizsgálatuk I/R során	14
2.2.1 Vörösvérsejt deformabilitás.....	15
2.2.2 Vörösvérsejt aggregatio.....	15
2.3 A microcirculatio vizsgálata.....	16
2.4 Hisztomorphológiai változások I/R károsodás hatására és jelentőségük	17
2.4.1 Szövettani megfigyelések.....	17
2.4.2 Szakítószilárdság	17
2.5 Sebgyógyulást elősegítő anyagok.....	18
2.5.1 PACAP (hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid)	20
2.5.2 BGP-15 (N'-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propoxy)-3-pyridine-carboximidamide)	22
3. CÉLKITŰZÉS	24
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	25
4.1 Kísérleti állatok kiválasztása és előkészítése a műtétekhez	25
4.1.1 Patkány fasciocutan epigastrialis lebenyeknél alkalmazott műtéti technika, kísérleti és mintavételi protokoll	26
4.1.2 Patkány adipocutan epigastrialis lebenyeknél alkalmazott műtéti technika és kísérleti protokoll	29
4.2 Laboratóriumi vizsgálatok.....	31
4.2.1 Haematológiai paraméterek.....	31
4.2.2 Vörösvérsejt deformabilitás.....	32
4.2.3 Vörösvérsejt aggregatio.....	33
4.3 Szakítószilárdság mérése.....	35
4.4 Szövettani elemzések	36
4.5 A lebenyek érnyelének véráramlás-vizsgálata	37
4.6 A Microcirculatio vizsgálata	38
4.7 Statisztikai módszerek	40
5. EREDMÉNYEK	41
5.1 Patkány fasciocutan epigastrialis lebenyekkel folytatott kísérleti eredményeink	41

5.1.1	Általános megfigyeléseink	41
5.1.2	Bőrhőmérséklet	41
5.1.3	Haematologiai paraméterek.....	42
5.1.4	Micro-rheologiai paraméterek	43
5.1.5	Szakítószilárdság	45
5.1.6	Szövettani vizsgálatok.....	46
5.2	Patkány adipocutan epigastrialis lebenyekkel folytatott kísérleti eredményeink	53
5.2.1	Általános megfigyeléseink	53
5.2.2	Bőrhőmérséklet	54
5.2.3	Haematologiai paraméterek.....	54
5.2.4	Micro-rheologiai paraméterek	55
5.2.5	Szakítószilárdság	56
5.2.6	Szövettani vizsgálatok.....	57
5.2.7	A lebenyek érnyeleinek véráramlása illetve a lebenyek microcirculatio változásai	59
6.	MEGBESZÉLÉS.....	60
6.1	Patkány fasciocutan epigastrialis lebenyek ischaemia-reperfusio károsodásának vizsgálata PACAP 1-38 illetve BGP-15 használata mellett	60
6.2	Patkány adipocutan epigastrialis lebenyek szöveti perfusiojának vizsgálata ischaemia-reperfusio során	63
7.	FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.....	66
8.	ÖSSZEFOGLALÁS	67
9.	SUMMARY	68
10.	IRODALOMJEGYZÉK	69
10.1	Hivatkozott közlemények jegyzéke	69
10.2	Hitelesített publikációs lista.	77
11.	TÁRGYSZAVAK	79
12.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	80
13.	FÜGGELÉK.....	81

Rövidítések jegyzéke

PACAP: hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid

BGP-15: N'-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propoxy)-3-pyridine-carboximidamide

CVS: comma-separated values

DPX: disztirén, plasztikáló szer, xilén

EI: elongációs index

HCT: haematocrit

HGB: haemoglobin

IDF: incident dark field

I/R: ischaemia-reperfusio

MCH: átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom

MCHC: átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció

MCV: átlagos vörösvérsejt térfogat

MFI: microvascularis áramlási index

PLT: thrombocytaszám

PO: postoperatív

PPV: perfundált erek aránya

PVD: perfundált erek sűrűsége

RBC: vörösvérsejt szám

ROS: reaktív oxigén gyök

SD: standard eltérés

SS: nyírófeszültség

WBC: fehérvérsejt szám

1. BEVEZETÉS

A lebenyeket széles körben használják a medicina számos területén a különböző okokból létrejött szövethiány pótlására. Rekonstrukciónál alkalmazzák a lebenyeket az onkológiai sebészetben (pl.: fül-orr-gégészeti és fej-nyaksebészet, szájsebészet, általános sebészet), a traumatológiában, az égési sebészetben és a plasztikai sebészetben is. A defektus pótlásánál nem csak a hiány egyszerű „betöltése”, hanem különböző funkcionális és esztétikai célok megvalósítása is lényeges, ezzel biztosítva megfelelő életminőséget a páciensnek.

A lebenyeket osztályozhatjuk a szöveti összetételük (pl. cutan, fasciocutan, adipocutan, myocutan, osteomusculocutan), elhelyezkedés (pl. localis, regionális, távoli), a vérellátásuk, a konfigurációjuk és a szövethiányra való átvitelük módja szerint.¹⁻⁵

Fontos leszögezni, hogy a megfelelő lebeny kiválasztása kritikus fontosságú a műtét sikeressége szempontjából. A megfelelő lebenytípus kiválasztása több szempont alapján történik, figyelembe kell vennünk a szöveti defektus lokalizációját, méretét és mélységét, a szomszédos struktúrákat, a vasculaturát, a bőr Langer-féle vonalait, az esztétikai szempontokat, illetve a betegnél előforduló egyéb társbetegségeket és befolyásoló tényezőket (dohányzás, perifériás érbetegség, érlelmeszesedés, diabetes mellitus, steroidhasználat, korábbi műtétek, stb.), valamint végül, de egyáltalán nem utolsónak a sebész szakértelmét.¹⁻⁷

Általánosan ismert sebészek között, hogy legjobb lebeny az, amelyikben a sebésznek nagy tapasztalata van, sokszor használta munkája során, így nagy biztonsággal tudja preparálni és kivitelezni. Azonban nem elég kiválasztani a megfelelő lebenyt, hiszen a teljes gyógyulásig még számos akadály kerülhet az útunkba. Éppen emiatt kulcsfontosságú a lebenyek megfelelő szöveti perfusioja, melyet befolyásol többek között a vascularis rendszer morphologiai/funkcionális állapota, a microcirculatio, a hemodinamika illetve a makro- és mikrorheológiai paraméterek is.^{8,9}

A szöveti perfusio, valamint a lebenyek életképességének monitorozására számos módszer ismert, amelyek klinikai gyakorlatban és kísérleti tanulmányokban egyaránt alkalmazhatóak.¹⁰ Ez amiatt fontos, mivel gyakran fordulnak elő a lebeny sebészetnél különböző szövődmények. Ischaemia, ischaemia-reperfusios károsodás (I/R), thrombosis és lebeny necrosis több okból kialakulhat, többek között a lebeny nem megfelelő előkészítése, szöveti károsodás, az ellátó erek érnélének meghajlása/torsioja, hematoma, oedema vagy fertőzés miatt.^{4,11-13}

A microcirculatio, a hemorheológia és az érnél áramlása mind összefügg. Amennyiben sérül az érnél és csökken vagy megszűnik benne az áramlás úgy a lebeny microcirculatioja romlást szenved, mely a vörösvérsejtek deformabilitásának és aggregációjának megváltozásához, a vér alakos elemeinek a számbeli megváltozásához vezet. Viszont maguknak a vörösvérsejtek ezen fizikai tulajdonságainak (aggregatio és deformabilitás) I/R károsodás vagy gyulladás miatti megváltozása a szöveti perfusio tovább romlását okozza, „ördögi körhöz” vezetve.^{14,15} Korábbi kutatások bebizonyították, hogy az ischaemia és reperfusio korai szakaszában a vörösvérsejtek deformabilitása romlik míg az aggregatiojuk fokozódik,^{13,14} éppen ezért úgy gondoljuk ezen paraméterek megfigyelése a mikrokeringés és az érnél keringésének megfigyelése mellett előre jelezhetik a postoperatív komplikációkat lebenyek alkalmazásakor.

Az állatmodellek alkalmazása elterjedt, a lebenyek ischaemia-reperfusiojának és regenerációjának tanulmányozására számos modell ismert különböző szöveti összetételű (fasciocutan, adipocutan, musculocutan stb.) lebenyekkel és különböző ischaemiás időtartamokkal.¹⁶⁻²² Kísérletünk során patkányok epigastrialis fasciocutan illetve adipocutan lebenyét használtuk, habár elhelyezkedésük és tápláló erek azonos, míg az fasciocutant csupán a bőr, a közvetlenül alatta lévő subcutan szövet illetve fascia alkotja,^{23,24} addig az adipocutan része a hasi zsírpárna is.²⁵ Ezek a lebenytípusok és érnélük jól preparálható, megfelelő

méretűek illetve elhelyezkedésük miatt könnyen vizsgálhatóak műszeresen is (pl. Cytocammal), így megfelelő választásnak bizonyultak kísérleteinkhez, mivel alkalmasak voltak a lebenyek patofiziológiájának, a sebgyógyulást és a regenerációs folyamatokat befolyásoló tényezőknek, valamint a különböző megelőzési lehetőségeknek és hatóanyagoknak tanulmányozására^{14,18,20}

A rekonstrukciós sebészetben folyamatos az igény az olyan hatóanyagokra, amelyek javítják a sebgyógyulást, emiatt kísérletünkben két anyag hatásait is vizsgáltuk. Az egyik a PACAP volt, egy endogén neuropeptid, amely az adenilát-cikláz aktiválásán keresztül növeli a sejtek cAMP-szintjét, a nemzetközi irodalom alapján bizonyítottan van többféle protektív szerepe, gyulladáscsökkentő, antiapoptotikus illetve az extracelluláris mátrix alkotóelemeinek termelését is fokozza.²⁶⁻³⁰ A BGP-15 pedig egy nikotin-amidoxim-származék, melyet magyar kutatók fejlesztettek ki. Képes növelni a hőstresszfehérje-indukciót, javítja a membránfluiditást, csökkenti a reaktív oxigéngyökök termelődését illetve protektív hatást mutat gyulladásos és I/R-folyamatokban.^{31,32}

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Lebenyek

A lebenyeket az különbözteti meg a graftoktól, hogy a lebeny olyan szövetátrendeződés, ami valamiféleképpen vérellátással együtt kerül át új helyére. Egy jó lebeny könnyen preparálható, de nem csak befedi a defektust, hanem megfelelő funkcionális és esztétikai eredményt is ad.

2.1.1 *Lebenyek felhasználása*

A lebenyeket valamilyen okból létrejövő szöveti hiány áthidalására használjuk. A sebészetben gyakran találkozunk a szöveti defektus problémájával, legyen ennek oka egy tumoros elváltozás, traumás sérülés, kongenitális eltérés,³³ égés, fagyás vagy egyéb okból létrejövő, pl. krónikus betegségek talájan létrejövő szövethiány, lebeny szükséges, ha a seb primeren nem zárható.³⁴ A beteg gyógyulása érdekében sokszor kreatívnak kell lennünk a lebeny megválasztásánál.³⁵

A szövethiányt pótolhatjuk egyből, vagyis primeren, de előfordulhat, hogy csak később lehetséges a zárás, pl. egy szövettani eredmény függvényében. Amennyiben egy héten belül megtörténik a zárás primer halasztottnak tekintjük, sekundernek pedig ha krónikus defektusról van szó. Tercier lebenyes zárásra akkor kerül sor, amennyiben a korábbi plasztika sikertelen.

Még jól kiválasztott lebeny és maximális odafigyelés mellett is kritikus az első pár postoperatív nap. Az első postoperatív napon ajánlott a lebeny életképességének és morfológiájának ellenőrzése, így ha esetleg szükséges terápiamódosítás vagy bármilyen jellegű intervenció, azt időben elvégezhetjük. Műtét után általában naponta vagy kétnaponta szükséges kötéscsere. A postoperatív 72 óra fontos hiszen ilyenkorra már jobban láthatóak az esetleges ischaemiás károsodások. Emellett a gyógyulás gyulladásos fázisa is lezárul a 3. napra

és ezután kezdődik a proliferációs időszak, mely egészen a 21. napig tart. A varratokat általában a 7.-14. napon távolítjuk el, de a szöveti remodelláció akár egy évig is eltarthat.^{36,37}

A gyógyulási folyamat során a sikeres lebenyműtét érdekében igen fontos rendszeresen ellenőrizni a lebenyt, mert ha időben észlelünk szövődmény gyanút, esetleg a folyamat még visszafordítható antibiotikumok, helyi antikoaguláns alkalmazásával vagy gyakoribb sebkezeléssel esetleg debridementtel. Sajnos maximális gondosság mellett is előfordulhatnak szövődmények, mint necrosis (részleges vagy teljes), vénás pangás, artériás elégtelenség, sebszétnyílás, fertőzés, vérzés/haematoma.³⁸

2.1.2 *Lebenyek fajtái*

A lebenyeket különböző szempontok szerint oszthatjuk fel. Először is a szöveti összetételük alapján lehetnek pl. cutan, fasciocutan, adipocutan, myocutan, osteomusculocutan lebenyek. Feloszthatjuk őket elhelyezkedésük illetve a szövethiányhoz való helyzetük alapján localis, regionális és távoli lebenyekre. Localis lebenynél a közvetlen a defektus melleti szövetből pótoljuk a hiányt, regionálisnál azonos anatómiai régióból, míg a távoli lebeny leginkább a szabad érnyeles lebenyeket jelenti, melyek alkalmazásához mikrosebészeti reanastomosis készítése szükséges.

Nagyon fontos szempont a vérellátásuk, ami alapján random (vagyis a lebeny a subcutanból kapja a vérellátást) vagy axialis (konkrét érből kapja a vérellátást) típusra oszthatjuk fel őket. Az térbeli elrendeződésük és a szövethiányra való átvitelük módja szerint is csoportokra oszthatók: elkülönítünk rotációs, transposíciós, előretolt, szigetes lebenyt többek között.¹⁻⁵

Localis lebeny lehet pl. egy orrszárnnyi defektus pótlására használt helyi rotációs nasolabialis lebeny vagy egy bilobialis előretolt lebeny, vagy H-plasztika mondjuk egy nagyobb homlok bőri defektus esetében.

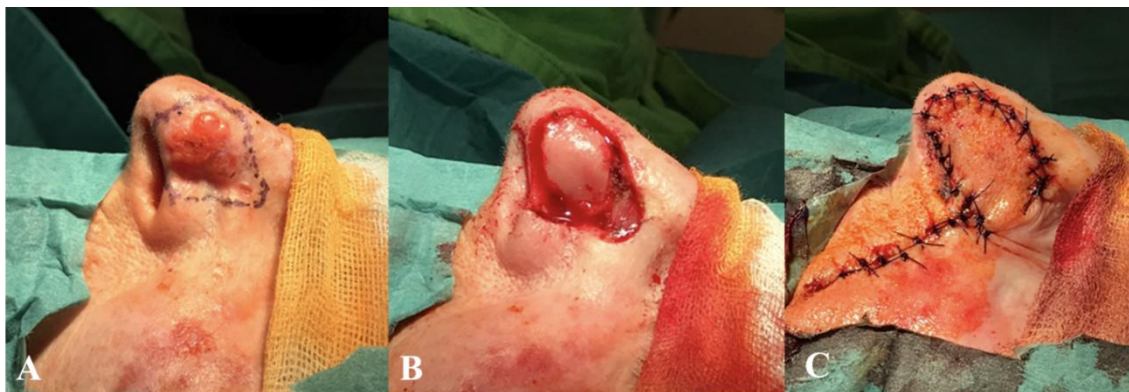
Axialis lebenyre példa az arteria supratrochlearisra nyelezett paramedialis homloki lebeny, melyet hagyományosan indiai lebenynek hívtak, mivel ez volt az első lebeny melyet részletesen dokumentált egy indiai orvos, Sushruta Samhita Krisztus előtt 600 körül.^{39,40}

2.1.3 *Fasciocutan vs. adipocutan epigastrialis lebenyek*

Az általunk használt lebenyek patkány epigastrialis fascio- illetve adipocutan lebenyek voltak, így localisatiojuk megegyezett. Az adipocutan lebenyek a vena és arteria epigastrica superficialisra voltak nyelezve, míg a fasciocutan lebenyek a vena és arteria epigastrica superficialisra inferiorra. Szöveti összetételükben volt a fő különbség, a fasciocutan lebeny bőrt, subcutant és fasciat tartalmazott, míg az adipocutan az ezen rétegek alatt lévő hasi zsír párnát is magába foglalta. Ebből adódik, hogy míg a fasciocutan, inkább felszínebb szövethiányok fedésére alkalmas, addig az adipocutan mélyebb defektusok pótlására is megfelelő.

2.1.4 *Különböző lebenyek alkalmazása a klinikumban - Saját lebeny műtétes esetek*

A lenti fotókon (1-5. ábra) néhány általam operált beteg példáján keresztül szeretném bemutatni a teljesség igénye nélkül, hogy akár egy viszonylag kis területen, mint a fej-nyak régió is, milyen sokféle lebenypótlásra van lehetőségünk. Az elváltozások eltávolítását követően keletkező szövethiányt különböző lebenyekkel pótoltuk. Több esetben a műtét utáni gyógyult képet is bemutatom, hiszen a beteg számára nem csak a betegségmentesség, hanem a megfelelő esztétikai eredmény is nagyon fontos. Azonban a gondos tervezés, alapos preparálás és lelkiismeretes sebgondozás mellett is előfordulhatnak szövődményeink, mint ahogy a 6. ábrán szemleltetem. Így ezen klinikai problémával való szembesülés után tartottam fontosnak a megfelelő kísérletes modell kialakítását az I/R károsodások monitorozása és megelőzése céljából. A képanyag a betegjogok maximális betartása mellett, a betegek beleegyezésével került felhasználásra.

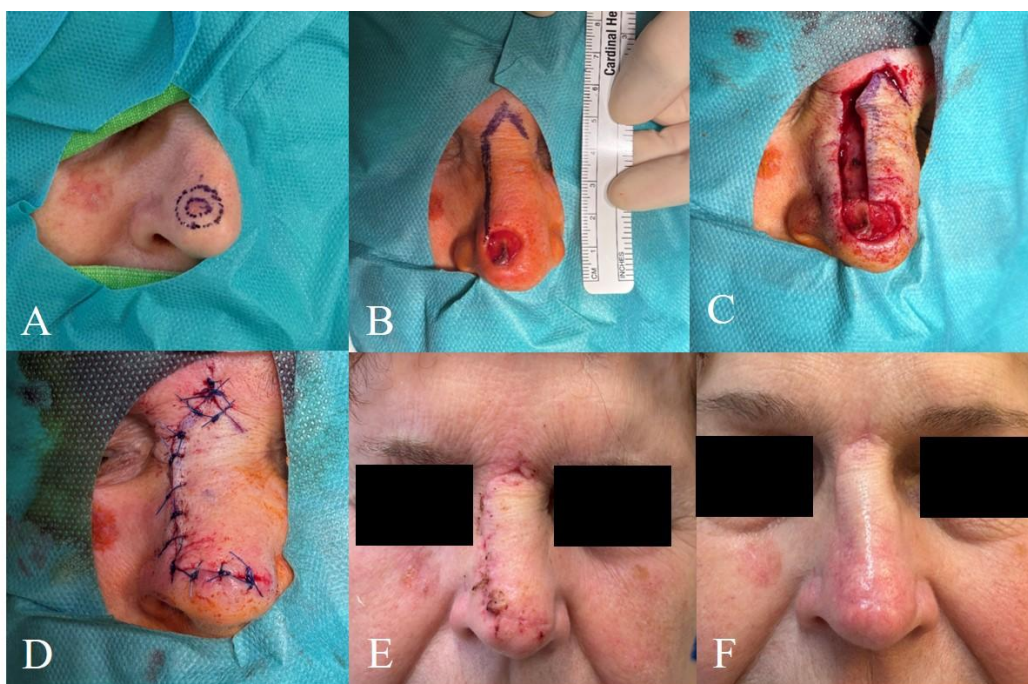


1. ábra

Nasolabialis lebeny

Gyakran használta lebeny fajta a nasolabialis redőből nyert rotációs lebeny, mely könnyen preparálható és mivel a heg a bőrredőbe simul és helyileg forgatjuk így a bőr színe és vastagsága is megfelelő a pótlásra. A képeken látszik a preoperatív státusz (A), a tumor eltávolítás után kialakult szövethiány (B), illetve a lebennyel zárt postoperatív állapot (C).

(Saját képanyag, DE KK).

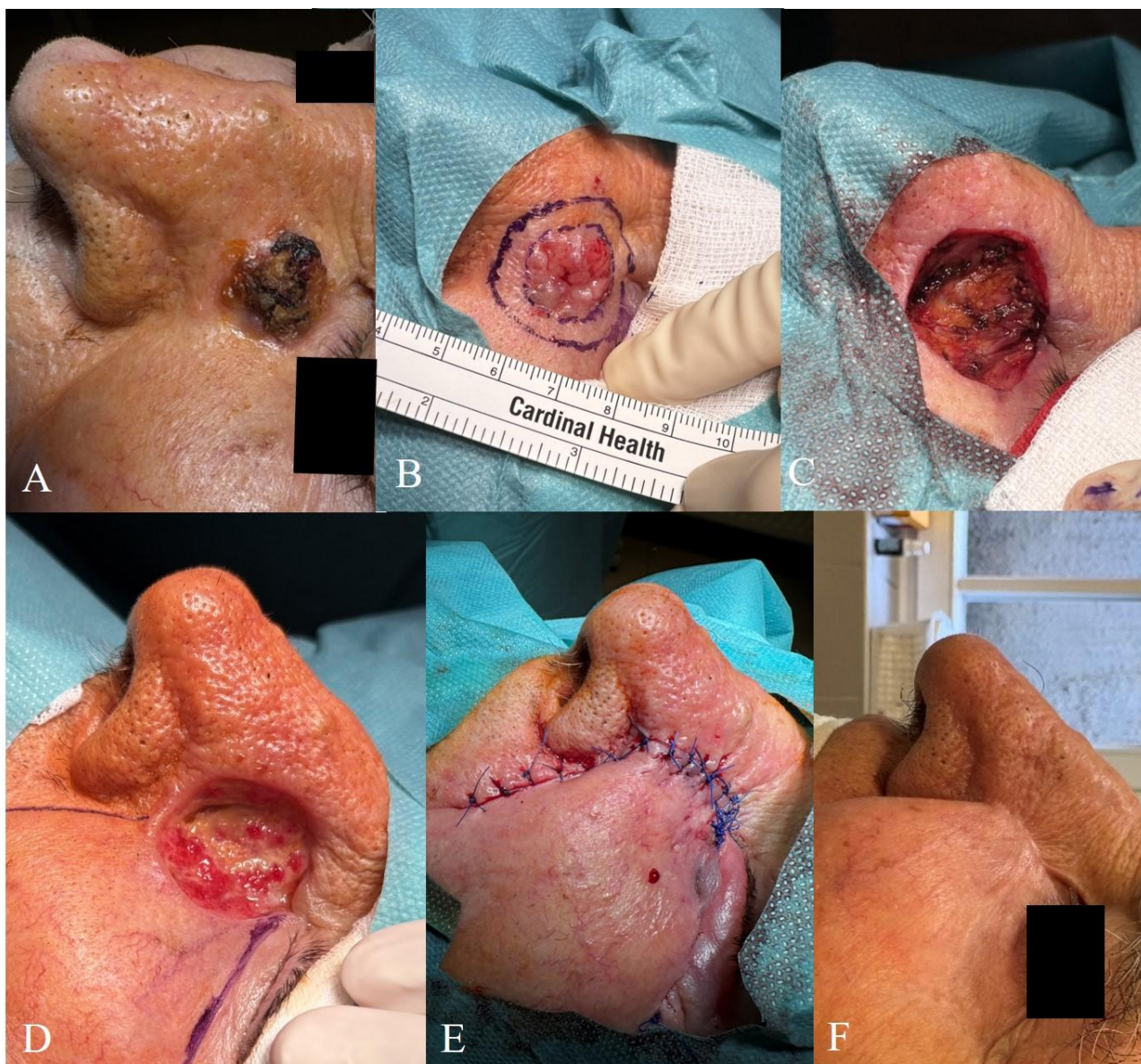


2. ábra

Hosszú Rieger lebeny

Preoperatív állapot (A), a szövettan elkészültéig a sebet Epigarddal fedtük, majd po. 16. napon hosszú Rieger lebennyel zártuk (B,C,D), a lebenyes zárás után po. 17. napi (E), illetve po. 3 és fél hónappal későbbi gyógyult műtéti terület (F).

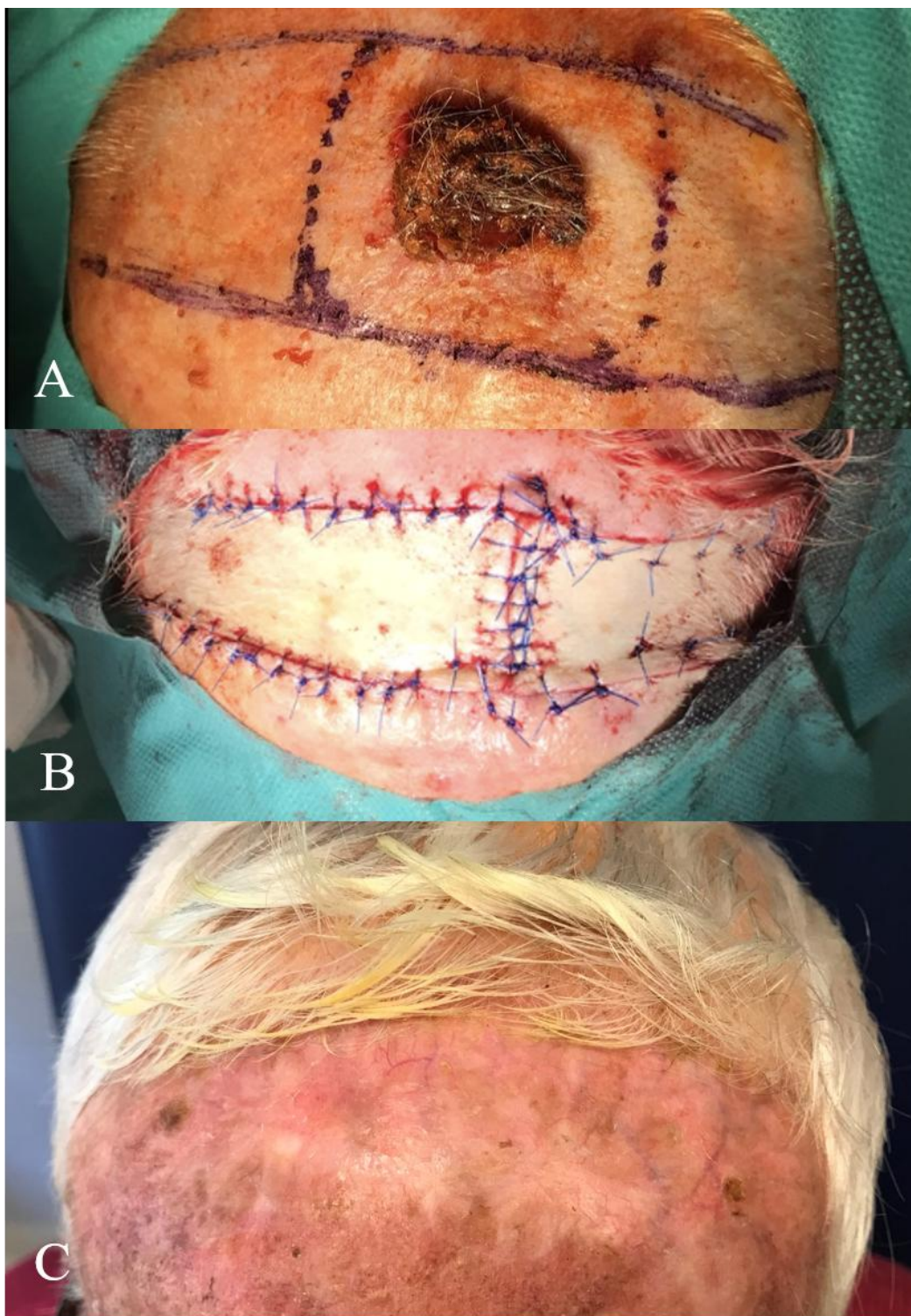
(Saját képanyag, DE KK).



3. ábra

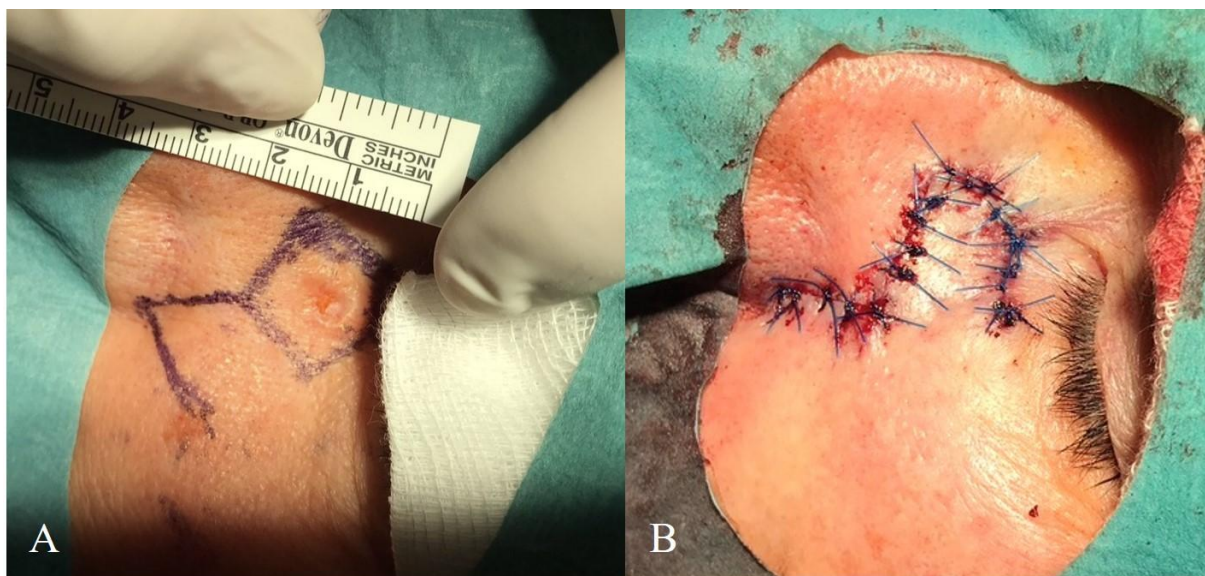
Imre-féle arc rotatio lebeny

Preoperatív állapotok pörkeltávolítás előtt és után (A,B), a tumor eltávolítás utáni szövethiány (C), a lebenyes zárás előtti részben áthámosodott állapot (a zárást 2 héttel a tumor eltávolítás után végeztük a szövettani eredmény megvárása miatt, addig a sebet Epigarddal fedtük) (D), A lebennyel zárt friss postoperatív állapot (E), 6 hónappal a lebenyes reconstructio utáni állapot (F) (Saját képanyag, DE KK).



4. ábra
H-plasztika

A fotókon látható a preoperatív állapot (A), a lebennyel pótoló friss műtéti állapot (B),
illetve a postoperatív 2 hónappal későbbi állapot (C).
(Saját képanyag, DE KK).



5. ábra

Rombusz-lebény

A képeken a preoperatív (A) illetve a rombusz lebennyel pótoló postoperatív állapot (B) látható.
(Saját képanyag, DE KK).



6. ábra

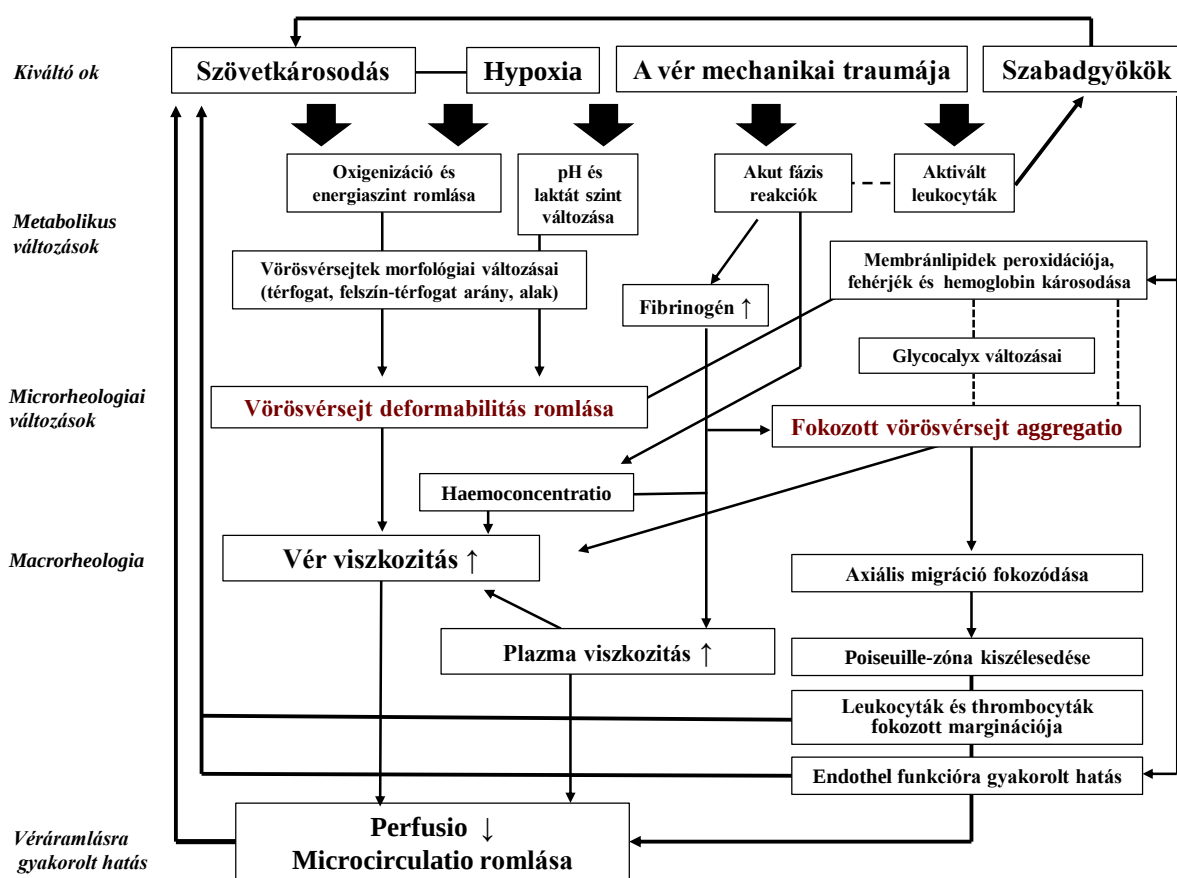
Példák postoperatív szövődményekre

2.2 Haemorheologiai paraméterek és vizsgálatuk I/R során

Az ischaemia majd az azt követő reperfusio sejtkárosodást, gyulladásos reakciókat, szabadgyök felszabadulást, különböző haemorheologiai változásokat idéz elő, melyek mikrokeringési zavarokhoz, esetenként necrosis kialakulásához vezetnek (7.ábra).

A lebenyek alkalmazásánál létrejövő I/R nem csak a sebgyógyulást lassítja, hanem változásokat okozhat a vörösvérsejtek micro-rheologiai tulajdonságaiban is, mint a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio.^{15,41}

Az I/R vizsgálatoknál alkalmazott mikrokeringési és rheológiai mérésekkel illetve a lebeny szöveti tulajdonságainak megváltozásának megfigyelésével monitorozhatjuk a fentebb említett károsító hatásokat és postoperatív gyulladásos folyamatok mérséklésére alkalmazandó hatóanyagok sikerességét.



7. ábra
Az I/R haemorheologiai vonatkozásainak összefoglalása^{15,41}

2.2.1 Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejtek azért tudnak a legkisebb erekben is sérülésmentesen továbbáramlani, mert mechanikai hatásra képesek alakjuk passzív megváltoztatására, ezt hívjuk vörösvérsejt deformabilitásnak. A jelenséget a következő tényezők befolyásolják: vörösvérsejtek morphológiája, abszolút térfogata, felület/térfogat aránya, a sejtmembrán membrán vagyis a cytoskeleton (spektrin–aktin hálózat) integritása és az intracelluláris viszkozitás (haemoglobin tartalom).⁴¹

A deformabilitás romlása leginkább a mikrokeringési területeken okozhat kárt, áramlási elégtelenséget okozva.⁴² Ismert, hogy egyes betegségek megváltoztatják a vörösvérsejtek deformabilitását, mint például a cukorbetegség⁴³ vagy az örökletes hemolitikus anaemiákban (thalassaemiák, sarlósejtes vérszegénység, hereditær szferocitózis vagy xerocitózis).⁴⁴ Akut vagy krónikus gyulladás és sepsis esetében is romlik a deformabilitás.^{45,46}

2.2.2 Vörösvérsejt aggregatio

Vörösvérsejt aggregatio alatt a sejtek reverzibilis átmeneti összetapadását értjük, mely egy fiziológiásan előforduló folyamat, létrejöhet alacsony nyíróerő mellett vagy stasisban. Három szakaszból áll, először a vörösvérsejtek „pénztekercs”-szerűen majd gömb-alakú aggregatumokba rendeződnek össze kb. 5 perc alatt nyugalmi vérmintában. Ezután kezdődik az aggregatumok süllyedése kb. 60-180 perc alatt. Végül a süllyedési sebesség lelassul majd megáll. Az a megfigyelés az alapja a medicinában gyulladásos betegségekre utaló úgynevezett vérsüllyedésnek. Növekvő nyíróerő mellett a vörösvérsejtek ismét szétválnak. Az aggregatiót befolyásolja a sebesség-gradiens, a plazma fibrinogén tartalma, a haematocrit illetve a vörösvérsejtek sejtfelszíni glycocalyx összetétele és a sejt bikonkáv alakjának megléte.^{41,47,48}

Korábbi kutatásaink már bizonyították, hogy I/R károsodás után nő a vörösvérsejtek aggregatioja, emiatt tartjuk jó markernek.

2.3 A microcirculatio vizsgálata

2.3.1 Cytocam-IDF videomikroszkóp

A Cytocam-IDF egy könnyű kézi videomikroszkóp, mely non-invazív módon képes a mikrokeringés detektálására, valós időben, alkalmas *in vivo* kísérletekre. Egyszerűen, könnyen hordozható és nagy látótérben igen jó felbontású képeket ad, így egy felvételen sok képlet egyszerre láthatóvá válik: kapillárisok, hajszálerek, kis vénák/arteriolák.

Nevében az IDF az Incident Dark Field megvilágítási elvre utal, ami azt jelenti, hogy a kézi műszerben van 12 lámpa, melyek erős zöld fényt bocsátanak ki impulzusszerűen, mely fényt a VVT-kben lévő hemoglobin elnyeli és emiatt a képen fekete színnel ábrázolódnak a VVT-k, míg a környezet világosabban.⁴⁹⁻⁵¹

2.3.2 Véráramlás vizsgálat Transonic T206 készülékkel

A Transonic T206 egy ultrahangos áramlásmérő, melyet kisállatos állatkísérletekre fejlesztettek ki. A készülékhez a mérések során megfelelő ultrahangos áramlásmérő szenzort kapcsolunk, működési elve a Transit-Time Ultrasound Flowmetry (TTFM) technológián alapul, mely során két ellenkező irányú ultrahangot bocsát ki (áramlással megfelelően illetve azzal szembe) majd ezek tranzitidejének különbségéből számolja a valódi volumetrikus véráramlást (ml/min).

Ez a módszer azért sokkal pontosabb, mint a Doppler-elven működő készülékek, mert független a vér haematocritjától, viszkozitásától vagy a szonda szögétől. Az adott mérési pontokon a gép által gyűjtött adatokból következtethetünk a lebeny vagy az érnyél állapotára így csökkentve a microvascularis komplikációk előfordulását.^{52,53}

2.4 Hisztomorphológiai változások I/R károsodás hatására és jelentőségük

2.4.1 Szöveti megfigyelések

I/R károsodás gyakran fordul elő szabad lebenyek használatakor, szervátültetéskor vagy egyéb nagyobb sebészi beavatkozásnál.⁵⁴ A csökkent perfúzió okozta mikrokeringési zavar oxigén hiányos állapothoz, metabolitok felszaporodásához vezet, gyulladásos citokinek szabadulnak fel. Mindez sejtszintű változásokhoz, az eredeti szövethez képest átrendeződött rost összetételhez vezet szöveti szinten.

Az I/R károsodás subcutan oedema kialakulásához, szöveti károsodáshoz illetve fokozott gyulladásos sejt beáramlással jár a lebenyekben Ballestin et. al. megfigyelése szerint, akik 8 órás ischaemiás időnek tették ki arteria és vena epigastrica superficialis caudalisra nyelzett bőr lebenyüket.¹⁷

Khalaf et al egy idővonalon mutatták be az ischaemia által károsodott bőr szöveti változásait különböző festési metódusokat használva: már az első 12-24 órában leírták a gyulladásos infiltrációt, melyet 3-14 nap múlva strukturális átalakulás majd 5-14 napra érújdonképződés követett.⁵⁵

A különböző struktúrákhoz, különböző festési eljárásokat használhatunk, melyre jelen tanulmány is példa. Hematoxillin-eozin az általános szöveti struktúrák, az epidermis vastagságának megítélésre, dimetil-metilén kék a hízósejtek kimutatására, orcein az elasztikus rostok, míg pikroszirusz vörös a kollagén rostok megfestésére. Természetesen immunohisztokémia is alkalmazható, de mi jelen kísérletünkben nem alkalmaztunk ilyen eljárásokat.

2.4.2 Szakítószilárdság

A szakítószilárdság az a maximális mechanikai feszültség, amit egy anyag képes elviselni húzás hatására, mielőtt eltörik vagy a mi esetünkben elszakad. A feszültség-nyúlás

diagram csúcspontja jelzi azt a pontot, amikor az adott anyag még képes ellenállni a növekvő húzó erőnek. A nagyobb szakító szilárdság arra utal, hogy a szövetnek nagyobb az ellenálló képessége a mechanikai erőbehatással szemben.

Quirinia et al. már 1992-ben leírta hogy az ischaemia rontja a lebenyek biomechanikai tulajdonságait.⁵⁶ Egyik tanulmányunkban mi is bizonyítottuk, hogy az intakt bőr szakító szilárdsága sokkal jobb a localis illetve a rotált musculocutan lebenyekhez képest.⁵⁷

A Sebészeti Műtéttani Tanszék az Információ Technológiai Tanszékkal kollaborációban hozott létre egy saját szakítószilárdság mérő készüléket, melyet a mérések során használunk.

2.5 Sebgyógyulást elősegítő anyagok

A sebgyógyulást többféle módon is elősegíthetjük. Jól ismertek például a gyakorlatban a különböző speciális kötszerek, melyek célja, hogy segítsék a sebek áthamosodását. Lentebb ismertetnék pár gyakran alkalmazott kötszer fajtát.

Az Epigard (Biovision) egy 1973 óta ismert kétrétegű, hatóanyagot nem tartalmazó kötszer, mely a bőr eredeti funkcióját igyekszik utánozni.⁵⁸ A felszínes része egy vékony microporosus réteg, mely jól szellőzik, mégis védelmet nyújt a külső fertőzésekkel szemben, a sebre helyezett alsó réteg puha poliuretan, mely felszívja a sebből távozó nedvességet és serkenti a fibroblasztok növekedését és az érújdonképződést. A teljes bőrhiányt is fedhetjük vele, viszont akkor is jó választás, ha a választott lebeny nem képes teljesen lefedni a teljes szövethiányt, ekkor a megmaradt fedetlen részt Epigardos védelem alá helyezhetjük.⁵⁹

Az Atrauman Ag (Hartmann) elemi ezüsttel bevont poliamid rostokból álló hatóanyagmentes speciális sebfedő háló, nem tapad hozzá a sebhez, így eleven felszínű sebekre is alkalmazható, mint pl. nem gyógyuló krónikus sebeknél (ulcus), vagy égési sérüléseknél. Ezüst tartalma miatt antimikrobiális tulajdonságú.⁶⁰ Az Atrauman Silicone (Hartmann) olyan hálós kötszer, mely kialakításának köszönhetően nem ragad bele a sebbe, viszont a

sebváladékot átengedi. Hordozóanyaga polietilén-tereftalát (PET), mindkét oldalán szilikon gél bevonattal mely az előnyös sebgyógyulást szolgálja.⁶¹ Az előző két sebfedő háló önmagában nem, csupán másodlagos nedvszívó kötszerrel (pl. Zetuvit E, Hartmann) és kötésrögzítővel együtt használható.

Fizikai módszer még a sebregeneráció elősegítésére az úgynevezett vákuumos sebkezelés vagy más néven negatívnyomás-terápia, mellyel nehezen gyógyuló vagy nagy kiterjedésű sebeket kezelnek. A szövethiányos területre egy speciális szivacs kerül, melyet légmentesen leragasztanak, majd folyamatos negatív nyomásnak tesznek ki, egy csövön keresztül csatlakoztatott vákuum pumpa segítségével. A kezelés stabilizálja a sebet, serkenti a granulatiót, csökkenti a seb oedemáját illetve a bakteriális terhelését és javítja a szöveti áramlást így jó alternatívát jelent a makacs sebek kezelésében.⁶²

Alkalmazhatunk még a szervezetből nyert anyagokat vagy farmakonokat is a gyógyulás elősegítésére.

A Lipoxin A4 egy endogén lipid mediátor, mely gyulladáscsökkentő és szintén patkány bőr lebeny modellen kimutatták, hogy javítja a lebeny túlélést, és mérsékli az I/R károsodást azáltal, hogy gátolja az oxidative stresszt, az apoptosist és a gyulladásos faktorok felszabadulását.⁶³

A thrombocyta-dús plazma (platelet rich plasma/PRP) subcutan alkalmazása növelte a lebenyek túlélését, javította a véráramlást és az angiogenesisist, csökkentette az oxidatív stresszt és a gyulladásos folyamatokat illetve az apoptosist ischaemiának kitett lebenyekben egy egereken folytatott kísérletben Pozitív hatásai hátterében a JAK/STAT activatio gátlását feltételezik.⁶⁴ Egy másik szintén egereken végzett kísérlet is megerősítette a PRP protektív szerepét I/R károsodással szemben, azáltal, hogy csökkenti a szabad gyökök illetve a gyulladásos citokinek szintjét (a pASK-1 and pNF- κ B szintjének csökkentésével).⁶⁵

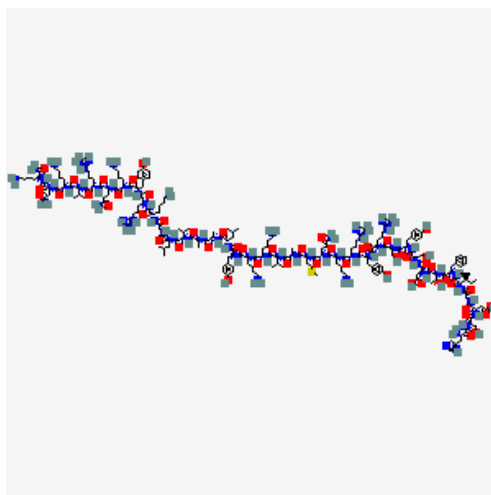
Gazzar és társai patkány epigastriális lebenyeken vizsgálták só-oldat, C-Vitamin, Heparin, és LY-6G monoklonális antitest protektív hatását I/R-val szemben és azt találták, hogy az utóbbi három hatóanyag csökkentette az I/R hatását, mely többek között a csökkent neutrofilszámban mutatkozott meg.⁶⁶

A luteolin egyfajta flavonoid, melyet növényekből vonnak ki és ismert antioxidáns antimutagén, gyulladáscsökkentő, antiallergén és antihipertenzív tulajdonságairól.⁶⁷ Patkány in vivo modellben a luteolinos előkezelés csökkenteni tudta az I/R károsodást azáltal, hogy megvédte a keratinocitákat a reaktív oxigén gyökök által okozott károsodástól.⁶⁸

2.5.1 PACAP (hipofízis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid)

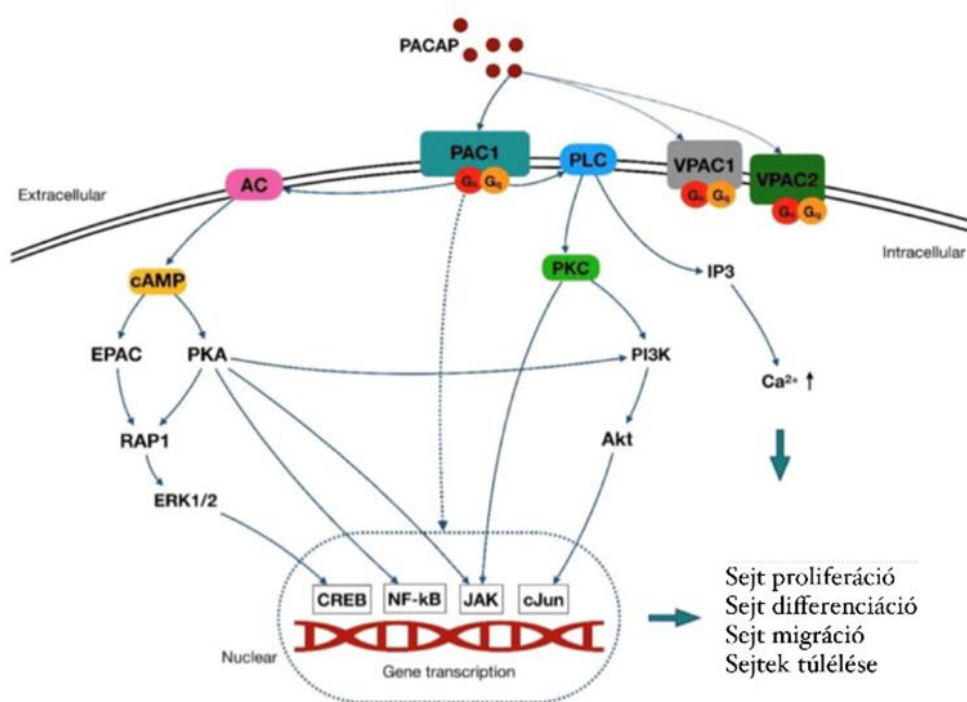
A PACAP egy VIP (vasoaktív intestinalis peptid)-hez hasonló endogén neuropeptid, melyet az ADCYAP1 gén kódol. Először birkák hipotalamuszából vonták ki (8.ábra).²⁶

Két isoformája létezik a PACAP1-38 illetve a PACAP1-27, de 90%-ban PACAP1-38 fordul elő a szövetekben és mi is ezt az isoformát használtuk.⁶⁹ A peptid a PAC1, VPAC1, VPAC2 receptorokhoz képest kötődni és receptorai által stimulálja az adenilát-ciklázt, így növeli a cAMP szintjét a célsejtekben.



8. ábra
A PACAP molekuláris szerkezete (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

A PACAP kötése alkalmas receptorok nem csak idegrendszerben vannak, hanem számos egyéb perifériás szervben, pl. a pancreasban, a gonádokban, a légző illetve urogenitális traktusokban,⁷⁰ hiszen immunsejtek, a simaizom, az endothel, a kötőszövet, fibroblasztok, és a bőr sejteiben is megtalálható. Ezzal magyarázható szerteágazó hatása, általános védőszerepe, anti-inflammatorikus és anti-apoptotikus hatásai.²⁷⁻³⁰ Neuroprotektív szerepét neurodegeneratív betegségek modelljeinél, mint pl. Parkinson betegség, Huntington chorea és Alzheimer betegség vizsgálták.⁷¹ Feltételezik, hogy protektív hatása lehet ízületi gyulladásban illetve hogy elősegítheti a porc regenerációt,⁷² de a csontfejlődésben is fontos szerepe lehet.⁷³ Vasodilatatív szerepét fejfájással kapcsolatos kutatásokkal sikerült igazolni és habár azt találták hogy ezen tulajdonsága fejfásához vezet,⁷⁴ mégis felveti annak a lehetőségét hogy más szövetekben okozott vasodilatatio a szöveti keringés javulásával járna (9.ábra).



9. ábra
A PACAP hatásának szemléltetése⁷¹

A fentebbi felsorolásból is látszik, hogy PACAP számos pozitív hatását vizsgálták már különböző modellekben, de eddig bőr sebgyógyulását ilyen kontextusban még nem. Az I/R károsodás csökkentő hatását a reaktív oxigén gyök csökkentő hatása, apoptózis gátlása, kapilláris perfúzió javítása és a gyulladáscsökkentő hatása miatt feltételezzük.

2.5.2 BGP-15 (*N'*-(2-hydroxy-3-(piperidin-1-yl)propoxy)-3-pyridine-carboximidamide)

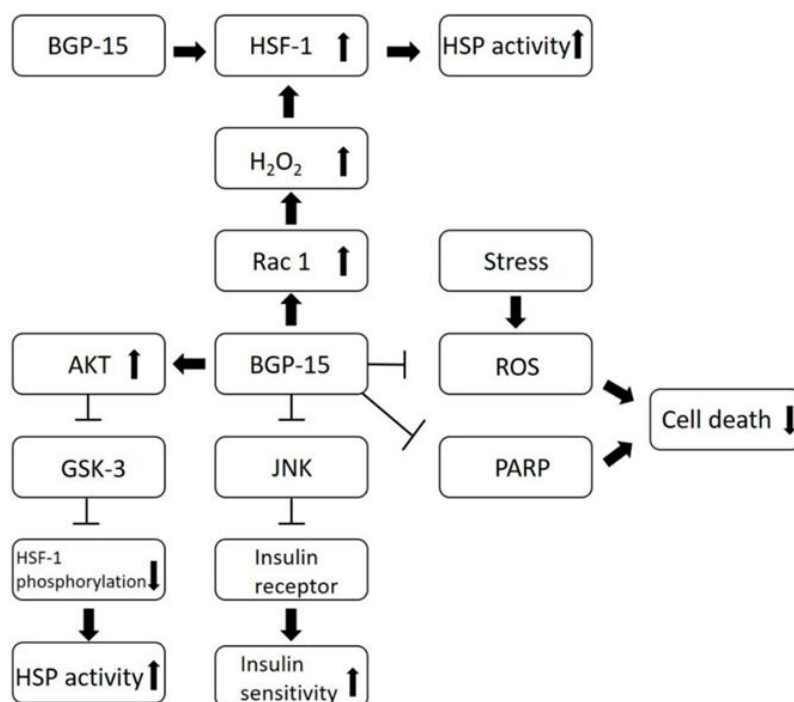
A BGP-15 egy nikotinos amidoxim származék, melyet magyar kutatók fejlesztettek ki az 1970-es években eredetileg citosztatikus készítmények toxicitásának a mérséklésére (10. ábra). Később derült ki, hogy a gyógyszerjelölt nem csak chemoprotektív hanem hatásos inzulinrezisztencia megelőzésében, gyulladáscsökkentő és kardioprotektív emellett photoprotektív tulajdonsággal és bír, sőt a Duchenne-féle izomdisztrófiában is vannak protektív hatásai.^{31,32,75} Emellett a lipopoliszacharid indukált depressziót is megszüntette és az öregedés okozta rossz fertilitási mutatókat is javította hím egerekben.^{76,77}



10. ábra
A BGP-15 molekuláris szerkezete

Úgy találták, hogy hatásmechanizmusának hátterében többek között az áll, hogy a BGP-15 fokozza a hősokk fehérjék aktivitását a HSF-1 acetilezésének gátlásával, a Rac 1 aktiválásával illetve közvetve az AKT szintek emelésével, csökkenti a reaktív oxigéngyökök termelődését a mitokondriumban így javítva a sejtek túlélését és gátolja a PARP receptort így

a sejthalált illetve a sejtkárosodást ischaemia-reperfusio során. Emellett növeli az inzulin szenszitivitást az inzulin receptort gátló JNK gátlásával és a membránfluiditást is javítja. (11. ábra).



11. ábra
A BGP-15 hatásmechanizmusának stilizált ábrája

Alkalmazása gél formájában történt tanulmányunkban, de egyéb külső, localis alkalmazása is ismert. Kísérletet tettek transdermalis tapasz kifejlesztésére is és *in vitro* vizsgálattal úgy találták a BGP-15 penetrálni tudta a bőrt.⁷⁸ Emellett krém formájában igazolták photoprotektív tulajdonságait.⁷⁹ A BGP-15-tel kapcsolatban habár történtek vizsgálatok, mégis alulkutatottnak tűnik sebgyógyulás szempontjából, inkább gyulladáscsökkentő hatását vizsgálták eddig.

3. CÉLKITÚZÉS

1. Célunk volt olyan patkány modell kialakítása, mely különböző szöveti összetételű lebenyek vizsgálatát teszi lehetővé és mely alkalmazása során a lebenyeket érő ischaemia/reperfusio hatás általi különböző változások illetve a regeneráció során létrejövő változások jól utánkövethetők.
2. Vizsgálni kívántuk, hogyan változik a morphológiája, a szövettani illetve biomechanikai tulajdonsága a fascio- és adipocutan lebenyeknek a korai regenerációjuk során.
3. Célul tűztük ki az I/R károsodás mértékének megállapítását a perfúziós paraméterek vizsgálatával, a véráramlás, mikrokeringes függvényében adipocutan lebenyek esetében.
4. PACAP 1-38, illetve BGP-15 tartalmú gélek micro-rheologiai illetve hisztomorphológiai hatásának vizsgálatát terveztük I/R-nak kitett epigastrialis fasciocutan lebenyek gyógyulása során.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Minden kísérletet a hatályos állatvédelmi törvény (1998. évi XVIII. törvény az állatok védelméről és kíméletéről) és EU szabályozás (2010/63 irányelv) betartása mellett, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottságának jóváhagyásával (engedély nyilvántartási szám: 19/2022 /DEMÁB) végeztük el.

4.1 Kísérleti állatok kiválasztása és előkészítése a műtétekhez

A kutatásokhoz összesen 31 hím Wistar patkányt (származási hely: Toxi-Coop Zrt., Budapest, Magyarország) használtunk fel. A patkányokat hathetes korukban szállították a Tanszékünk állatházába, és a kísérlet megkezdése előtt három hétig akklimatizálódtak standard méretű ketrecekben (Eurostandard IV, Tecniplast, Buguggiate, Olaszország. Az állatházban állandó hőmérsékletet (22 °C) illetve páratartalmat (55±10%-os) tartottunk fent, az állatok standard patkánytápot kaptak szabad hozzáféréssel illetve vizet önitató módon. A világításban 12-12 órás világos/sötét ciklust követtünk.

A felnőtt hím patkányok kiválasztása háttérében az állt, hogy a kísérleti sebészeti beavatkozásokhoz megfelelő méretű és anatómiájú állatmodellt kívántunk létrehozni, melyhez szükséges volt a megfelelő életkor illetve a nemi homogenitás. Mivel a leányokat az epigastriális régióban jelöltük ki, emiatt is elvetettük a nőstény állatok felhasználását, amelyek 6 pár mamillával rendelkeznek.

A műtétek előtt a patkányok testsúlyát lemértük, ez alapján általános anaesthesiáként 100 mg/testtömeg-kg i.p. ketamint (CP-ketaminhidroklorid 10%, Produlab Pharma BV, Raamsdonksveer, Hollandia), 10 mg/testtömeg-kg i.p. xilazin-hidrokloridot (CP-xilazin-hidroklorid, 2%; Produlab Pharma BV, Raamsdonksveer, Hollandia) és 0,05 mg/kg Atropint s.c. (Atropinum sulfuricum 0,1%, Egis Pharmaceuticals PLC, Budapest, Magyarország) használtunk.^{80,81} A műtét során figyelemmel kísértük az állatok vitális paramétereit: a

légzésszámot, a légzés mélységét, valamint a nyálkahártyák illetve a végtagok színét. Emellett a műtétek során az állatok egy melegítőpárnán voltak elhelyezve, hogy ezáltal biztosítsuk az optimális testhőmérsékletet a műtétek teljes ideje alatt.

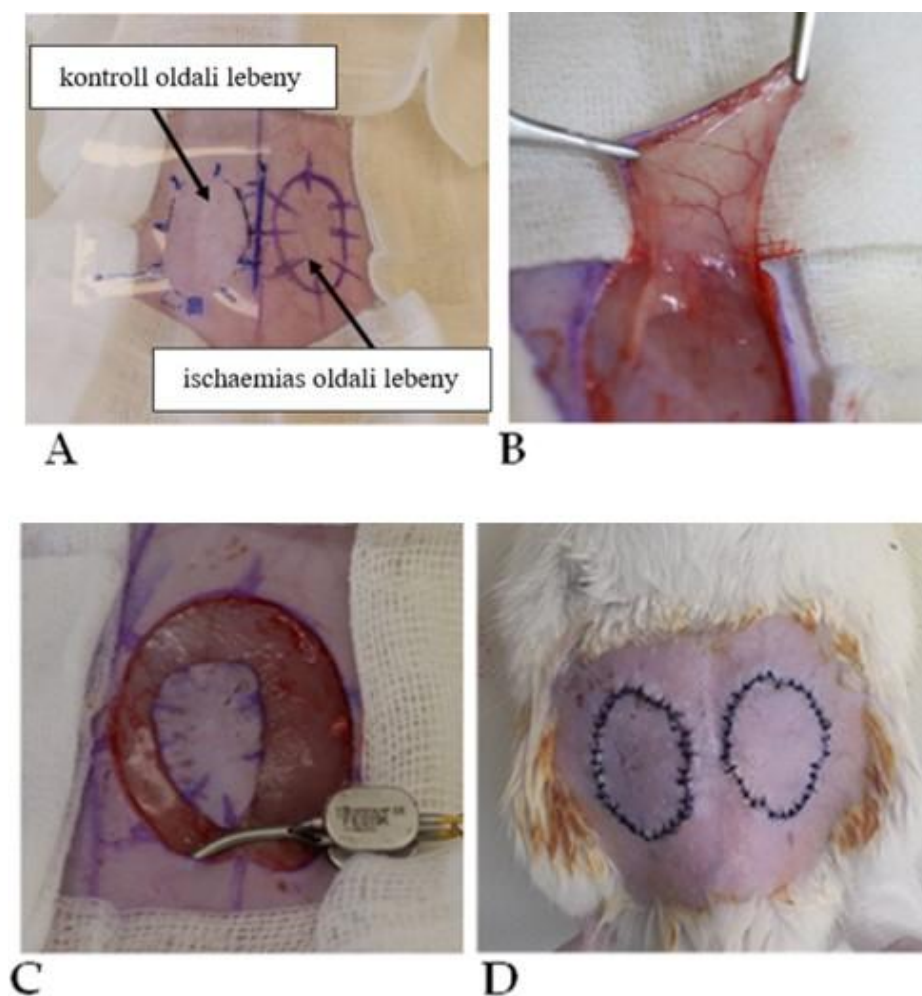
A két műtéti csoport műtét technikájában voltak különbségek, de az elmondható minden állatról, hogy postoperative 2 ml 0,9% NaCl-t kaptak s.c. A műtétek után az állatokat egyesével tartottuk, nyakukra pedig az autophagia megelőzése céljából műanyag gallért helyeztünk. A postoperatív fájdalomcsillapításhoz nem alkalmaztunk hagyományos NSAID-okat, ahelyett az első 3 postoperatív napon tramadolt (15 mg/kg/nap, s.c.)⁸³ adtunk az állatoknak, illetve sc. fiziológiás só oldatot is kaptak az állatok, a megfelelő hidratatio elérése érdekében.

4.1.1 Patkány fasciocutan epigastrialis lebenyeknél alkalmazott műtéti technika, kísérleti és mintavételi protokoll

Fasciocutan bilateralis epigastrialis lebenyt 21 hím Wistar patkányon ($322,79 \pm 17,63$ g) hoztunk létre. Ezen állatokat a kísérlet során használt sebél szerint 3 csoportra osztottuk: kontroll csoport, PACAP csoport illetve BGP-15 csoport. A lebenyeket standard méretű ovális sablon (felület: $5,48 \text{ cm}^2$) használatával készítettük el, így érve el minden állatnál ugyanazt a formát és méretet. A műtéti területet szőrtelenítettük, majd fertőtlenítettük és izoláltuk, ezután a sablon általi jelölésnek megfelelően elvégeztük a bőrmetszést. A lebenyeket az arteria és vena epigastrica superficialis inferiorra nyeleztük.

A bal oldali lebeny (későbbiekben ischaemiás oldal) érnyelét mikrosebészeti kapocssal 120 percig leszorítottuk és a sebágyba helyeztük, hogy ne száradjon ki, míg a jobb oldali lebenyt (későbbiekben kontroll oldal) kipreparálás után szintén a sebágyban hagytuk. A 120 perces időintervallum letelte után az adott csoportra jellemző 0,3–0,3 ml hidroxipropil-metilcellulóz gélt (HPMC) vittünk fel a sebágyakra.

A kontroll csoportban (n = 7) a gél nem tartalmazott hatóanyagokat. A PACAP csoportban (n = 7) 0,01% PACAP 1- 38-at, a BGP-15 csoportban (n = 7) pedig 10% BGP-15-öt adtunk a gélhez. A speciális sebgéleket a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Kar Gyógyszertechnológiai Tanszékén állították elő. Ezután a kétoldali lebenyeket 32 egyszerű, csomós öltéssel varrtuk vissza eredeti helyükre (vágó tű, Silk, SMI, Steinerberg, Belgium) (12. ábra). A csoportoknak megfelelő sebgéleket a műtét után 5 napon át vittük fel a varratok körül és a lebenyek felületén 0,15 ml-0,15 ml-t naponta a sebápolás mellett.



12. ábra

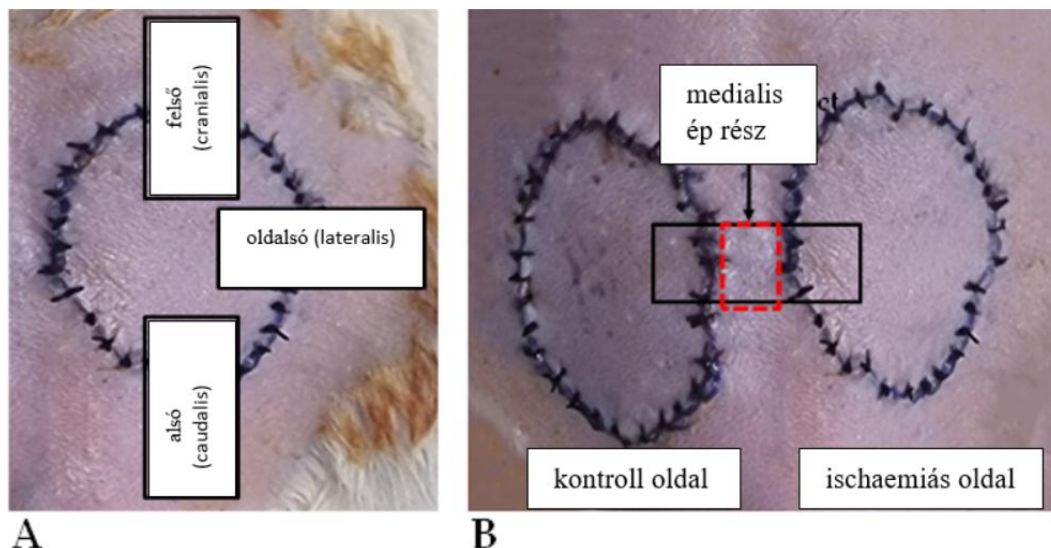
Intraoperatív felvételek a standard alakú és méretű (5,48 cm²) lebeny kialakításáról (A), a lebeny előkészítéséről (B), a microvascularis kapcsok alkalmazásáról a bal oldali lebeny 120 perces ischaemiájának kiváltására (C), valamint a visszahelyezett, összevarrt lebenyekről (D).

A műtét előtt (ezt használtuk alap értéknek) illetve a műtét utáni 1., 3. és 7. postoperatív napon az oldalsó farokvénából vettünk vért a laboratóriumi vizsgálatokhoz (0,4 ml/db; K3-EDTA, Vacutainer®, Becton Dickinson GmbH, Franklin Lakes, NJ, USA).

A műtét után egyből majd a 1., 3. és 7. postoperatív napon fényképeket készítettünk a lebenyekről. A lebenyek területét az ImageJ 1.40g ingyenes szoftver segítségével határoztuk meg, amelyet minden alkalommal az állatra helyezett vonalzóval kalibráltunk.

Emellett bőr hőmérséklet méréseket végeztünk (Ri-thermo® N professzionális klinikai thermometer, Rudolf Riester GmbH, Jungingen, Németország) mindkét lebenyen és az ép epigastriális bőrfelületen (kontroll középső régió) a műtét előtt, az ischaemia alatt, a műtét után (a lebenyek összevarrása után), valamint a műtét utáni 1., 3. és 7. napon.

A postoperatív 7. napon a kísérleti periódus végétével az állatokat 300 mg/kg 10%-os ketaminhidroklorid és 30 mg/kg 2%-os xilazinhidroklorid intravénás injekcióval, oldalsó farokvéna branülön keresztül túlaltattuk, majd a szakítószilárdság illetve szövettani vizsgálatokhoz bőrmintákat vettünk. $0,5 \times 3$ cm-es bőrcsíkokat vágunk ki a lebenyek felső, oldalsó és alsó részéből, belevéve a lebeny bőrterületét, a varratsort és a szomszédos ép bőrrészt a szakítószilárdság mérésekhez. Ezen kívül szintén fél cm széles bőrcsíkokat vágunk ki a lebenyek középső részéből is, a köztük lévő ép bőrrésszel együtt, a szövettani elemzés céljából (13. ábra).



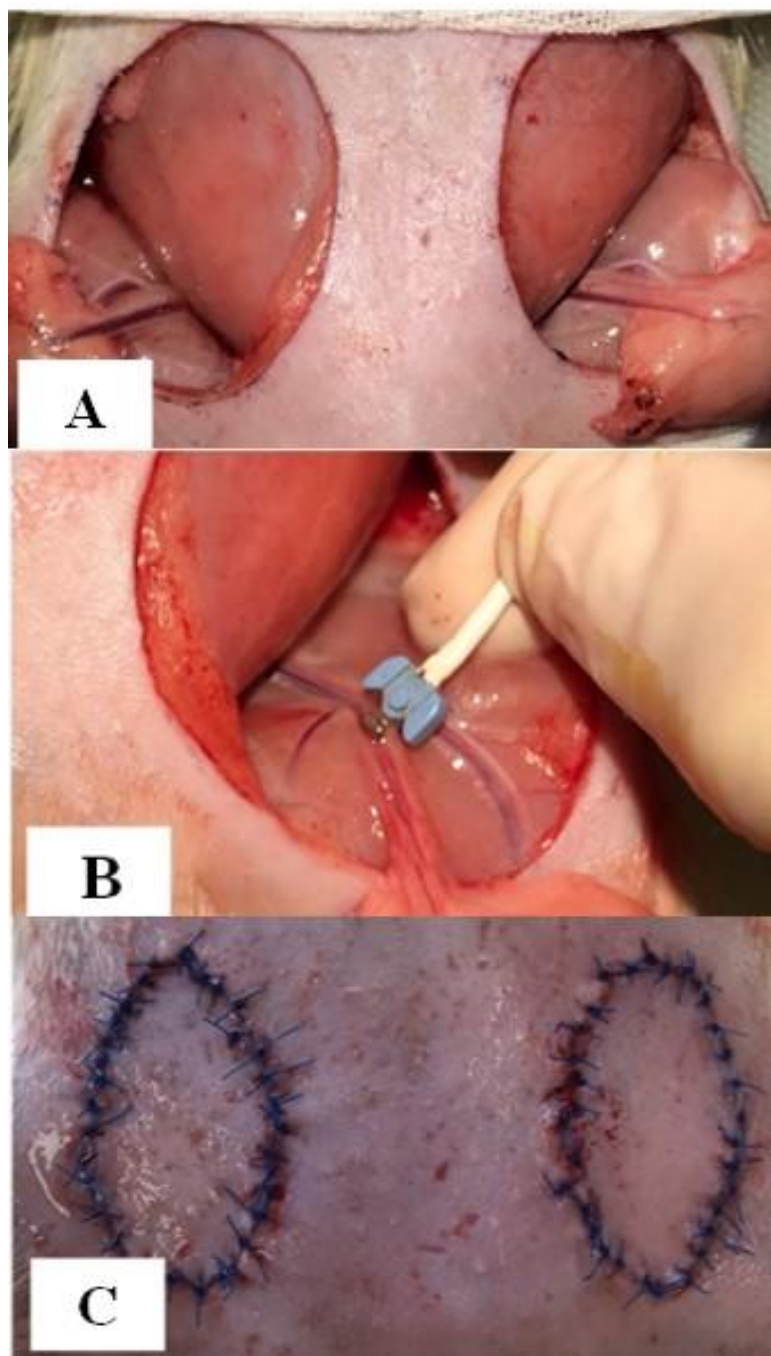
13. ábra

A műtét utáni 7. napon, a szakítószilárdsági vizsgálatához szükséges bőrminták vétele során 0,5 × 3 cm-es csíkokat nyetünk ki a lebenyek felső-, oldalsó és alsó részéből, beleértve a lebeny bőrét, a varratsort és az ép bőrrészt (A). Hasonló méretű bőrcsíkot készítettünk elő a szövettani vizsgálatra, amely tartalmazta a lebenyek mediális részeit és a lebenyek közötti ép bőrt (B).

4.1.2 Patkány adipocutan epigastricális lebenyeknél alkalmazott műtéti technika és kísérleti protokoll

Tíz hím Wistar patkányon (testtömeg: $362,7 \pm 17,08$ g) hoztunk létre bilaterálisan adipocutan epigastricális lebenyeket, melyeket szintén standard méretű ovális sablon alapján méreteztünk. A szőrtelenített hasú állatokon a műtéti terület fertőtlenítése és izolálása után két oldalon készítettük el a lebenyeket (felület: $400,76 \pm 66,08$ mm²), a lebenyeket az arteria és vena epigastrica superficialisra nyeleztük.

A bal oldalon a lebeny érnyelét szintén 2 órára leszorítottuk, miközben a lebenyeket a sebágyba helyeztük. Az ischaemiás időszak után a microvascularis kapcsolót eltávolítottuk, a lebenyeket repositionáltuk és 32-32 egyszerű csomós öltéssel (4/0 Pidilen, Kollut USA) visszavarrtuk, a sebágyakat 0,3-0,3 ml hidroxipropil-metilcellulóz (HPMC) géllal kezeltük (13. ábra). (14. ábra) A sebkezelést a műtét utáni 5. napig (0,15 ml/lebeny/nap) folytattuk.



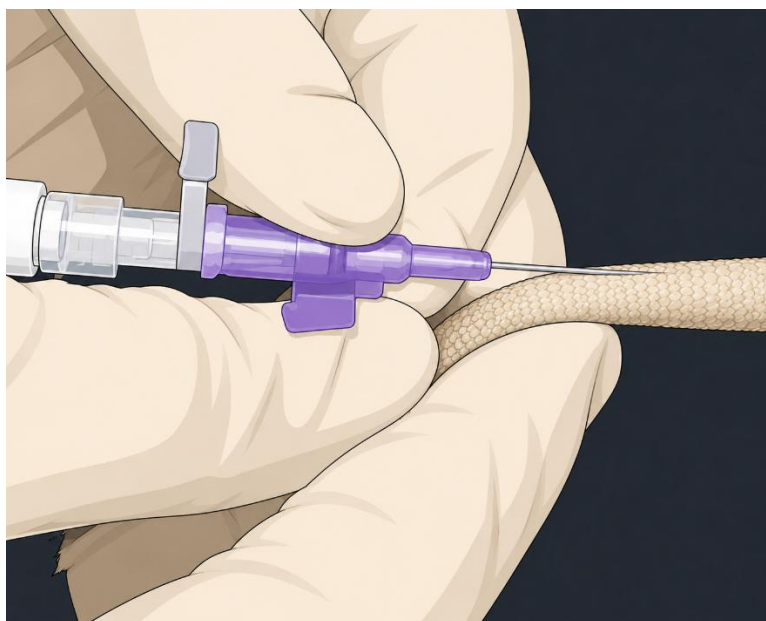
14. ábra

Intraoperatív fotók (A) kétoldali epigastralis adipocutan lebeny előkészítéséről, (B) a lebeny érnyelének véráramlásának méréséről - arteria epigastrica superior - és (C) az visszavarrt lebenyekről.

Két esetben az utánkövetés során a seb debridement-jára és/vagy resuturázásra volt szükség. Ezeket a beavatkozásokat általános érzéstelenítésben végeztük el.

A műtét után, valamint a műtét utáni 1., 3., 7. és 14. napon fényképeket készítettünk a lebenyekről, hogy a területük méretének megváltozását nyomon kövessük (ImageJ 1.40 g

freeware). Szintén végeztünk bőrhőmérsékleti méréseket: a műtét előtt, az ischaemia alatt, a műtét után (a lebenyek újbóli összevarrása után) és a 7. postoperatív napon a két lebenyen illetve a kontroll epigastrialis bőrfelületen (Rodent NIBP infravörös hőmérő LaserSight, AD Instruments, USA). Vérmintákat az oldalsó farokvénából vettünk a laboratóriumi vizsgálatokra a műtét előtt, valamint az 1., 3. és 7. és 14. napon (15. ábra). Az utolsó napon az állatokat túlaltattuk. Ezután bőrcsíkokat nyertünk a szakítószilárdsági és szövettani vizsgálatokhoz vizsgálatokhoz a fentebb ismertetettek szerint.



15. ábra
Vérvétel farokvénából (MI generált kép saját fotó alapján)

4.2 Laboratóriumi vizsgálatok

4.2.1 Haematológiai paraméterek

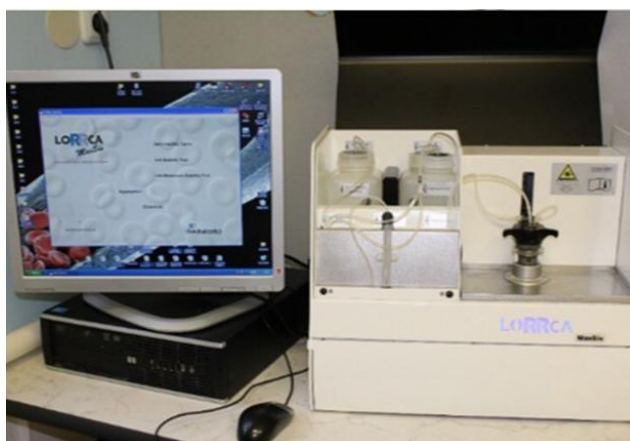
A haematológiai paramétereket Sysmex K-4500 automatával (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japán) mértük (16. ábra). A vizsgált paraméterek között szerepelt a fehérvérsejtek száma (WBC [G/L]), a vörösvérsejtek száma (RBC [T/L]), a hematokrit (Hct [%]) és a vérlemezkék száma (Plt [G/L]).



16. ábra
A Sysmex K-4500 automa

4.2.2 Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitását LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer (RR Mechatronics International B.V., Zwaag, Hollandia) segítségével határoztuk meg (17. ábra)⁸³

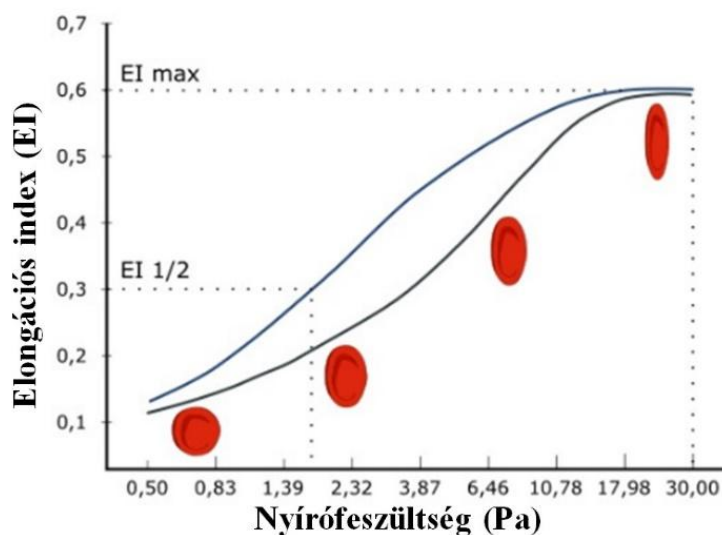


17. ábra
LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer

Az eszközben a vérmintákat nyíróerő hatásának tettük ki és lézeres diffrakciós technikával mértük a vörösvérsejt megnyúlását. A megnyúlási indexet (EI) a nyíróerő függvényében határoztuk meg (SS, Pa; tartomány: 0,3–30 Pa).^{83,84} A hagyományos deformabilitási teszt során 10 μ L antikoagulált teljes vér mintát, 2 mL polivinil-pirrolidon (PVP)-PBS oldattal (PVP: 360 kDa, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA; PVP-PBS oldat

viszkozitása = 31,6–33,6 mPas, ozmolalitása = 290–310 mOsmol/kg, pH = 7,5) kevertünk össze. Minden mérést 37 °C-on történt.⁸⁴ Az EI–SS görbékől összehasonlító adatokat számítottunk, beleértve a 3 Pa-nál mért EI értékeket.

Az egyes EI–SS görbék paraméterezéséhez a Lineweaver–Burk-egyenletet használtuk ($1/EI = SS_{1/2}/EI_{\max} \times 1/SS + 1/EI_{\max}$), amely megadta a maximális megnyúlási indexet ($EI_{\max}$) és az ennek feléhez tartozó nyírófeszültség értéket ($SS_{1/2}$ [Pa]).⁸⁵ A vörösvérsejtek deformabilitásának romlását alacsonyabb EI vagy $EI_{\max}$ és magasabb $SS_{1/2}$ értékek jelzik (18. ábra).^{83,85}



18. ábra

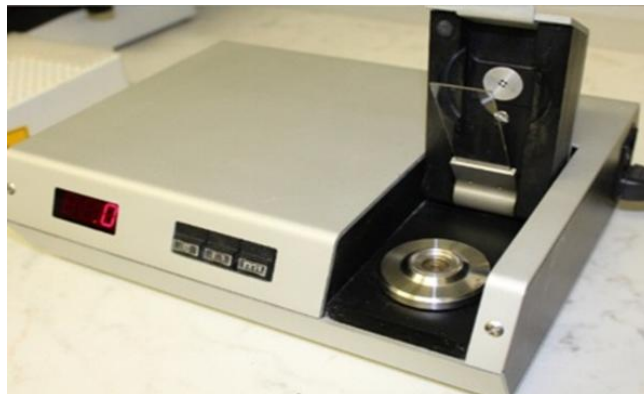
Vörösvérsejt deformabilitást leíró elongációs index a nyírófeszültség függvényében.⁴¹

4.2.3 Vörösvérsejt aggregatio

A vérminták aggregációs index értékeit Myrenne MA-1 eritrocitaggregometerrel (Myrenne GmbH, Roetgen, Németország) határoztuk meg (19. ábra).

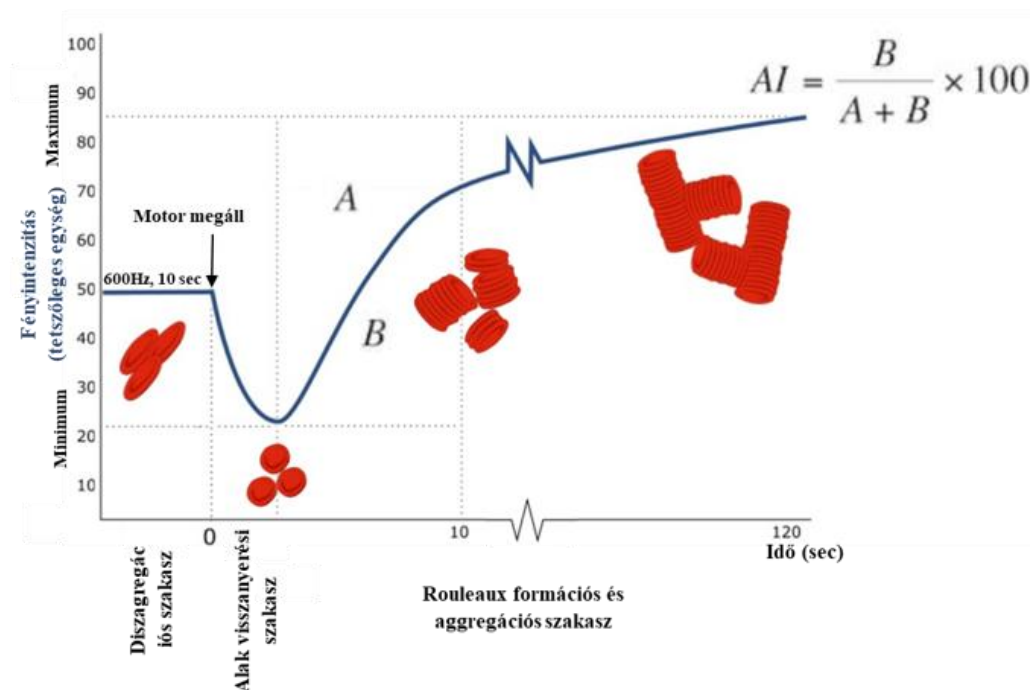
Ez a módszer fényáteresztő fotometrián alapul és 20 µl vérre van szükség hozzá. Miután kontrollált nyírási rendszerrel (nyírási sebesség: 600 s⁻¹) elértük a vörösvérsejtek disaggregációját, fénytranszmissziót alkalmaztunk 5 vagy 10 másodpercig statikus körülmények között (M értékek, nyírási sebesség: 0 s⁻¹) vagy alacsony nyírási sebesség mellett (M1 értékek,

nyírási sebesség: 3 s^{-1}).⁸³ A méréseket szobahőmérsékleten (20–25 °C) végeztük. Minden indexparamétert négy párhuzamos méréssel határoztunk meg, amelyek átlagát használtuk fel.



19. ábra
A Myrenne MA-1 erythrocyte aggregométer

A magasabb index értékek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) a vörösvérsejtek fokozott aggregációját jelzik (20. ábra).^{83,84}



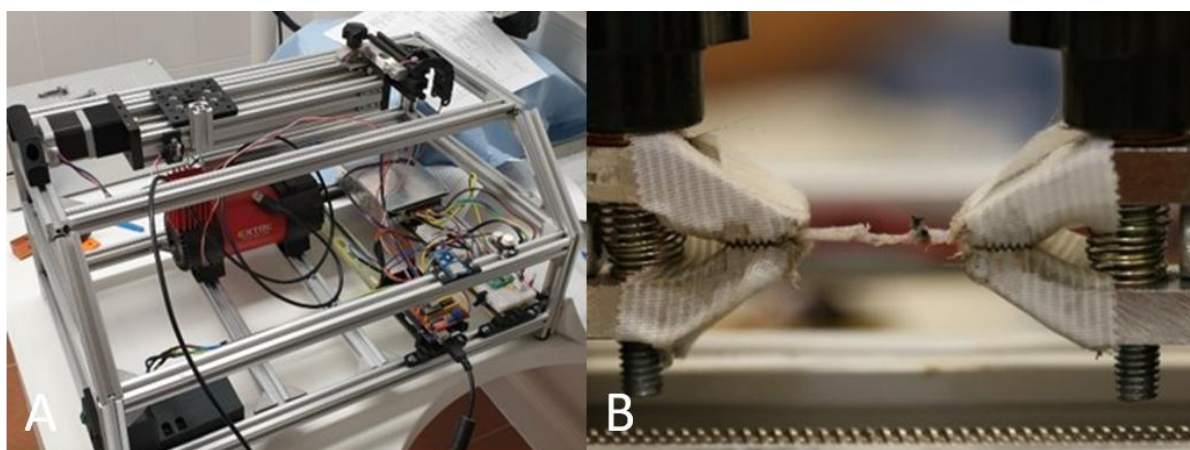
20. ábra
Vörösvérsejt aggregációt jelző fényintenzitás alakulása az idő függvényében
syllectometriás mérések során ⁴¹

4.3 Szakítószilárdság mérése

A szakítószilárdsági vizsgálatokhoz a terminálás után (fasciocutan lebenyeknél postoperatív 7., adipocutan lebenyeknél postoperatív 14. napon) ~5(x30) mm szélességű bőrdarabokat nyertünk mind az ischaemiás, mind a nem ischaemiás lebenyek felső, oldalsó és alsó részeiből. Az excisiokat úgy vettük, hogy mind a lebenyes területeket illetve az ép bőrterületet, valamint a kettőt elválasztó, már gyógyult varratvonalat is magukban foglalták.

A mintákat ezután egy speciális szakítószilárdság-mérő készülékbe helyeztük, (melyet az Információ Technológia Tanszék a Sebészeti Műtéttan Tanszékkal folytatott együttműködés során fejlesztett,) úgy hogy a varratvonal közepén legyen (21. ábra).

A vizsgálat során a minták szakadásáig folyamatosan növekvő szakítóerőt (1,95 mm/s) alkalmaztunk és grammban rögzítettük, az adatokat CVS fájlokba mentődtek. Ezután a grammot newtonba konvertáltuk, ezekből az adatokból a gép által generált feszültség-nyúlás görbe lehetővé tette a legfontosabb paraméterek meghatározását, mint a maximális feszültséget, a szakadási pontot és a görbék meredekségét.^{30,86} A szövet szakítószilárdságára utal az a maximális erő, amit a szövetek a szakadásuk előtt még pont elbírtak (22. ábra).



21. ábra

Szakítószilárdság méréséhez használt készülék (A) illetve közeli kép egy szakításról (B)



22. ábra
Reprezentatív erő – idő adatgörbe egy bőrvarrat szakítószilárdságáról

4.4 Szövetteni elemzések

A szövettani vizsgálatokhoz felhasznált bőrcsíkokat a kísérletek terminálása után nyertük úgy, hogy mindkét oldali lebeny részletet illetve a kettő között lévő bőr részt is tartalmazza. A bőrmintákat fogászati viaszra rögzítettük, majd két napig formalinban tároltuk. A fogászati viasz használata azért volt szükséges, hogy megakadályozzuk a minták zsugorodását és összegyűrődését. A fixációt követően a mintákat háromszor desztillált vízben, majd egyre nagyobb koncentrációjú alkoholban mostuk, majd paraffinba ágyztuk. Mikrotómmal 7 μ m vastag sorozat metszetek készültek (Leica, Wetzlar, Németország). A metszeteket vízben oldott dimetil-metilén késsel (DMMB, Sigma-Aldrich, MO, USA), hematoxin-eozinnal (H&E, Sigma-Aldrich, MO, USA), pikroszirusz vörössel (Sigma-Aldrich, MO, USA), illetve a fasciocutan lebenyek esetében még orceinnal (Sigma-Aldrich, MO, USA) festettük a gyártó utasításainak megfelelően. Ezután a metszetek DPX (Sigma-Aldrich, MO, USA) bevonatot kaptak. A DMMB-vel, H&E-vel és Orceinnel festett szövettani metszeteket BX53 Olympus (Olympus, Tokió, Japán) fénymikroszkóppal vizsgáltuk, konstans kamera- és expozíciós beállításokkal.

A DMMB egy klasszikus, gyors módszer, amely a hízósejtekben található granulumokat metakromatikusan lila vagy ibolyaszínűre festi a magas heparin- és hisztamintartalom miatt, így a hízósejtek lila-kék granulumokként jelennek meg a világosabb háttér előtt. Ez azért lehetséges, mert a DMMB a hízósejtekre jellemző szulfátos proteoglikánokat specifikusan megfesti. A DMMB-festés után megszámoltuk az adott 10x nagyítású területre eső hízósejteket és feljegyeztük a teljes sejtszámot.

A pikrosziriusz vörössel festett mintákat polarizációs lencsével vizsgáltuk, ahol a polarizált fény síkját $\lambda/4$ -del elforgattuk, és egy BX53 Olympus mikroszkóppal (Olympus, Tokió, Japán) $\lambda/4$ kompenzátort használtunk. A fényképeket normál fényben, majd polarizált fényben készítettük, konstans kamera beállításokkal. A pikrosziriusz vörös festésnél a vékony kollagén rostok zöld, míg a vastag kollagénrostok vörös színnel festődnek. A vörös-zöld pixel intenzitás analízisére az ImageJ 1.40g freeware-t használtuk, mely semikvantitativ adatokat adott meg, amelyeket az ép bőr adataihoz viszonyítottunk.

A szövetminták H&E festése után megmértük az epidermis vastagságát (ImageJ 1.40g freeware) illetve értékeltük a szövetek morphológiáját és ott ahol volt több csoport (fasciocutan lebenyek) összehasonlítottuk a csoportok közötti különbségeket.

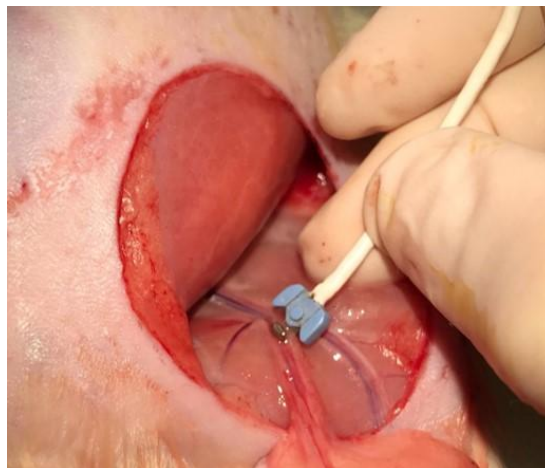
4.5 A lebenyek érnyelének véráramlás-vizsgálata

A Transonic T206 készülék (Transonic Systems, Ithaca, USA) segítségével mértük az adipocutan lebenyek arteria epigastrica superficialisának véráramlását (23. ábra). Mindkét oldali lebeny arteriájában végeztünk méréseket az ischaemiás periódus előtt és után (a visszavarrás előtt) és a 14. postoperatív napon.



23. ábra
Transonic T206 - hivatalos gyártói kép.

A készülékhez csatlakoztatott szenzort közvetlenül az érnélre helyeztük, így valós idejű ml/percben kifejezett áramlásméréseket kaptunk eredményül (24. ábra).^{87,88}

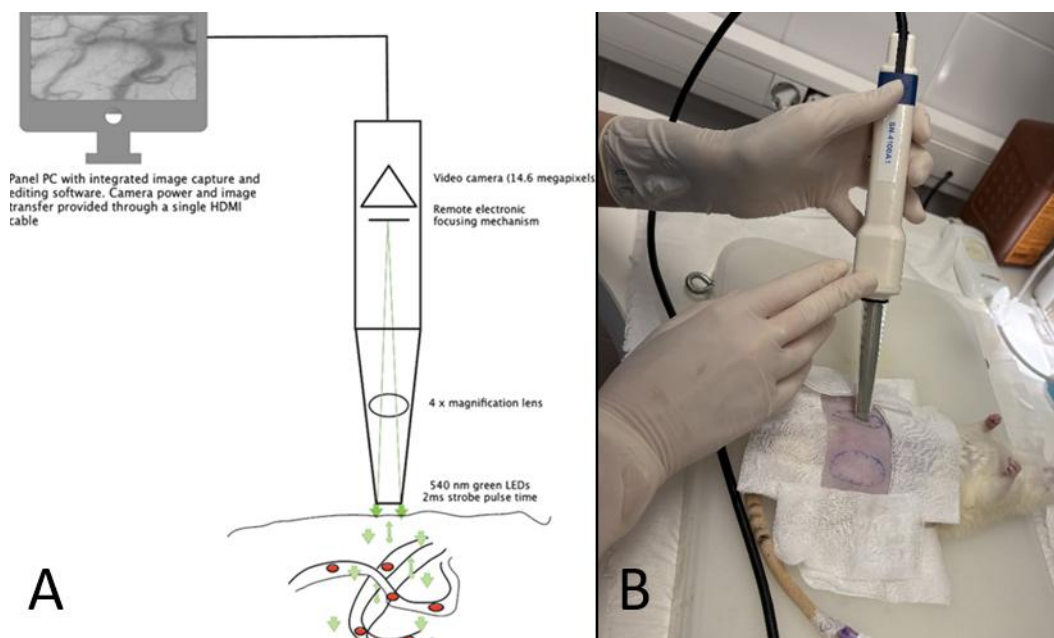


24. ábra
Áramlásmérés az arteria epigastrica superficialisban

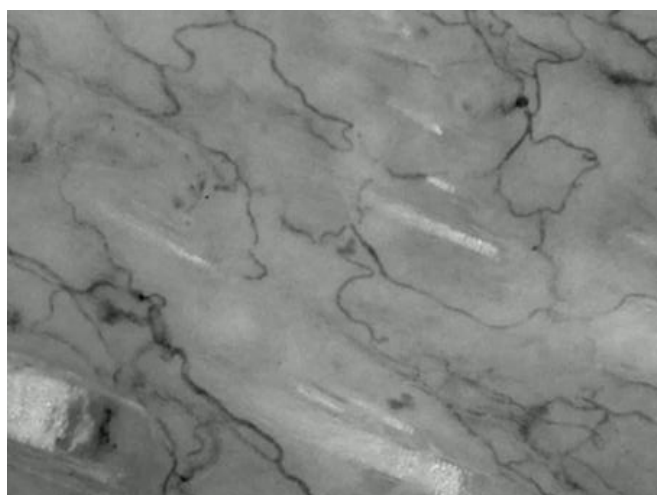
4.6 A Microcirculatio vizsgálata

Az adipocutan lebenyeknél Cytocam-IDF (Braedius Medical B.V., Huizen, Hollandia) videomikroszkópot használtunk a microcirculatio értékelésére a felületi szövetrétegek beeső fénnel felülről történő megvilágításával (2-3 mm mélyen), amelynek eredményeként a hemoglobin-tartalmú vörösvérsejtek fekete vagy szürke pontokként jelentek meg a világos szöveti háttér előtt, mivel az Incident Dark-Field technika esetén a háttérről visszaverődő szórt fény világítja meg a területet, miközben a direkt reflexiók nem jutnak az optikába (25. ábra).^{50,51}

A mikrokeringési felvételeket (26. ábra) offline módon elemeztük, a következő paraméterekkel: a „perfused vessel density” (PVD [mm/mm^2]), a „proportion of perfused vessels” (PPV [%]), illetve a „microvascular flow index” (MFI [au]).^{50,51,89}



25. ábra
Cytocam-IDF videomikroszkóp működésének sémás megjelenítése (A) illetve mikroáramlás mérés Cytocam-IDF videomikroszkóppal patkányon (B)



26. ábra
 Reprezentatív pillanatkép egy videomikroszkópos felvételtől.

4.7 Statisztikai módszerek

A minták méretének, vagyis a csoportonkénti állatok számának meghatározásához a Mead-egyenletet (Mead's Source Equation) alkalmaztuk.⁹⁰

A statisztikai elemzésekhez a SigmaStat Software 3.1.1.0. (Sys-tat Software Inc., San Jose, CA, USA) szoftvert alkalmaztuk. Az adatok átlagként kerültek bemutatásra $\pm$ standard deviatioval (SD). Ott, ahol volt több csoport is (fasciocutan lebenyes kísérletünk) a csoportok közötti összehasonlításhoz t-próbát vagy Mann–Whitney-próbát használtunk, a csoportokon belüli összehasonlításhoz egyirányú és ismételt mérések ANOVA-t vagy Kruskal–Wallis-tesztet használtunk (az adatok eloszlásának normalitási tesztjének eredményétől függően). Emellett $<0,05$ alatti p-értéket tekintettünk statisztikailag szignifikánsnak.

5. EREDMÉNYEK

5.1 Patkány fasciocutan epigastrialis lebenyekkel folytatott kísérleti eredményeink

5.1.1 Általános megfigyeléseink

A postoperatív megfigyelési időszak alatt nem tapasztaltunk jelentősebb thrombotikus szövődményeket vagy kiterjedt lebenynecrosist.

Az első postoperatív napra a lebenyek területe szignifikánsan csökkent minden csoportban, mely csökkenés a kísérleti időszak alatt tovább folytatódott. Az egyes csoportok között nem volt szignifikáns különbség, de a 7. postoperatív napon a legnagyobb csökkenés, összehasonlítva a saját első napi értékükkel, az ischaemiás oldalon volt (kontroll: 24,27%; PACAP: 32,6%; BGP-15: 30,6%), míg a kontroll oldalon kisebb zsugorodás volt megfigyelhető (kontroll: 25,2%; PACAP: 15%; BGP-15: 13,4%). Emellett habár a kontroll csoportban mindkét oldali lebenyen hasonló méretbeli csökkenés volt, a hatóanyaggal kezelt csoportokban a nem ischaemiás oldalon kisebb csökkenés volt megfigyelhető, illetve a PACAP csoportban a műtét utáni 7. napon még méretbeli növekedés is látható volt (I. táblázat).

I. táblázat: A kontroll oldali és az ischaemiás oldali lebenyek területének csökkenése a műtét utáni 1., 3. és 7. napon a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban.

Változó	Csoport	1. p.o. nap	3. p.o. nap	7. p.o. nap
Lebeny területe [cm ²] kontroll oldalon	Kontroll	3,89 ± 0,17 *	3,30 ± 0,21 *	2,91 ± 0,31 *
	PACAP	4,00 ± 0,10 *	3,22 ± 0,50 *	3,40 ± 0,44 *
	BGP-15	3,72 ± 0,32 *	3,29 ± 0,20 *	3,22 ± 0,12 *
Lebeny területe [cm ²] az ischaemiás oldalon	Kontroll	3,75 ± 0,30 *#	3,18 ± 0,07 *#	2,84 ± 0,31 *
	PACAP	3,90 ± 0,11 *#	3,15 ± 0,14 *#	2,63 ± 0,36 *
	BGP-15	3,69 ± 0,18 *	3,26 ± 0,13 *	2,56 ± 0,47 *

Átlag ± SD; * $p < 0,05$ az alaphoz képest (standardizált lebeny területe: 5,48 cm²); # a 7. p.o. naphoz képest.

5.1.2 Bőrhőmérséklet

A lebenyek bőrfelületének hőmérséklete mindkét oldalon szignifikánsan csökkent az ischaemiás időszakban, mivel magával a műtégi beavatkozással az összes lebenyt elmozdítottuk

eredeti anatómiai helyzetéből. Az ischaemiás lebenyek hőmérséklete kissé alacsonyabb volt, mint a nem ischaemiás (kontroll oldali) lebenyeké. A lebenyek újbóli positionálása és visszavarrása után a hőmérsékletük normalizálódott. A postoperatív napokban nem volt szignifikáns különbség a nem ischaemiás és az ischaemiás lebenyek között, azonban az ischaemiás lebenyek értékei kissé alacsonyabbak voltak (II.táblázat).

II. táblázat: A bőr hőmérsékletének [C°] változása az ép bőrreszeken, valamint a kontroll oldali és az ischaemiás oldali lebenyekben a lebeny preparálása előtt, az ischaemiás időszak alatt, a műtét után (visszavarrt lebenyek) és a műtét utáni 1., 3. és 7. napon a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban.

Régió	Csoport	Műtét előtt	Ischaemia alatt	Műtét után	1. p.o. nap	3. p.o. nap	7. p.o. nap
Ép bőr	Kontroll	32,61 ± 3,03	31,70 ± 2,18	32,49 ± 2,09	29,58 ± 1,63	32,41 ± 3,05	32,70 ± 1,13
	PACAP	32,44 ± 1,68	32,43 ± 1,79	32,81 ± 1,88	31,64 ± 0,95	31,67 ± 0,58	31,38 ± 1,44
	BGP-15	31,36 ± 1,05	32,00 ± 0,63	31,03 ± 1,28	33,74 ± 3,39	33,49 ± 2,90	33,62 ± 2,43
Kontroll oldali lebeny	Kontroll	32,34 ± 2,89	30,14 ± 3,06 *	31,84 ± 2,57	29,25 ± 1,98	32,13 ± 3,36	32,30 ± 1,05
	PACAP	31,51 ± 1,22	29,26 ± 0,69 *	30,87 ± 1,54	30,14 ± 1,33	30,87 ± 1,13	32,22 ± 2,76
	BGP-15	31,43 ± 0,56	29,81 ± 1,27 *	30,41 ± 1,34	33,29 ± 3,47	32,31 ± 3,47	32,06 ± 1,67
Ischaemiás oldali lebeny	Kontroll	32,35 ± 2,81	30,16 ± 3,28 *	31,78 ± 2,57	29,38 ± 1,92	32,31 ± 3,20	31,71 ± 0,59
	PACAP	31,39 ± 1,05	28,96 ± 0,84 *	30,30 ± 1,30	30,07 ± 1,28	30,43 ± 1,39	31,23 ± 1,46
	BGP-15	31,23 ± 0,58	29,71 ± 1,73 *	30,16 ± 1,40	33,06 ± 3,67	32,25 ± 3,43	31,99 ± 1,56

Átlag ± SD; * $p < 0,05$ a műtét előtt és az ép bőrrel összehasonlítva.

5.1.3 Haematologiai paraméterek

A fehérvérsejtek száma főként a kontroll csoportban csökkent az első postoperatív napon. A 7. postoperatív napra az értékek a kiindulási adatokhoz közeli szintre emelkedtek. A BGP-15 csoportban a 3. postoperatív napon alacsonyabb fehérvérsejt értékeket találtunk a többi csoporthoz képest. A vörösvérsejtek száma a megfigyelési időszak alatt enyhe csökkenést mutatott, az első postoperatív napon a PACAP és a BGP-15 csoportokban megfigyelhető hemokoncentráció ellenére. A hematokrit értékek is ennek megfelelően változtak. A

vérlemezkeszám folyamatosan emelkedett, a legmagasabb értékeket a BGP-15 csoportban figyeltük meg (III. táblázat).

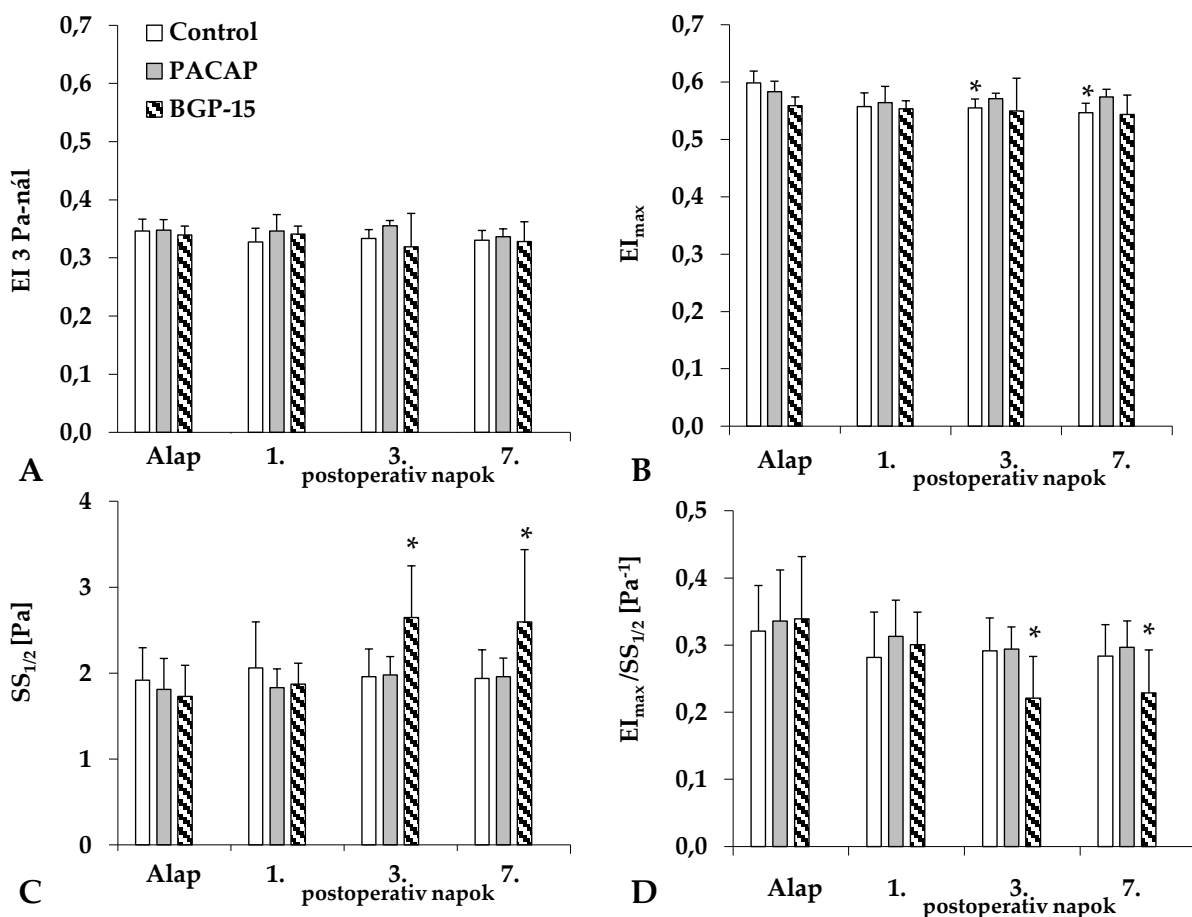
III. táblázat: A fehérvérsejtek, a vörösvérsejtek, a hematokrit és a vérlemezkek számának változása a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban a műtét előtt (alapérték) és a műtét utáni 1., 3. és 7. napon.

Változó	Csoport	Alap	1. műtét utáni nap	3. műtét utáni nap	7. p.o. nap
Fehérvérsejtszám [10^9 /L]	Kontroll	8,59 ± 1,94	5,62 ± 3,11	8,01 ± 1,21	8,98 ± 3,71
	PACAP	9,84 ± 2,54	8,65 ± 3,13	8,51 ± 1,79	9,26 ± 1,74
	BGP-15	8,00 ± 1,91	7,9 ± 2,47	6,56 ± 0,97	8,96 ± 1,63
Vörösvérsejtszám [10^{12} /L]	Kontroll	7,23 ± 0,62	7,28 ± 0,58	7,15 ± 0,24	6,68 ± 0,71
	PACAP	7,36 ± 0,39	7,44 ± 0,94	7 ± 0,47	7,16 ± 0,39
	BGP-15	7,11 ± 10,68	7,41 ± 0,27	7,07 ± 0,31	7,08 ± 0,66
Haematocrit [%]	Kontroll	41,71 ± 3,51	41,41 ± 3,13	40,44 ± 1,65	37,05 ± 3,83
	PACAP	42,36 ± 2,02	42,49 ± 1,25	39,99 ± 2,65	40,74 ± 2,11
	BGP-15	40,75 ± 3,84	41,63 ± 1,83	39,75 ± 2,24	39,73 ± 3,23
Vérlemezkeszám [10^9 /L]	Kontroll	689,93 ± 83,54	654,56 ± 65,52	730,43 ± 83,61	735,6 ± 107,25
	PACAP	780,22 ± 57,17	728,67 ± 112,33	640,75 ± 91,77	816,07 ± 99,17
	BGP-15	757,5 ± 94,59	672,2 ± 48,11	660,1 ± 105,81	922,3 ± 80,25 *

Átlag ± SD; * $p < 0,05$ az alaphoz képest.

5.1.4 Micro-rheologiai paraméterek

A vörösvérsejtek deformabilitásának romlásával csökken az elongációs index (EI). Minden csoportban enyhe csökkenést figyeltünk meg az EI értékekben 3 Pa nyírófeszültség mellett és a maximális elongációs index értékekben (EI_{max}) a postoperatív napok során. A $EI_{max}/SS_{1/2}$ csak a BGP-15 csoportban emelkedett szignifikánsan (27. ábra).



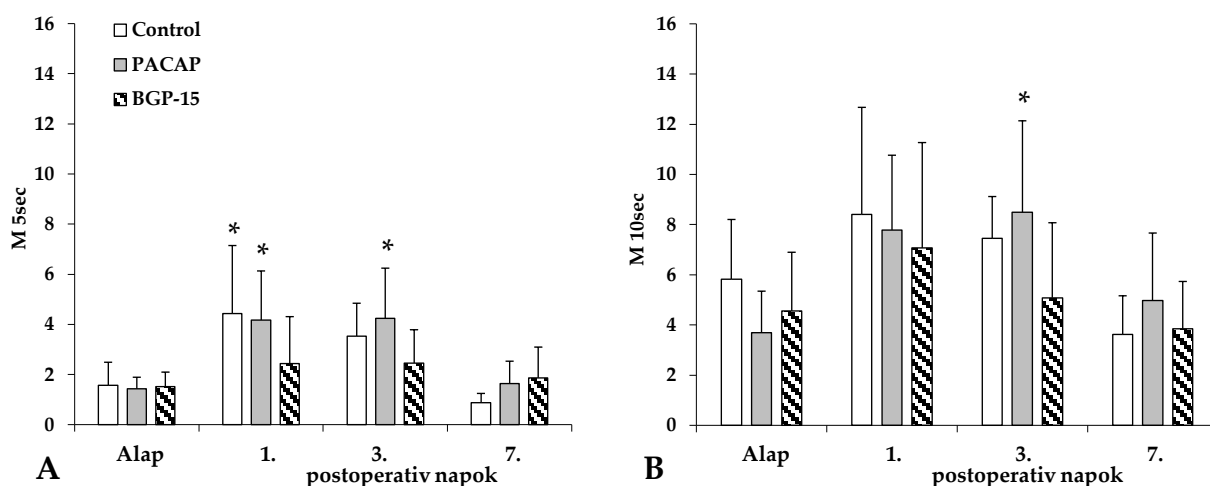
27. ábra

A vörösvérsejtek deformabilitási paramétereinek változása

a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban a műtét előtt (alapérték), valamint a műtét utáni 1., 3. és 7. napon: megnyúlási index 3 Pa-nál (EI 3 Pa-nál, A), maximális megnyúlási index (EI_{max}, B), nyírófeszültség fél EI_{max} (SS_{1/2}, C) és arányuk (D).

Átlagok ± S.D.; * $p < 0,05$ vs. alap.

Az aggregációs index értékek (M 5 s, M 10 s) szignifikánsan növekedtek az 1. and 3. postoperativ napokra a kontroll és a PACAP csoportokban, míg a BGP-15 csoportnál megfigyelhető emelkedés sokkal kisebb volt és nem volt szignifikáns (28. ábra).



28. ábra

A vörösvérsejt aggregációs index értékei

M 5 s (A) és M 10 s (B) index értékek a kontroll, PACAP és BGP-15 csoportokban a műtét előtt (alap) és a műtét utáni 1., 3. és 7. napon.

Átlagok $\pm$ S.D.; * $p < 0,05$ az alaphoz képest.

5.1.5 Szakítószilárdság

A lebenyek (vagyis igazából a varratvonal) szakítószilárdsága több mint 70%-kal csökkent az intakt bőrhöz képest (intakt bőrcsík: $17,01 \pm 3,65$ N; varrás után szakított bőrcsík: $10,68 \pm 2,31$ N). Az oldalsó, vagyis horizontális irányú bőrcsíkok varratvonalai gyengébbek voltak, mint a vertikális irányúaké (alsó és felső). A kontrollhoz képest a PACAP-csoportban szignifikáns ($p=0,0025$) csökkenés volt megfigyelhető az ischaemiás oldal szakítószilárdságában. A görbék meredeksége szignifikánsan nőtt a PACAP-pal kezelt kontroll lebenyben az oldalsó bőrcsík esetében ($p=0,0116$ vs. BGP-15), míg az ischaemiás lebenyből vett oldalsó bőrcsíknál szignifikánsan csökkent ($p=0,0077$ vs. kontroll; $p = 0,0241$ vs. BGP-15). A BGP-15 csoportban csak az alsó vertikális bőrrészek szakításánál mért görbék meredeksége mutatott szignifikáns ($p=0,0171$) csökkenést a kontrollhoz képest (IV. táblázat).

IV. táblázat: A szakítószilárdság és az erő-nyúlás görbék meredekségének változásai a kontroll oldali és az ischaemiás oldali lebenyek felső-, oldaló és alsó lebenyrészeiben a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban.

Változó	Lebeny	Lebeny régió	Csoport		
			Kontroll	PACAP	BGP-15
Szakítószilárdság [N]	Kontroll oldali lebeny	Felső	2,51 ± 0,82	2,09 ± 0,53	2,72 ± 1,09
		Oldalsó	1,98 ± 0,73	2,06 ± 0,47	2,14 ± 0,62
		Alsó	3,14 ± 1,09	2,00 ± 0,34	2,41 ± 0,82
	Ischaemiás oldali lebeny	Felső	3,19 ± 0,88	2,72 ± 1,28	3,02 ± 0,83
		Oldalsó	1,98 ± 0,34	1,04 ± 0,17 *	1,95 ± 0,69
		Alsó	2,39 ± 0,72	2,61 ± 0,75	2,83 ± 1,04
A görbe meredeksége	Kontroll oldali lebeny	Felső	0,018 ± 0,009	0,016 ± 0,003	0,013 ± 0,003
		Oldalsó	0,015 ± 0,008	0,023 ± 0,002 #	0,015 ± 0,004
		Alsó	0,021 ± 0,007	0,015 ± 0,002	0,009 ± 0,003 *
	Ischaemiás oldali lebeny	Felső	0,024 ± 0,004	0,0153 ± 0,004 *	0,014 ± 0,008
		Oldalsó	0,03 ± 0,004	0,016 ± 0,005 *#	0,043 ± 0,008
		Alsó	0,014 ± 0,005	0,02 ± 0,005	0,02 ± 0,011

Átlag ± SD; * $p < 0.05$ vs. kontroll csoport; # vs. BGP-15 csoport

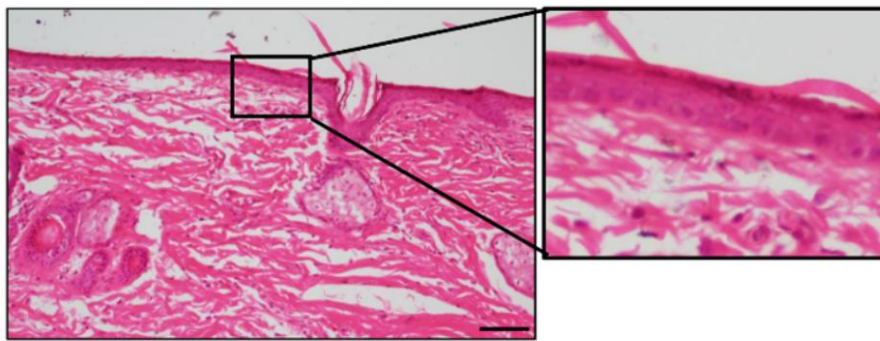
5.1.6 Szöveti vizsgálatok

A H&E festés (29. ábra) steril akut gyulladásos folyamatokat mutatott, domináns limfocita infiltrációval. A varratok körül mag nélküli necrotikus habsejtek voltak láthatók (nyilakkal jelölve), főként az ischaemiás lebenyekben.

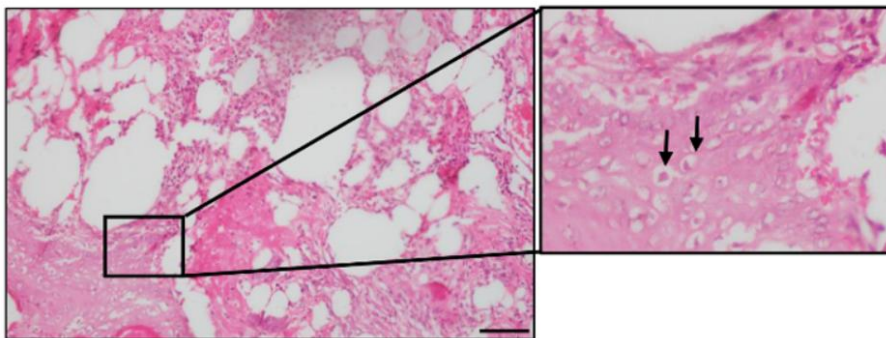
A granulációs szövetben fibrociták és fibroblasztok voltak láthatók, a fiziológiai sebgyógyulásnak megfelelően. Az ischaemiás lebenyekben szöveti degradációt észleltünk. A PACAP csoportban emelkedett mennyiségű makrofág volt megfigyelhető, nagyszámú fibroblaszt mellett (nyilakkal jelölve). Szöveti degradációt nem volt kimutatható, de folyamatban lévő erőteljes szöveti átalakulást láttunk.

A BGP-15 csoportban makrofágok és fibroblasztok (nyilakkal jelölve) voltak megfigyelhetők az ischaemiás lebenyekben. Bár a szöveti átalakulás nem volt erőteljesen kimutatható, szöveti degradáció nem volt látható ezekben a csoportokban.

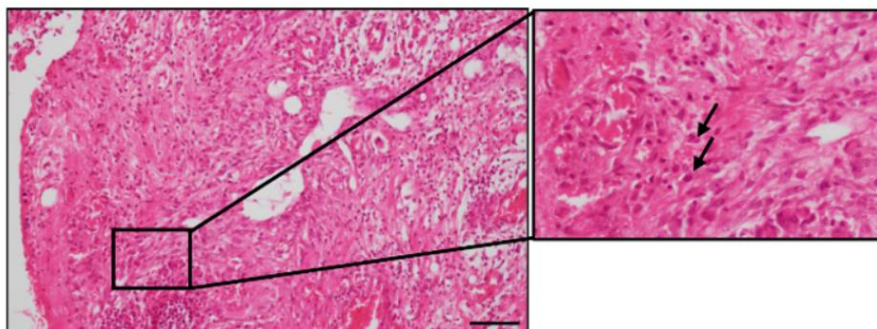
Ép bőr



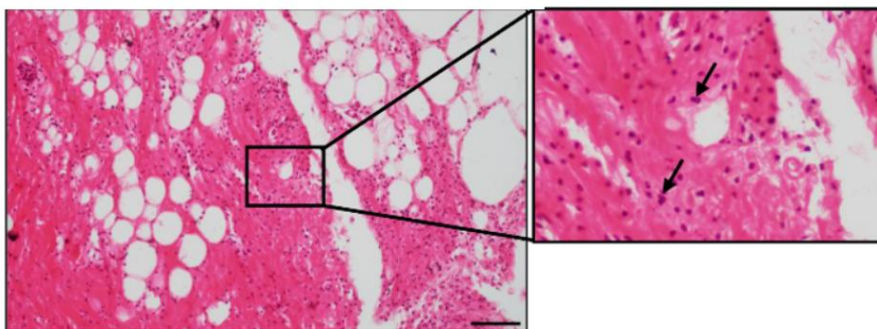
Kontroll csoport ischaemiás lebeny



PACAP csoport ischaemiás lebeny



BGP-15 csoport ischaemiás lebeny



29. ábra

Reprezentatív H&E-festésű szövettani metszetek az ép bőrről és az ischaemiás lebenyekről a kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportokban. A mintavétel a műtét utáni 7. napon történt.

A nyilak a necrotikus sejtekre, fibroblasztokra és makrofágokra mutatnak.

Eredeti nagyítás: 20×. Méretarány : 100 µm.

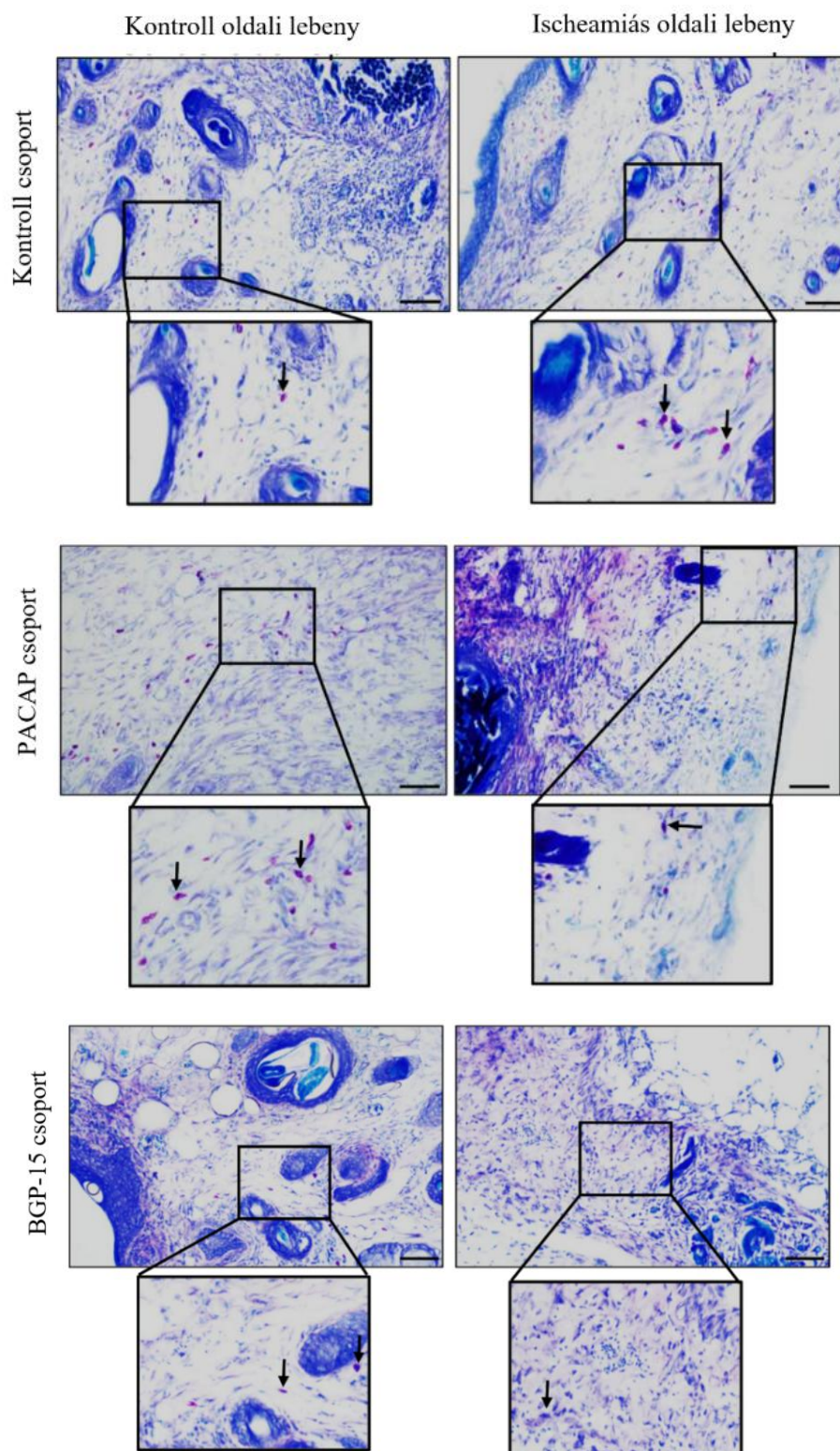
A epidermis vastagsága a varratok feletti granulációs szövetben jelentősen megnőtt a lebenyekben, különösen az ischaemiásokban. A növekedés kisebb volt a PACAP csoportban és nagyobb a BGP-15 csoportban (V.táblázat).

V. táblázat. Az epidermis vastagságának és a masztociták számának változása az ép bőrreszen, valamint a kontroll, PACAP és BGP-15 csoportok kontroll oldali és ischaemiás oldali lebenyein.

Régió/Flap	Csoport	Bőr vastagsága [μm]	Masztociták száma $0,5 \text{ mm}^2$
Sértetlen bőr	Kontroll	$182,00 \pm 79,57$	$12,4 \pm 4,9$
	PACAP	$157,86 \pm 59,38$	$11,0 \pm 4,6$
	BGP-15	$155,81 \pm 60,65$	$9,6 \pm 6,5$
Kontroll oldali lebeny	Kontroll	$397,04 \pm 225,41$	$9,8 \pm 5,1$
	PACAP	$166,36 \pm 57,74$	$7,75 \pm 3,2 *$
	BGP-15	$285,21 \pm 132,63$	$13,6 \pm 1,2 *$
Ischaemiás oldali lebeny	Kontroll	$352,39 \pm 232,32$	$2,2 \pm 1,3 *$
	PACAP	$271,73 \pm 121,03$	$1,75 \pm 0,9 *#$
	BGP-15	$418,48 \pm 228,58$	$1,6 \pm 1,26 *#$

Átlag $\pm$ SD; $*p < 0,05$ az ép bőrhez képest; # a kontroll oldalhoz képest.

A DMMB festett metszetekben a PACAP csoport ischaemiás lebenyeiben a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan csökkent a hízósejtek száma. Másrészt a PACAP a kontroll oldali lebenycsoportban is csökkentette a hízósejtek számát. A BGP-15 csoport ischaemiás lebenyeiben szintén szignifikánsan kevesebb hízósejtet láttunk. Ezzel szemben a BGP-15 csoport kontroll oldali lebenyénél több hízósejt volt, mint a kontroll csoportban (30. ábra).



30. ábra

A kontroll, PACAP és BGP-15 csoportok kontroll oldali és ischaemiás oldali lebenyeinek reprezentatív dimetil-metilén késsel festett szövettani metszetei.

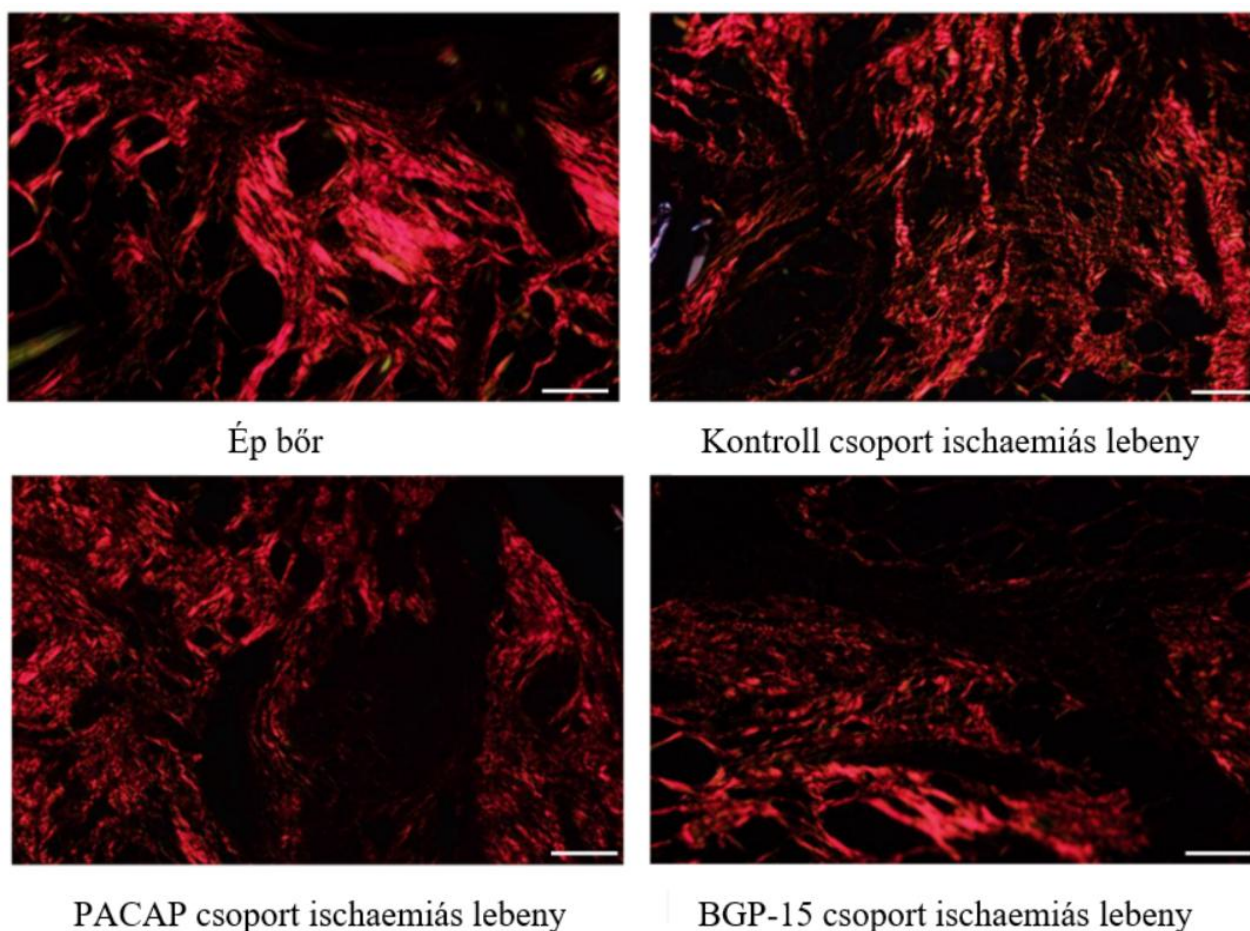
Mintavétel a műtét utáni 7. napon történt.

Eredeti nagyítás: 20×. Méretarány: 100 μm.

A kiemelésekben a nyilakkal jelölt magenta színű hízósejtek láthatóak.

A pikrosziriusz festés a vastag kollagénszálakat specifikusság nélkül vörös színnel, míg a vékony kollagénszálakat zöld színnel jeleníti meg polarizált fényben (a fény síkjának $\lambda/4$ -es elforgatásával). Az intakt bőrben a dermis sűrű kollagénszálak hálózátát mutatta, amely megfelel a fiziológiás, sűrű, szabálytalan kötőszövetnek. Az ischaemiás lebenycsoportban diffúzabb és vékonyabb szálhálózat volt megfigyelhető, ami a sűrű kötőszövet lazulásának felel meg a sebgyógyulás során.

A PACAP és BGP-15 kezelések hatására a kollagénszálak diffúz orientációját újraalkották és a dermisnek vastagabb, sűrű kötőszövet-szerű megjelenést adtak. A BGP-15 csoportban vékonyabb, zöld színű szálak is megfigyelhetők voltak (31. ábra, VI. táblázat).



31. ábra

Reprezentatív pikrosziriusz-festett szövettani metszetek (polarizált fény, forgatás: $\lambda/4$) az ép bőrről és az ischaemiás lebenyekről a kontroll, PACAP és BGP-15 csoportokban.
Mintavétel: a műtét utáni 7. nap. Eredeti nagyítás: 20x. Méretarány: 100 μ m.

VI. táblázat: A kontroll, PACAP és BGP-15 csoportok ép bőrrészeinek és ischaemiás lebenyeinek pikroszirusz-festéssel színezett szövettani metszeteinek fényintenzitásának numerikus elemzése.

Minta	Vörös fényintenzitás [PN]	Zöld fényintenzitás [PN]
Ép bőr	15 830,95 ± 5516,57	1542,27 ± 581,07
Kontrollcsoport, ischaemiás lebenyek	8979,15 ± 2468,27 *	4058,43 ± 1166,42 *
PACAP csoport, ischaemiás lebenyek	15 946,46 ± 2195,89	2735,57 ± 1492,07
BGP-15 csoport, ischaemiás lebenyek	12 867,00 ± 7271,77	3222,67 ± 1494,55

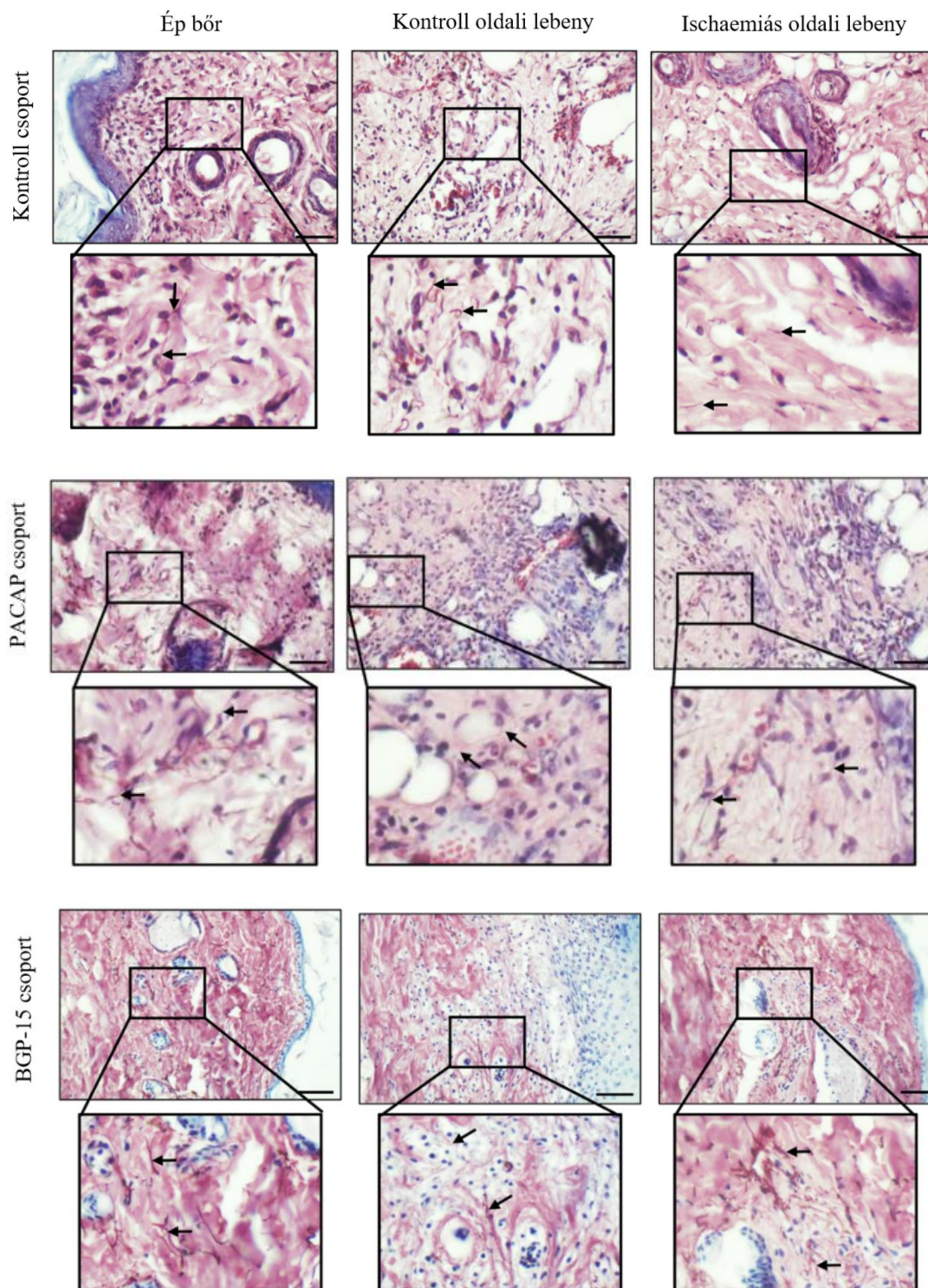
Átlag ± SD; * $p < 0,05$ az ép bőrhez képest.

Az orcein festés barna színnel jelzi az elasztikus rostokat. Normál intakt bőrben, a dermisben barna színű rostok figyelhetők meg a fiziológiásan sűrű, szabálytalan kötőszövetben. Ezek a rostok különböző hosszúságúak voltak és átfedésben voltak a kollagén rostokkal, ezáltal biztosítva a bőr rugalmasságát.

A kontroll oldalon ezeknek az orcein festéssel jelzett rostoknak a mennyisége kevesebb volt a PACAP-pal kezelt csoportban.

A PACAP-os csoportban a fejlődő hegyszövetben jelentősen több vékonyabb rugalmas rost volt megfigyelhető, mint a kontroll ischaemiás oldali lebeny csoportban.

A BGP-15 kezelés után az orcein-festett rostok száma a kontroll lebeny oldalán hasonló volt a kontroll csoportéhoz, míg az ischaemiás oldalon emelkedettebb volt, és itt vastagabb rugalmas rostok voltak megfigyelhetők (32. ábra).



32. ábra

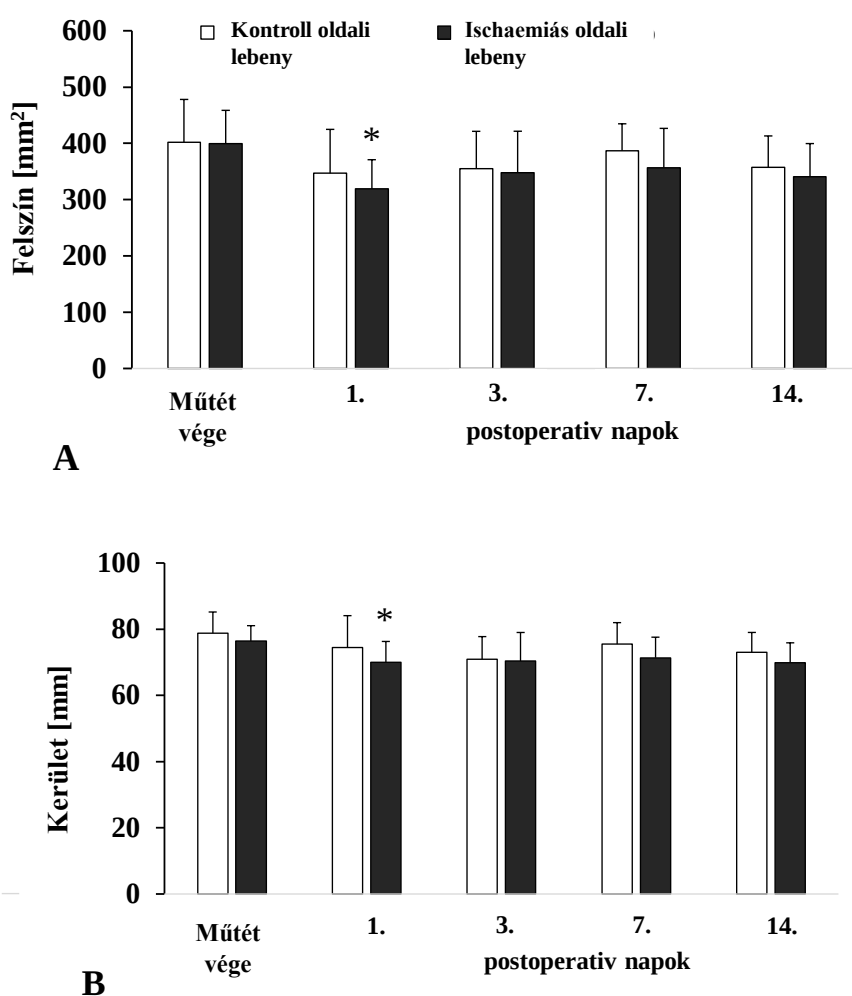
A kontroll, a PACAP és a BGP-15 csoportok kontroll oldali és ischaemiás oldali lebenyeinek reprezentatív, orceinnel festett szövettani fényképei.

Mintavétel: a műtét utáni 7. nap. Eredeti nagyítás: 40x. Méretarány: 50 µm. A barna szín az elasztikus rostokat jelzi.

5.2 Patkány adipocutan epigastrialis lebenyekkel folytatott kísérleti eredményeink

5.2.1 Általános megfigyeléseink

A megfigyelési időszak alatt nem észleltünk thrombotikus szövődményt vagy látható lebenynecrosist. A lebenyek mérete, mind területük, mind kerületük csökkent, az ischaemiás oldali lebenyek nagyobb mértékben mutattak zsugorodást (postoperatív 1. napon a terület: $p=0,007$; kerület: $p=0,024$) (33. ábra).



33. ábra

A kontroll oldali és az ischaemiás oldali (A) lebenyek felületének (mm²) és (B) kerületének (mm) változásai a megfigyelési időszak alatt. Átlagok $\pm$ szórás. * $p < 0,05$ az alaphoz képest.

5.2.2 Bőrhőmérséklet

A bőrhőmérséklet az ischaemiás periódus alatt csökkent, mivel a kipreparált lebenyek kikerültek fiziológiás helyzetükből, habár a lebenyárkokba visszahelyeztük őket a 120 perc alatt.

Az eredeti helyzetükbe történő visszavarrás után az értékek normalizálódtak, és később sem mutattak jelentős változást (VII.táblázat).

VII. táblázat: A bőr felületi hőmérsékletének változása (°C) az ép epigasztriális bőrfelületen, valamint a kontroll oldalon és az ischaemiás oldalon lévő lebenyekben az ischaemia előtt, alatt és után, valamint a hetedik és 14. postoperativ napon *.

Régió	Ischaemia előtt (alap)	Ischaemia alatt	Ischaemia után	Postoperativ 7. nap	Postoperativ 14. nap
Ép bőr	36,00 ± 0,64	35,61 ± 1,17	36,38 ± 0,63	37,10 ± 0,95	37,36 ± 0,35
Kontroll oldali lebeny	35,75 ± 0,63	34,13 ± 1,34	35,70 ± 0,59	36,11 ± 1,39	36,62 ± 0,33
Ischaemiás oldali lebeny	35,73 ± 0,56	33,92 ± 0,9	35,63 ± 0,85	36,40 ± 1,23	36,70 ± 0,23

*Átlag ± szórás.

5.2.3 Haematologiai paraméterek

Fehérvérsejtek száma az első postoperativ napra kissé csökkent ($p=0,022$ vs. alapérték), majd a megfigyelési időszak alatt emelkedésnek indult (14. nap: $p=0,017$ vs. alapérték).

A vörösvérsejtszám, a hemoglobin és a hematokrit értékek a műtét utáni első héten még csökkentek (7. nap: $p=0,003$, $p=0,007$ és $p=0,003$ az alapértékhez képest) majd a 14. napra normalizálódtak.

Az MCV, MCH és MCHC értékek nem mutattak jelentős változást. A vérlemezkeszám a 3. ($p=0,027$ vs. alapérték), valamint a 14. postoperativ napra emelkedett ($p<0,001$ az alapérték) (VIII. táblázat).

VIII. táblázat: A fehérvérsejtek számának (WBC), a vörösvérsejtek számának (RBC), a hemoglobin koncentrációjának (Hgb), a hematokritnak (Hct), az átlagos vörösvérsejt-térfogatnak (MCV), az átlagos vörösvérsejt-hemoglobinnak (MCH), az átlagos vörösvérsejt-hemoglobin koncentrációnak (MCHC) és a vérlemezkek számának (Plt)* változásai

Változó	Alap	Postoperatív 1. nap	Postoperatív 3. nap	Postoperatív 7. nap	Postoperatív 14. nap
WBC [$\times 10^9/L$]	10,61 $\pm$ 3,76	7,32 $\pm$ 2,84 **	10,78 $\pm$ 4,04	14,18 $\pm$ 7,43	13,62 $\pm$ 2,32 **
RBC [$\times 10^{12} /L$]	8,10 $\pm$ 0,61	7,84 $\pm$ 0,67	7,76 $\pm$ 0,35	6,85 a $\pm$ 1,16 **	7,55 $\pm$ 0,77
Hgb [g/dL]	15,07 $\pm$ 0,64	14,81 $\pm$ 1,29	14,61 $\pm$ 0,82	13,01 $\pm$ 2,39	14,23 $\pm$ 0,89
Hct [%]	46,61 $\pm$ 3,51	45,1 $\pm$ 4,19	44,23 $\pm$ 2,59	38,95 $\pm$ 7,49 **	44,55 $\pm$ 4,71
MCV [fL]	57,24 $\pm$ 2,73	57,51 $\pm$ 2,31	56,98 $\pm$ 2,26	56,57 $\pm$ 2,4	57,43 $\pm$ 1,95
MCH [pg]	18,19 $\pm$ 1,94	18,92 $\pm$ 0,95	18,83 $\pm$ 0,81	18,95 $\pm$ 0,67	18,9 $\pm$ 0,97
MCHC g/dL]	32,41 $\pm$ 1,19	32,85 $\pm$ 0,95	33,05 $\pm$ 0,65	33,48 $\pm$ 0,76	32,92 $\pm$ 0,72
Plt [$\times 10^9 /L$]	685 $\pm$ 142,45	728,33 $\pm$ 95,36	829,08 $\pm$ 154,47 **	589,91 $\pm$ 301,39	952 $\pm$ 164,96 **

*Átlag $\pm$ szórás; ** $p < 0,05$ alaphoz.

5.2.4 Micro-rheologiai paraméterek

A vörösvérsejt deformabilitási paraméterek között a 7. postoperatív napra lecsökkent a 3 Pa-nál mért elongációs index ($p=0,003$ az alapértékhez képest) majd normalizálódott a megfigyelési időszak végére.

Az $EI_{\max}$ értékek mérsékelten csökkentek, főként az 1. és 3. postoperatív napokra majd a 14. napra normalizálódtak. Az $SS_{1/2}$ értékek nem változtak szignifikánsan, azonban a 7. és 14. napra kissé emelkedtek (IX.táblázat).

IX. táblázat: Az elongációs index (EI) változásai 3 Pa-nál, maximális EI ($EI_{\max}$), nyírófeszültség fél $EI_{\max}$ ($SS_{1/2}$) értékénél, azok aránya és az aggregációs index (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) értékei.

Változó	Alap	Postoperatív 1. nap	Postoperatív 3. nap	Postoperatív 7. nap	Postoperatív 14. nap
EI 3 Pa-nál	$0,340 \pm 0,032$	$0,342 \pm 0,022$	$0,339 \pm 0,018$	$0,317 \pm 0,025$ **	$0,330 \pm 0,011$
$EI_{\max}$	$0,565 \pm 0,018$	$0,546 \pm 0,039$	$0,534 \pm 0,036$	$0,553 \pm 0,024$	$0,567 \pm 0,017$
$SS_{1/2}$ [Pa]	$1,99 \pm 0,42$	$1,77 \pm 0,36$	$1,96 \pm 0,35$	$2,16 \pm 0,32$	$2,13 \pm 0,34$
$EI_{\max} / SS_{1/2}$ [Pa ⁻¹]	$0,297 \pm 0,068$	$0,320 \pm 0,074$	$0,280 \pm 0,052$	$0,261 \pm 0,038$	$0,272 \pm 0,045$
M 5 s	$2,23 \pm 1,31$	$5,36 \pm 2,22$ **	$2,54 \pm 0,86$	$1,69 \pm 0,77$	$2,70 \pm 1,67$
M1 5 s	$2,60 \pm 1,31$	$4,94 \pm 2,45$ **	$3,01 \pm 1,26$	$1,75 \pm 0,73$ **	$2,24 \pm 1,21$
M 10 s	$5,50 \pm 3,78$	$8,55 \pm 4,50$ **	$5,18 \pm 2,78$	$3,68 \pm 1,36$ **	$6,75 \pm 3,53$
M1 10 s	$5,55 \pm 3,82$	$8,78 \pm 4,55$ **	$6,33 \pm 4,16$	$4,28 \pm 0,86$	$8,74 \pm 5,07$ **

*Átlag $\pm$ SD; ** $p < 0,05$ vs. alap; p.o

Jelentős változások voltak megfigyelhetőek a vörösvérsejt-aggregációs index értékeiben. Az 1. postoperatív napra mind a négy index érték emelkedett (M 5 s: $p < 0,001$, M1 5 s: $p < 0,001$, M 10 s: $p = 0,005$, M1 10 s: $p = 0,014$ vs. alapérték) és emelkedett szinten maradt, majd a megfigyelési időszak végére ismét növekedést mutatott (M1 10 s: $p = 0,022$ vs. alap) (IX.táblázat)..

5.2.5 Szakítószilárdság

Az intakt bőrhez képest a szakítószilárdsági értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a lebenyek varratvonalában minden lebeny részben és irányban ($p < 0,001$).

Vízszintes húzási irányban a szakítószilárdsági értékek magasabbak voltak, mint függőleges irányban (intakt bőr szakítószilárdsága: $p = 0,008$, görbe meredekség: $p = 0,005$) (X. táblázat).

X. táblázat: A 14. napon a lebenyek felső, oldalsó és alsó részéből, valamint az ép bőrfelületről (vett szövetminták szakítószilárdsági értékei és az erő-nyúlás görbék meredeksége *.

Szövetminta	Régió/irány	Szakítószilárdság [N]	Görbe meredekség
Sértetlen bőr	Függőleges	13,73 ± 5,48	0,062 ± 0,022
	Vízszintes	31,57 ± 11,49 #	0,167 ± 0,062 #
Kontroll oldali lebeny	Felső (függőleges)	3,39 ± 2,07 **	0,024 ± 0,016 **
	Oldalsó (vízszintes)	2,77 ± 1,46 **	0,030 ± 0,016 **
	Alsó (függőleges)	2,12 ± 0,86 **	0,018 ± 0,004 **
Ischaemiás oldali lebeny	Felső (függőleges)	3,09 ± 1,38 **	0,021 ± 0,016 **
	Oldalsó (vízszintes)	3,17 ± 1,53 **	0,032 ± 0,007 **
	Alsó (függőleges)	2,31 ± 0,55 **	0,025 ± 0,012 **

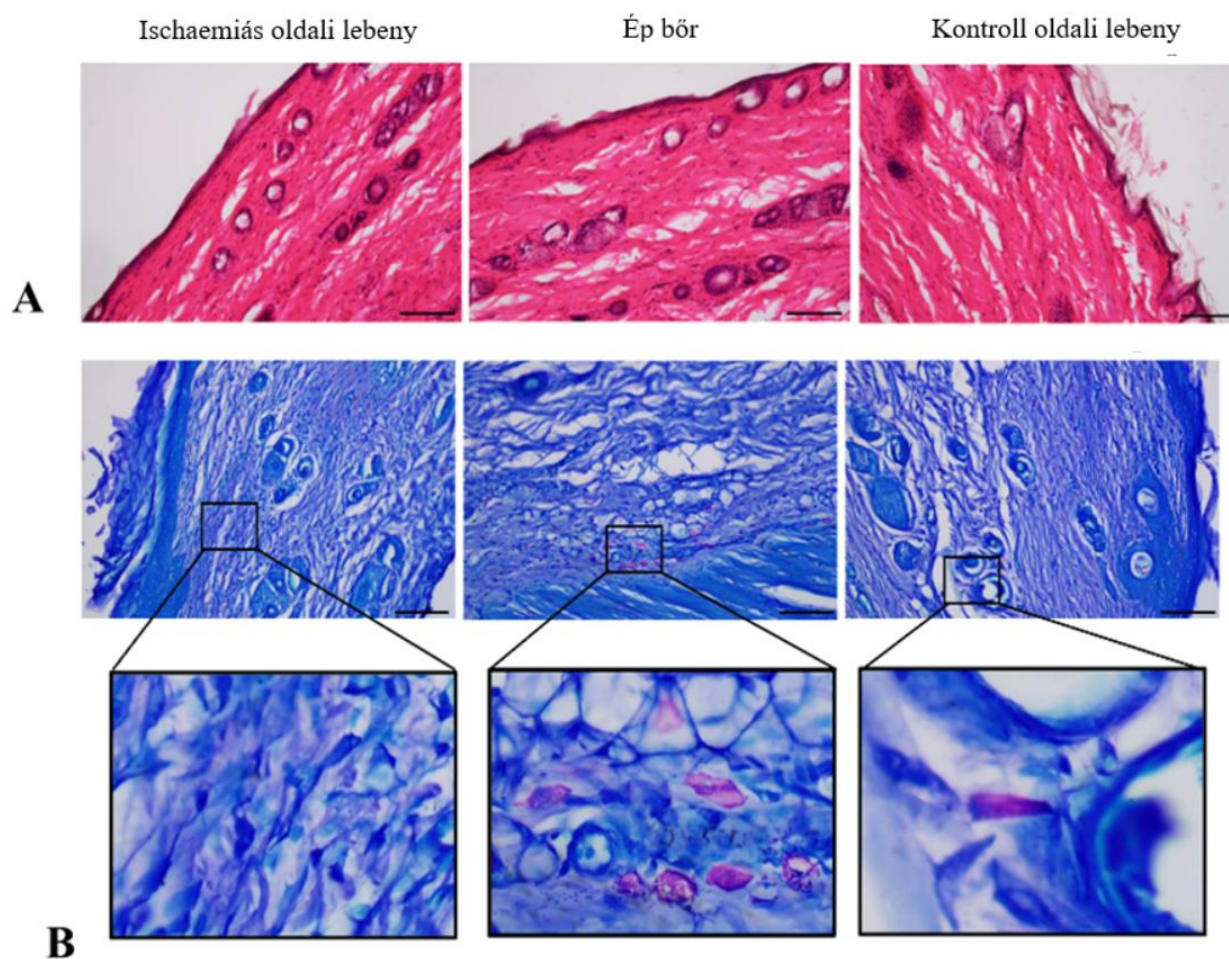
*Átlag ± SD; ** $p < 0,05$ szemben az ép bőrrel (azonos irány); # képest a függőlegeshez

5.2.6 Szövettani vizsgálatok

A H&E festéssel végzett szövettani elemzés megmutatta a gyulladásos és gyógyulási folyamatokat az ischaemiás lebenyekben. Semelyik bőrmintában nem figyeltünk meg jelentős morfológiai változásokat. Az epithelium vastagsága illetve a granulációs szövet nem mutatott patológiai rendellenességeket. A dermis integritása is változatlan maradt (34. A ábra).

Dimetil-metilén kék festéssel vizualizáltuk a hízósejteket, melyek metakromatikusan bíbor színnel ábrázolódnak ezzel a speciális technikával. A masztociták mennyisége az ischaemiás lebenyekben csökkent volt az ép bőrhöz és a kontralateralis kontroll oldalhoz viszonyítva (34.B ábra, XI. táblázat).

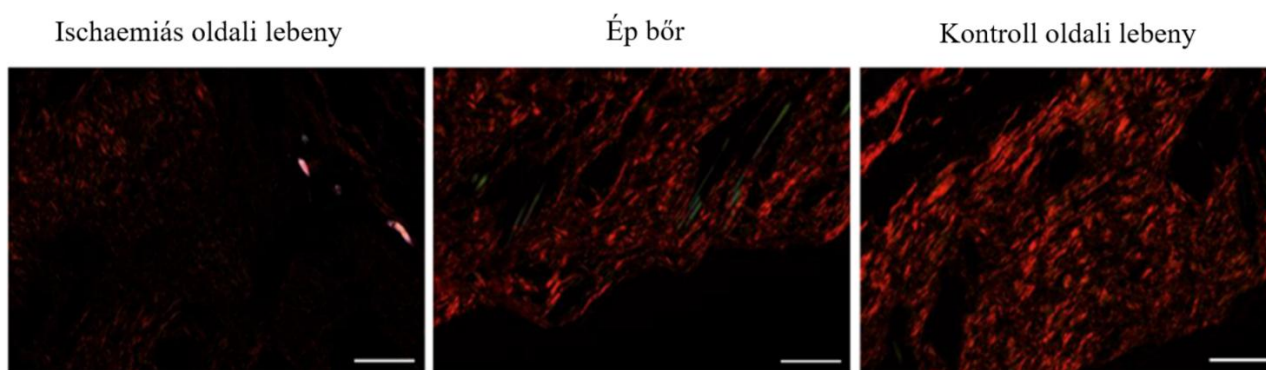
Pikrosziriuszvörös festéssel láthatóvá válnak a szöveti kollagénrostok. Amikor a polarizált fény síkját $\lambda/4$ -nyel elfordítjuk, feltárul a kollagénrostok elrendeződése: a vastagabbak fényes vörös színűek, míg a vékonyabbak zöld színűek. Elemzésünk kimutatta, hogy mindkét, vagyis a vörös (vastag rostok) és zöld (vékony rostok) fényintenzitás csökkent az ischaemiás oldalon az ép bőrhöz és a kontralaterális oldalhoz képest. A vörös fényintenzitás jelentős csökkenést mutatott ($p=0,004$) a kontralateralis oldallal összehasonlítva (35. ábra, XI.táblázat).



34. ábra

Reprezentatív szövettani metszetek (A) hematoxin-eozin és (B) dimetil-metilénkék festéssel színezett mintákból az ischaemiás oldali lebenyekről, az ép bőrről és a kontroll oldali lebenyekről.

A mintákat a műtét utáni 14. napon vettük. Eredeti nagyítás: 20×, méretarány = 100 µm.



35. ábra

Reprezentatív szövettani metszetek pikrosziriuszvörös festés után, $\lambda/4$ -gyel elforgatott polarizált fényvel megvilágítva, az ischaemiás oldali lebenyekről, az ép bőrről és a kontroll oldali lebenyekről. A mintákat a műtét utáni 14. napon vettük. Piros szín: vastag rostok; zöld szín: vékony rostok.

Eredeti nagyítás: 20×, méretarány = 100 µm.

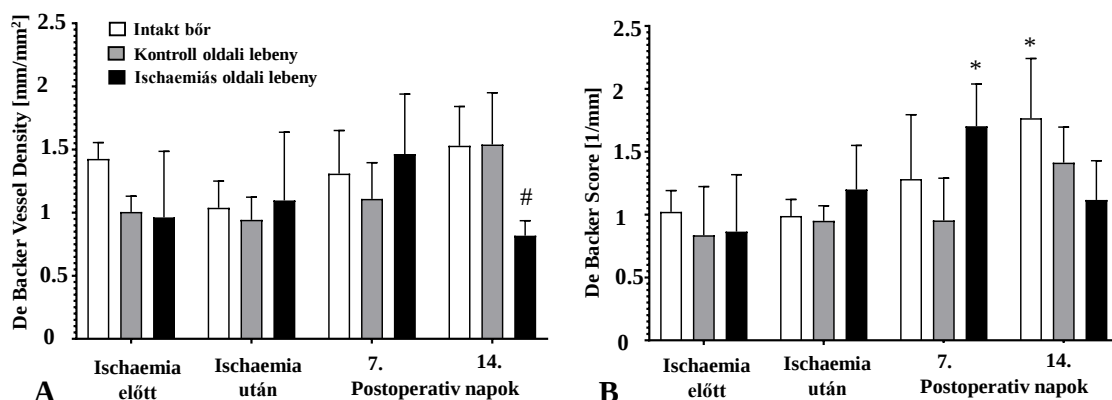
XI. táblázat: Változások a hízósejtek számában és a kollagénszálak vastagságában (piros: vastag szálak, zöld: vékony szálak) az ép bőrreszen, a kontroll és az ischaemiás oldalon *.

Szövetminta	Hízósejtek száma 0,5 mm ²	Kollagénszálak vastagsága [pixelintenzitás]
Ép bőr	23,25 ± 5,1	piros: 25,3 ± 5,4 zöld: 5,4 ± 1,3
Kontroll oldali lebeny	18 ± 4,4 **	piros: 34,7 ± 4,4 ** zöld: 7,6 ± 1,6
Ischaemiás oldali lebeny	10 ± 6 **#	piros: 17,8 ± 6,4 **# zöld: 5,8 ± 2,9

*Átlag ± szórás; ** $p < 0,05$ szemben az ép bőrrel ; # $p < 0,05$ kontroll oldali lebeny.

5.2.7 A lebenyek érnyeleinek véráramlása illetve a lebenyek microcirculatioos változásai

Az ischaemiás oldali lebenyek érnyeleinek artériás véráramlása alacsonyabb volt. (0,77±0,24 ml/min), mint a kontroll oldalon (0,90±0,26 ml/min) közvetlenül az ischaemia után. A 14. postoperatív napra további csökkenés volt megfigyelhető, főleg az ischaemiás lebenyeken (kontroll oldali lebeny: 0,64±0,25 ml/min; ischaemiás oldali lebeny: 0,60±0,17 ml/min), habár a változások nem voltak szignifikánsak. A lebeny kipreparálása után a De Backer-féle érrendszer sűrűség csökkent az ép bőrhez képest. A 7. postoperatív napon a perfusios értékek emelkedtek az ischaemiás oldali lebenyben majd a 14. napra lecsökkentek. A microcirculatioos értékek az első héten emelkedést mutattak az ischaemiás lebenyekben aztán a megfigyelési időszak végére lecsökkentek (36. ábra).



36. ábra

A microcirculatioos pontszámok változásai, (A) De Backer érdenzítás és (B) De Backer pontszám, mérve az ép hasi bőrreszen, a kontroll oldalon és az ischaemiás oldalon, ischaemia előtt és után, valamint a 7. és 14. műtét utáni napokon.

Átlagok ± szórás. * $p < 0,05$ az alaphoz képest; # az ép bőrhez és a kontroll oldali lebenyhez képest.

6. MEGBESZÉLÉS

6.1 Patkány fasciocutan epigastriális lebenyek ischaemia-reperfúziós károsodásának vizsgálata PACAP 1-38 illetve BGP-15 használata mellett

Amennyiben a lebenyeket ischaemia éri, ez a szöveti perfúzió leállítását, hypoxiát és a lebeny hőmérsékletének csökkenését eredményezi, ami végeredményként sejtkárosodáshoz vezet. Az ischaemia mértékétől és időtartamától függően a károsodás mértéke változó, de végeredményül szöveti necrosis alakulhat ki. Amikor megtörténik a reperfúzió, további károsodás lép fel, a gyulladásos folyamatok, a szabad gyök felszabadulás és a különböző metabolitok felhalmozódása miatt. Az így létrejött micro-rheológiai és mikrokeringési zavarok a szöveti perfúzió további romlását okozzák.^{9,15}

Mind a három vizsgált csoportban észleltünk különböző mértékű micro-rheológiai károsodásokat. Nagy valószínűséggel maga a műtéti beavatkozás, a lebenyek preparálása illetve az állatonként lévő kb. 16 cm-es varratok gyógyulása okozta stressz által okozott akut fázis reakciók magyarázhatják a fehérvérsejtszám változását, az átmeneti postoperatív hemokoncentrációt, a vérlemezkeszám emelkedését, valamint a vörösvérsejt-aggregációs index növekedését és a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenését.^{9,14,15} Korábbi lebenyek ischaemia-reperfúziójával kapcsolatos tanulmányaink hasonló eredményeket mutattak.^{14,15} Kísérletünkhöz két hatóanyagot választottunk egy endogén is előforduló molekulát a PACAP 1-38-at és egy ember által megalkotott farmakont a BGP-15-öt.

Tudomásunk szerint a PACAP 1-38 és a BGP-15 hatóanyagokat eddig nem vizsgálták lebenyek I/R-jának mikrorheológiai szempontból a sebgyógyulás vonatkozásában.

A hatóanyagok beviteléhez sebgéleket használtunk, mivel a Klinikumban is nagy igény van a postoperatív időszakban akár a beteg által is egyszerűen tárolható illetve használható sebgyógyulást segítő kenőcsökre/gélekre. Mi, a Gyógyszertechnológiai Tanszék által készített sebgéleket használtunk. Hidroxipropil-metilcellulóz gél alaphoz adtuk a PACAP 1-38-at és a

BGP-15-öt, mivel a HPMC egy jó biokompatibilitású, filmképző képességgel és jó biológiai lebomlási tulajdonságokkal rendelkező hidrofil hordozóanyag. Könnyen felvihető, színtelen, szagtalan tulajdonságú.

A fentebb tárgyalt eredményeink, a hematológiai változások a hatóanyagoknak a szisztémás hatásaihoz kapcsolódnak. Ellenben mivel sebkezelő géleket vizsgáltunk, a kifejezettebb hatást localisan, vagyis a gyógyuló sebekben vártuk, emiatt koncentráltunk a sebgyógyulás korai szakaszára. A biomechanikai és histomorphologiai változások is érdekeltek minket. A minták szakítószilárdságát és megnyúlását számos tényező befolyásolja: a mintavétel iránya (mivel a bőr anizotróp, mechanikai tulajdonságai az iránytól függően változnak), a nedvességtartalom és a hőmérséklet.⁹¹ Fontos még a minta vastagsága, mivel a vastagabb minták általában nagyobb szakítószilárdsággal rendelkeznek, illetve a bőrben található kollagénszálak elrendeződése, mivel a kollagénszálak irányultsága és sűrűsége befolyásolja a szövet ellenállását. Ezenkívül az oxidatív stressz, például a szöveti károsodás vagy gyulladás, csökkentheti a lebeny szakítószilárdságát.¹²

A szakítószilárdsági vizsgálat jó módszer a bőrlebenyek mechanikai viselkedésére vonatkozó pontos és reprodukálható adatok gyűjtésére, ami mind klinikai, mind kutatási célokra elengedhetetlen. Az így nyert eredmények betekintést nyújtanak a lebenyek mechanikai tulajdonságaiba. Ezáltal megállapíthatjuk az adott lebenyek teherbíró-, vagy a postoperatív stresszhez való ellenállóképességét, de a konkrét sebészeti beavatkozásoknál is segíthet a lebeny kiválasztásában. Az epidermis a bőr legkülső rétege, amely kapcsolatban áll a külső környezettel, fő funkciója, hogy védelmet nyújt a mechanikai, kémiai, mikrobiális és immunológiai károsodások ellen, valamint részt vesz a hőszabályozásban, az UV-védelemben és az érzékszervi észlelésben. Ezért vastagságának mérése egy kvantitatív módszer a sérülés utáni regenerációjának értékelésére. Az epidermis vastagságát a granulációs szövet felett, nem a lebeny közepén, hanem a varratsor két szélén mértük. Az epidermis megvastagodása a bőr

mélyebb rétegeiben zajló folyamatokra is utalhat, például a fibroblaszt növekedési faktorok megnövekedett szintje közvetlenül stimulálhatja az epidermis bazális rétegét. A mi szövettani vizsgálataink a stratum polygonale megvastagodását mutatták.

A PACAP 1-38 csökkentette a szöveti degradációt, a gyulladás mértékét és a sejtkárosodás kiterjedését. A nem ischaemiás oldali lebenyekben a bőr vastagsága szinte megegyezett az ép bőrfelület vastagságával. A BGP-15 nem csökkentette az I/R károsodást, de a kontroll csoportban megfigyelhettük gyulladáscsökkentő hatását.

A hízósejtek vizsgálata hátterében az állt, hogy fontos szerepük van a sebgyógyulási folyamatokban azáltal, hogy gyulladásos faktorokat szabadítanak fel, többek között proteázokat, hisztamint, prosztanoidokat, leukotriéneket, heparint, valamint számos citokint (TNF α , IL-4, IL-5, IL 6, IL-10), kemokineket és növekedési faktorokat.⁹²⁻⁹⁶ A hízósejtek valószínűleg közvetlenül befolyásolhatják a sebgyógyulási folyamatot, mivel az általuk felszabadított gyulladásos faktorok felelősek a non-neurális vascularis folyamatokért (erek kitágulása, jobb perfúzió és további bevándorló leukociták). A PACAP 1-38 hatására főként az ischaemiás oldalon csökkent a hízósejtek száma, viszont a BGP-15 kevésbé tudott hatni a számukra. Emellett a PACAP 1-38 a makrofágok migrációját is módosította.

Elmondható összegzésül, hogy további kísérletekre lenne szükség, hosszabb utánkövetési időszakokkal, különböző dózisokkal és adagolási módokkal annak érdekében, hogy jobban átlássuk a PACAP 1-38 és a BGP-15 sebgyógyulási folyamatokra, beleértve a lebeny regenerációjára gyakorolt hatását illetve, hogy a gyakorlatban is alkalmazhassuk ezeket a hatóanyagokat.

A tanulmány limitációi közé tartozik a viszonylag alacsony esetszám, a rövid követési időszak, a gyógyszer egyféleképpen történő adagolási módja, az alkalmazott érzéstelenítési protokoll, valamint a patkányok eltérő sebgyógyulási dinamikája illetve a micro-rheológiai paraméterek különbségei az emberekéhez képest.¹⁵ Ebben a tanulmányban nem tudtunk

kifinomultabb módszereket alkalmazni az ultrastrukturális morphologiai elemzéshez; azonban például az elektronmikroszkópia alkalmasabb lenne a sejtkárosodás/sejthalál vizsgálatára.⁹⁷⁻¹⁰⁰ Illetve megemlíteném, hogy egyéb, a klinikai gyakorlatban jól ismert a sebgyógyulást befolyásoló tényezőt, mint például az anyagcsere-állapotokat és az anyagcsere-rendellenességeket nem vizsgáltuk.¹⁰¹⁻¹⁰⁴ Mindezek ellenére, úgy véljük ez a jól standardizálható patkány állatmodell hasznos lehet a lebenyek fiziológiájának és patofiziológiájának tanulmányozásához.

A későbbiekben szeretnénk kiterjeszteni a vizsgálati módszereket a releváns microcirculatio^{105,106} és ultrastrukturális^{97,99,100} megközelítésekkel, hogy ezzel követni tudjuk az anyagcsere-átprogramozást (glükóz, lipidek, aminosavak).¹⁰³ Szeretnénk további terápiás lehetőségeket is kipróbálni, mint például a vérlemezkékben gazdag plazmát angiogén és gyulladáscsökkentő hatása miatt.¹⁰⁷

6.2 Patkány adipocutan epigastrialis lebenyek szöveti perfusiojának vizsgálata ischaemia-reperfusio során

Habár számos különböző lokalizációjú, szöveti összetételű (pl. fasciocutan, adipocutan, musculocutan stb.), vascularizációja, és típusú (pl. helyi, forgatott, átvitt, interpolált stb.) lebeny használatos a gyakorlatban, számos kihívással kell megküzdenünk alkalmazásukkor.^{5,6,13,108-110} Kritikus a megfelelő típusú lebeny kiválasztása, főképp a nagyobb defektusok esetén, ahol inkább a több komponensből álló lebenyek használatát preferáljuk. A megfelelő véráramlás fenntartása elengedhetetlen a lebeny életképességének megőrzése szempontjából, melyhez szükséges a jól átgondolt műtési terv, a precíz műtési technika és a megfelelő postoperatív gondozás. A lebeny életképességének figyelemmel kísérése elengedhetetlen a sebész számára, mivel annak csökkenésének észlelése lehetőséget teremt a lebeny necrosistól való megmentésére.

Az irodalomban számos olyan technikát ismertetnek, amelyek hasznosak lehetnek a lebeny életképességének értékelésében.^{10,11,111-117} Ennek ellenére még mindig nincs egyezményes gold standard módszer, annak ellenére, hogy minél fejlettebb a rekonstrukciós technika, annál fontosabb kéne, hogy legyen megfelelő monitorozás.

Tanulmányunkban többféle módszert használtunk a lebeny életképességének értékelésére, beleértve az érnél áramlásának közvetlen vizsgálatát, videomikroszkópiát, hőmérséklet méréseket, hematológiai és micro-rheológiai paraméterek megfigyelését.

A vér alakos elemeiben bekövetkező változások számában (vörösvérsejtek, fehérvérsejtek, vérlemezkék), a hemoglobin és a hematokrit értékében, valamint a vörösvérsejtek deformálhatóságában és aggregációjában bekövetkezett változások mind a műtétet követő akut fázisú reakciókat tükrözték, a sebgyógyulás gyulladásos és korai granulációs fázisában.¹¹⁸⁻¹²⁰ A szakirodalomban is bizonyításra került, hogy ezek a változások a műtét utáni korai szakaszban jelentkeznek, amennyiben a lebenyek ischaemia-reperfusioja károsodást szenvednek el.^{14,17,121-124} Mivel a vörösvérsejtek deformabilitására és aggregációjára hatással van az oxigénellátottság szintjének változása, a sav-bázis paraméterek, a szabad gyök reakciók, illetve gyulladásos folyamatok, így ennek megfelelően a vörösvérsejtek deformálhatósága romlott, a vörösvérsejtek aggregációja fokozódott a műtét utáni első napokban.^{9,14,122} A nem megfelelő micro-rheologia hozzájárulhat a szöveti perfusio romlásához.^{8,9} A kapcsolódó változásokat a videomikroszkópos felvételeken is láhattuk.

A szakítószilárdság vizsgálat eredményeit illetően hangsúlyozandó, hogy az utánkövetési időszak korlátozott hosszúsága miatt nem tudtuk vizsgálni a sebgyógyulás teljes folyamatát. Mivel a klinikai gyakorlatban a varratokat általában a műtét utáni 7–14. napon távolítják el, tanulmányunk végét a 14. napra tettük és így figyelmünk a korai postoperatív időszakra irányult. Ennek ellenére, már így is megfigyelhetőek voltak a regenerációban mutatkozó különbségek az intakt, a nem-ischaemiás és az ischaemiás bőr összehasonlításakor.

A kollagénszálak orientációja és szerveződése eltéréseket mutatott, az ischaemiás lebenyekben a sebgyógyulás és a kapcsolódó regenerációs folyamatok kevésbé voltak jelen. Mivel a lebenyek preparálásuk, visszapozícionálásuk és visszavarrásuk után eltérően viselkednek az ép bőrhöz képest, ezért a lebeny több részének is megvizsgáltuk a szakítószilárdságát. A szakítószilárdságot befolyásolhatja a Langer-féle vonalak iránya, a kollagén és az elasztikus rostok orientációja is.¹²⁵⁻¹²⁷ Az ép bőrreszeken is egyértelműen megfigyelhető volt, hogy a függőleges és horizontális irányulási bőrcsíkoknak különböző szakítószilárdsági értéke van. Ezen eredmények összefüggésbe hozhatók a klinikailag releváns szövődmények kockázatával (pl. lebeny necrosis, dehiscencia, thrombosis).^{12,13,111}

A tanulmány limitációi közé tartozik az alacsony esetszám, az utánkövetési időszak hossza, a kiválasztott ischaemiás idő hossza, valamint a sebgyógyulást befolyásoló általános tényezők. Azáltal, hogy követési időszak két hét volt, a sebgyógyulásnak a gyulladásos fázisát és a granulációs fázis korai napjait figyeltük meg. Az ischaemiás idő hosszát korábbi kutatásaink alapján határoztuk meg.^{14,123,124} Annak érdekében, hogy ne befolyásolják az eredményeket, a varratok száma és a felhasznált varróanyag egységes volt. A HPMC gél használata mellett azért döntöttünk, mert a későbbiekben szeretnénk volna többféle hatóanyag sebgyógyulásra és szöveti regenerációra gyakorolt hatását megvizsgálni, melyek jól feloldhatóak és könnyen alkalmazhatóak HPMC gélben.

7. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Sikerült kialakítanunk egy jól reprodukálható és standardizálható bilaterális epigastriális fasciocutan és adipocutan lebenymodellt patkányban. A kétféle lebenyek bár egy lokalizációból indulnak és preparálásuk is hasonló, szöveti összetételük különböző, így modellezni lehet a különböző mértékű szöveti hiány pótlására szükséges eltérő összetételű lebenyek regenerációját. Az érnél lezorításával kontrolláltan lehet I/R károsodást létrehozni a kapcsolódó kutatási célokhoz.
2. Makroszkóposan az ischaemiás oldali adipocutan lebenyek nagyobb mértékben zsugorodtak. A szövettani vizsgálat kimutatta, hogy a masztociták száma csökkent, valamint a kollagénrostok mennyisége és rendezettsége is megváltozott az ischaemiás oldali adipocutan lebenyekben.
3. Az ischaemiás oldali adipocutan lebenyek érnélének véráramlása csökkent volt, habár nem szignifikáns módon. Megfigyeltük, hogy az adipocutan ischaemiás lebenyek microcirculációs értékei még két héttel később is alacsonyabbak voltak, mint az ischaemiának nem kitett oldaliaké. A Cytocam-IDF módszer alkalmas volt a lebenyek intra- és postoperatív életképességének figyelemmel kísérésére. Az ischaemia-reperfusio által okozott micro-rheológiai károsodás a vörösvérsejtek deformabilitásának romlásában és fokozott vörösvérsejt-aggregációban nyilvánult meg.
4. A fasciocutan lebenyeknél alkalmazott hatóanyagok különböző mértékben enyhítették a lebenyek szöveti károsodását. A gyulladáscsökkentő (PACAP 1-38, BGP-15) és a rostösszetételre gyakorolt hatásra (PACAP 1-38) utaló eredményeink hosszabb utánkövetési időszakkal járó további vizsgálatokra ösztönöznek. Az ischaemia-reperfusionnak kitett fasciocutan lebenyekben a szakítószilárdság a jobb perfusiójú területeken növekedett a fibrotikus mátrix felhalmozódásának eredményeként.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A sebészetben gyakran alkalmazunk lebenyeket a szöveti hiányok pótlására. Lebenyeket megkülönböztetünk szöveti összetételük, elhelyezkedés, vérellátás, konfiguráció és a szövethiányra való átvitelük módja szerint. A lebenyek megfelelő kiválasztása, preparálása, pozicionálása és rögzítése után indul el a sebgyógyulás, mely eldönti sikeres volt-e az operáció. A leggondosabban előkészített lebenyeknél is lehetnek szövődmények, mint a részleges vagy teljes szövet elhalás, vascularis elégtelenség, sebszétnyílás, fertőzés, vérzés/hematóma kialakulása. Éppen emiatt annyira fontos a lebeny életképességének és gyógyulásának figyelemmel kísérése illetve a sebgyógyulás elősegítése. Számos tanulmány foglalkozik a fent említettekkel, mi a már más indikációban jó hatásúnak bizonyuló PACAP 1-38 illetve BGP-15 hatóanyagokat vizsgáltuk.

A kísérleteink során azonos lokalizációjú de eltérő szöveti összetételű lebenyeket vizsgáltunk. A kísérleti állatok (hím Wistar patkányok) epigastralis területéről nyertünk ki bilaterálisan az arteria epigastrica superficialisra nyelezett lebenyeket, melyek az állatok egy részénél adipocutan, míg egy másik részükénél pedig fasciocutan volt. Mivel a lebenyek gyakori szövődményei közé tartozik a thrombosis és a szöveti necrosis, mely részben ischaemia-reperfusios (I/R) károsodásból ered, ezért ezt modellezve a lebenyek közül a bal oldaliakat 120 perc ischaemiának tettük ki az érnyél reversibilis leszorítása által. A lebeny gyógyulás monitorozására labor vizsgálatokon, testhőmérséklet mérésen, szakító szilárdság illetve szövettani vizsgálaton kívül az adipocutan lebenyek esetében a Cytocam-IDF videomikroszkópot használtuk a mikrokeringési változások nyomonkövetésére. Emellett az adipocutan lebenyek érnyeleinek áramlását is lejegyeztük. A fasciocutan lebenyeket három csoportra osztottuk (Kontroll, PACAP, BGP-15), mivel ennél a lebenyfajtánál vizsgáltuk a PACAP 1-38 illetve BGP-15 hatóanyagok hatását a sebgyógyulásra. A hatóanyagokat sebgélek formájában alkalmaztuk. A lebenyek visszavarrását követően a fasciocutan lebenyek gyógyulását 7, az adipocutan lebenyek gyógyulását 14 napig követtük. Adott napokon laboratóriumi vizsgálatok, bőrhőmérséklet illetve fotódokumentáció alapján lebeny terület -illetve kerületmérés történt. A terminálást követően nyert bőr mintákból szakító szilárdsági illetve szövettani vizsgálatok történtek.

A lebenyek I/R-ja miatt romlott a vörösvérsejtek deformabilitása és fokozódott az aggregatiojuk. A BGP-15 illetve a PACAP 1-38 különböző mértékben csökkentették a szisztémás micro-rheologiai károsodást. A szakítószilárdság a jobb perfusiojú területeken emelkedett volt a fasciocutan lebenyeknél. Az adipocutan lebenyeknél vizsgált microcirculatiós értékek alacsonyabbak voltak az ischaemiás lebenyeknél, mint az ellenoldaliaknál, még két héttel a műtét után is, illetve az ischaemiás oldali lebenyek nagyobb mértékben zsugorodtak. Kísérletünk eredményeképpen a PACAP 1-38 és a BGP-15 gyulladáscsökkentő hatása, valamint a PACAP 1-38 kollagén- és elasztikus szálak összetételére gyakorolt hatása bizonyítást nyert. Emellett az alkalmazott vizsgálmódszerekkel, kiemelve a Cytocam-IDF videomikroszkóp szerepét, a microcirculatiós és micro-rheologiai változások jól megfigyelhetők voltak a lebenyek regenerációja során.

9. SUMMARY

In surgery, flaps are often used in order to solve tissue defects. We can differentiate flaps according to their tissue composition, localisation, blood supply, configuration and the method of transfer for the tissue deficiency. After choosing the right flap, preparing, positioning and securing it, the healing procedure starts, deciding whether the operation was successful or not. Even, with the outmost care, we can observe flap failures, such as partial or complete necrosis, vascular insufficiency, wound separation, infection, bleeding or hematoma. For this reason, monitoring the vitality and regeneration of flaps and helping regeneration is very important. There are many studies about this topic, we examined the effects of PACAP 1-38 and BGP-15, which deemed to be effective in other areas.

During our experiments we studied flaps in the same localisation but with different tissue composition. We took adipocutaneous or fasciocutaneous flaps from the laboratory animals (male Wistar rats) groin areas bilaterally pedicled on the superficial epigastric artery. As thrombosis and necrosis (partially from I/R injury) are common in flap surgery, to model that, we used 120 minutes of ischaemia on the left side flaps by reversibly clamping the pedicle. To monitor flap regeneration, we used laboratory tests, body temperature, tensile strength measurements, histological examination and in adipocutaneous flaps Cytocam-IDF videomicroscop to follow the microcirculatory changes. Also, we monitored the blood flow of the pedicles of the adipocutaneous flaps. We divided the fasciocutaneous flaps to three groups (control, PACAP, BGP-15), to examine the effect of PACAP 1-38 and BGP-15 on wound healing. We applied the substances in wound gels. After resuturing the flaps we followed up the regeneration of flaps for 7 days in the fasciocutaneous and for 14 days for the adipocutaneous flaps. On certain days there were laboratory tests, body temperature and flap area and circumference measurements (based on photodocumentation). After termination, from the skin samples, tensile strength and histological examinations were performed.

Because of I/R, the deformability decreased and the aggregation elevated of the red blood cells. BGP-15 and PACAP 1-38 reduced systematic micro-rheological injury in different extent. In fasciocutaneous flaps tensile strength was higher in better perfused areas. The microcirculatory values in adipocutaneous flaps were lower in the ischaemic flaps compared to the other/control sides, even two weeks postoperatively, also the ischaemic side flaps shrunk more. We could prove the antiinflammatory effects of PACAP 1-38 and BGP-15 and the effect of PACAP 1-38 on collagen and elastic fibers. With our examination methods, especially the Cytocam-IDF videomicroscop, the changes of microcirculation and micro-rheology were well noted during flap regeneration.

10. IRODALOMJEGYZÉK

10.1 Hivatkozott közlemények jegyzéke

1. Thorwarth M, Eulzer C, Bader R, Wolf C, Schmidt M, Schultze-Mosgau S. Free flap transfer in cranio-maxillofacial surgery: a review of the current data. *Oral Maxillofac Surg.* 2008;12(3):113–24. doi:10.1007/s10006-008-0112-x
2. Tschoi M, Hoy EA, Granick MS. Skin Flaps. *Surg Clin North Am.* 2009;89(3):643–58. doi:10.1016/j.suc.2009.03.004
3. Baker SR. Reconstruction of Facial Defects. In: Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery [Internet]. Elsevier; 2010. 342–63. doi:10.1016/B978-0-323-05283-2.00025-2
4. Dow T, ElAbd R, McGuire C, Corkum J, Youha SA, Samargandi O, és mtsai. Outcomes of Free Muscle Flaps versus Free Fasciocutaneous Flaps for Lower Limb Reconstruction following Trauma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Reconstr Microsurg.* 2023;39(07):526–39. doi:10.1055/a-2003-8789
5. Raja BS, Vathulya M, Maheshwari V, Gowda AKS, Jain A, Kandwal P. No added benefits of adipofascial flaps over fasciocutaneous flaps except for footwear ease and bulkiness: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Orthop Trauma.* 2022;33:101999. doi:10.1016/j.jcot.2022.101999
6. Mégevand V, Suva D, Mohamad M, Hannouche D, Kalbermatten DF, Oranges CM. Muscle vs. Fasciocutaneous Microvascular Free Flaps for Lower Limb Reconstruction: A Meta-Analysis of Comparative Studies. *J Clin Med.* 2022;11(6):1557. doi:10.3390/jcm11061557
7. Yang L, Bai X, Liu Y, Zhu S, Li S, Chen Z, és mtsai. Angiosome-Guided Perfusion Decellularization of Fasciocutaneous Flaps. *J Reconstr Microsurg.* 2025;41(05):405–14. doi:10.1055/a-2404-2608
8. Cokelet G, Meiselman H. Macro- and micro-rheological properties of blood. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* Amsterdam, The Netherlands: IOS Press; 2007. 45-71 p.
9. Baskurt OK. Mechanisms of blood rheology alterations. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* Amsterdam, The Netherlands: IOS Press; 2007. 170-190 p.
10. Pickett JA, Thorniley MS, Carver N, Jones DP. Free Flap Monitoring in Plastic and Reconstructive Surgery. In: Dunn JF, Swartz HM, szerkesztő. *Oxygen Transport to Tissue XXIV* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2003. 717–24 p. (Advances in Experimental Medicine and Biology). Elérhető: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-0075-9_72 doi:10.1007/978-1-4615-0075-9_72
11. Mücke T, Hapfelmeier A, Schmidt LH, Fichter AM, Kanatas A, Wolff KD, és mtsai. A comparative analysis using flowmeter, laser-Doppler spectrophotometry, and indocyanine green-videoangiography for detection of vascular stenosis in free flaps. *Sci Rep.* 2020;10(1):939. doi:10.1038/s41598-020-57777-2
12. Van Den Heuvel MGW, Buurman WA, Bast A, Van Der Hulst RRWJ. Review: ischaemia–reperfusion injury in flap surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009;62(6):721–6. doi:10.1016/j.bjps.2009.01.060
13. Yin X, Feng L, Hua Q, Ye J, Cai L. Progress in the study of mechanisms and pathways related to the survival of random skin flaps. *Updat Surg.* 2024;76(4):1195–202. doi:10.1007/s13304-023-01746-7
14. Magyar Z, Molnar A, Nachmias DB, Mann D, Sogor V, Mester A, és mtsai. Impact of groin flap ischemia-reperfusion on red blood cell micro-rheological parameters in a follow-up study on rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2021;79(2):245–55. doi:10.3233/CH-170277

15. Nemeth N, Deak A, Szentkereszty Z, Peto K. Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;69(1–2):133–40. doi:10.3233/CH-189105
16. Zhang F, Sones WD, Lineaweaver WC. Microsurgical Flap Models in the Rat. *J Reconstr Microsurg.* 2001;17(03):211–22. doi:10.1055/s-2001-14353
17. Ballestín A, Casado JG, Abellán E, Vela FJ, Álvarez V, Usón A, és mtsai. Ischemia-reperfusion injury in a rat microvascular skin free flap model: A histological, genetic, and blood flow study. Kamolz LP, szerkesztő. *PLOS ONE.* 2018;13(12):e0209624. doi:10.1371/journal.pone.0209624
18. Aksamitiene E, Heffelfinger RN, Hoek JB, Pribitkin E deAzevedo. Standardized Pre-clinical Surgical Animal Model Protocol to Investigate the Cellular and Molecular Mechanisms of Ischemic Flap Healing. *Biol Proced Online.* 2024;26(1):2. doi:10.1186/s12575-023-00227-w
19. Liu H, Zhang MZ, Liu YF, Dong XH, Hao Y, Wang YB. Necroptosis was found in a rat ischemia/reperfusion injury flap model. *Chin Med J (Engl).* 2019;132(1):42–50. doi:10.1097/CM9.0000000000000005
20. Hsu CE, Shyu VBH, Wen CJ, Wei FC, Huang XT, Cheng HY. The rat groin flap model redesigned for evaluating treatment effects on ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res.* 2018;222:160–6. doi:10.1016/j.jss.2017.10.011
21. Casal D, Pais D, Iria I, Mota-Silva E, Almeida MA, Alves S, és mtsai. A Model of Free Tissue Transfer: The Rat Epigastric Free Flap. *J Vis Exp.* 2017;(119):55281. doi:10.3791/55281
22. Ballestín A, Casado JG, Abellán E, Vela FJ, Campos JL, Martínez-Chacón G, és mtsai. A Pre-clinical Rat Model for the Study of Ischemia-reperfusion Injury in Reconstructive Microsurgery. *J Vis Exp.* 2019;(153):60292. doi:10.3791/60292
23. Lamberty BGH, Cormack GC. Fasciocutaneous Flaps. *Clin Plast Surg.* 1990;17(4):713–26. doi:10.1016/S0094-1298(20)30653-2
24. Boretto JG, Hohman MH, De Cicco FL. Fasciocutaneous Flaps. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Elérhető: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562280/> PubMed PMID: 32965951.
25. Dacho A, Lyutenski S, Aust G, Dietz A. Der epigastrisch adipokutane Lappen am Tiermodell zur Evaluierung der ischämischen Präkonditionierung. *HNO.* 2009;57(8):829–34. doi:10.1007/s00106-009-1901-8
26. Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, és mtsai. Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;164(1):567–74. doi:10.1016/0006-291X(89)91757-9
27. Denes V, Geck P, Mester A, Gabriel R. Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide: 30 Years in Research Spotlight and 600 Million Years in Service. *J Clin Med.* 2019;8(9):1488. doi:10.3390/jcm8091488
28. Sadanandan N, Cozene B, Park YJ, Farooq J, Kingsbury C, Wang ZJ, és mtsai. Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide: A Potent Therapeutic Agent in Oxidative Stress. *Antioxidants.* 2021;10(3):354. doi:10.3390/antiox10030354
29. Toth D, Szabo E, Tamas A, Juhasz T, Horvath G, Fabian E, és mtsai. Protective Effects of PACAP in Peripheral Organs. *Front Endocrinol.* 2020;11:377. doi:10.3389/fendo.2020.00377
30. Fazekas LA, Szabo B, Szegeczki V, Filler C, Varga A, Godo ZA, és mtsai. Impact Assessment of Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) and Hemostatic Sponge on Vascular Anastomosis Regeneration in Rats. *Int J Mol Sci.* 2023;24(23):16695. doi:10.3390/ijms242316695

31. Szabados E, Literati-Nagy P, Farkas B, Sumegi B. BGP-15, a nicotinic amidoxime derivate protecting heart from ischemia reperfusion injury through modulation of poly(ADP-ribose) polymerase. *Biochem Pharmacol.* 2000;59(8):937–45. doi:10.1016/S0006-2952(99)00418-9
32. Pető Á, Kósa D, Fehér P, Ujhelyi Z, Sinka D, Vecsernyés M, és mtsai. Pharmacological Overview of the BGP-15 Chemical Agent as a New Drug Candidate for the Treatment of Symptoms of Metabolic Syndrome. *Molecules.* 2020;25(2):429. doi:10.3390/molecules25020429
33. Janis JE. Essentials of plastic surgery. Third edition. New York: Thieme Medical Publishers; 2023.
34. Zoltán J. A bőrátültetés atlasza. 1984. kiad. Budapest: Medicina Könyvkiadó; 1984.
35. Zoltán J. Cicatrix Optima. Medicina Könyvkiadó; 1974.
36. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(20):3861–85. doi:10.1007/s00018-016-2268-0
37. Reinke JM, Sorg H. Wound Repair and Regeneration. *Eur Surg Res.* 2012;49(1):35–43. doi:10.1159/000339613
38. Qian Y, Li G, Zang H, Cao S, Liu Y, Yang K, és mtsai. A Systematic Review and Meta-analysis of Free-style Flaps: Risk Analysis of Complications. *Plast Reconstr Surg - Glob Open.* 2018;6(2):e1651. doi:10.1097/GOX.0000000000001651
39. Shokri T, Kadakia S, Saman M, Habal MB, Kohlert S, Sokoya M, és mtsai. The Paramedian Forehead Flap for Nasal Reconstruction: From Antiquity to Present. *J Craniofac Surg.* 2019;30(2):330–3. doi:10.1097/SCS.0000000000004976
40. Rudolph MA, Walker NJ, Rebowe RE, Marks MW. Broadening applications and insights into the cross-paramedian forehead flap over a 19-year period. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2019;72(5):763–70. doi:10.1016/j.bjps.2018.12.001
41. Németh N. Haemorheologiai alapismeretek. 2020. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó.
42. Barshtein G, Pajic-Lijakovic I, Gural A. Deformability of Stored Red Blood Cells. *Front Physiol.* 2021;12:722896. doi:10.3389/fphys.2021.722896
43. Ebenuwa I, Violet PC, Tu H, Lee C, Munyan N, Wang Y, és mtsai. Altered RBC deformability in diabetes: clinical characteristics and RBC pathophysiology. *Cardiovasc Diabetol.* 2024;23(1):370. doi:10.1186/s12933-024-02453-2
44. Huisjes R, Bogdanova A, Van Solinge WW, Schiffelers RM, Kaestner L, Van Wijk R. Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability. *Front Physiol.* 2018;9:656. doi:10.3389/fphys.2018.00656
45. Steenebruggen F, Jacobs D, Delporte C, Van Antwerpen P, Boudjeltia KZ, Biston P, és mtsai. Hyperbaric oxygenation improve red blood cell deformability in patients with acute or chronic inflammation. *Microvasc Res.* 2023;148:104534. doi:10.1016/j.mvr.2023.104534
46. Hurd TC. Red Blood Cell Deformability in Human and Experimental Sepsis. *Arch Surg.* 1988;123(2):217. doi:10.1001/archsurg.1988.01400260101012
47. Baskurt OK, Meiselman HJ. Erythrocyte aggregation: Basic aspects and clinical importance. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;53(1–2):23–37. doi:10.3233/CH-2012-1573
48. Başkurt O, Neu B, Meiselman H. Determinants of red blood cell aggregation. In: *Red Blood Cell Aggregation.* Boca Raton: CRC Press; 2012. o. 9-29.
49. Kang C, Cho AR, Lee HJ, Kim HJ, Kim EJ, Jeo S, és mtsai. Feasibility study of incident dark-field video microscope for measuring microcirculatory variables in the mouse dorsal skinfold chamber model. *Acute Crit Care.* 2021;36(1):29–36. doi:10.4266/acc.2020.00969 PubMed PMID: 33663037

50. Aykut G, Veenstra G, Scorcella C, Ince C, Boerma C. Cytocam-IDF (incident dark field illumination) imaging for bedside monitoring of the microcirculation. *Intensive Care Med Exp.* 2015;3(1):4. doi:10.1186/s40635-015-0040-7
51. Hutchings S, Watts S, Kirkman E. The Cytocam video microscope. A new method for visualising the microcirculation using Incident Dark Field technology. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2016;62(3):261–71. doi:10.3233/CH-152013
52. Selber JC, Garvey PB, Clemens MW, Chang EI, Zhang H, Hanasono MM. A Prospective Study of Transit-Time Flow Volume Measurement for Intraoperative Evaluation and Optimization of Free Flaps: *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(2):270–81. doi:10.1097/PRS.0b013e3182789c91
53. Kenwright D, Thomson A, Hadoke P, Anderson T, Moran C, Gray G, és mtsai. A Protocol for Improved Measurement of Arterial Flow Rate in Preclinical Ultrasound. *Ultrasound Int Open.* 2015;01(02):E46–52. doi:10.1055/s-0035-1564268
54. Fernández AR, Sánchez-Tarjuelo R, Cravedi P, Ochando J, López-Hoyos M. Review: Ischemia Reperfusion Injury—A Translational Perspective in Organ Transplantation. *Int J Mol Sci.* 2020;21(22):8549. doi:10.3390/ijms21228549
55. Khalaf R, Duarte Bateman D, Reyes J, Najafali D, Rampazzo A, Bassiri Gharb B. Systematic review of pathologic markers in skin ischemia with and without reperfusion injury in microsurgical reconstruction: Biomarker alterations precede histological structure changes. *Microsurgery.* 2024;44(2):e31141. doi:10.1002/micr.31141
56. Quirina A. Ischemia in Wound Healing II: Design of a Flap Model—Biomechanical Properties. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1992;26(2):133–9. doi:10.3109/02844319209016003
57. Kincses G, Fazekas LA, Varga A, Matrai AA, Loc NX, Barabasi K, és mtsai. Following-Up Micro-Rheological and Microcirculatory Alterations During the Early Wound Healing Phase of Local and Rotated Musculocutaneous Flaps in Rats. *Life Basel Switz.* 2025;15(9). doi:10.3390/life15091424 PubMed PMID: 41010366;
58. Stone HA, Edelman RD, McGarry JJ. Epigard: a synthetic skin substitute with application to podiatric wound management. *J Foot Ankle Surg Off Publ Am Coll Foot Ankle Surg.* 1993;32(2):232–8. PubMed PMID: 8318981.
59. Viscardi JA, Esemé EA, Gohritz A, Tremp M, Merat R, Kalbermatten DF, és mtsai. Multistage Reconstruction of Large Arm Defect Using Keystone Type I Flap and Temporary Synthetic Skin Substitute. *Plast Reconstr Surg - Glob Open.* 2023;11(1):e4745. doi:10.1097/GOX.00000000000004745
60. Ziegler K, Görl R, Effing J, Ellermann J, Mappes M, Otten S, és mtsai. Reduced Cellular Toxicity of a New Silver-Containing Antimicrobial Dressing and Clinical Performance in Non-Healing Wounds. *Skin Pharmacol Physiol.* 2006;19(3):140–6. doi:10.1159/000092594
61. Barrett S, Rippon MG, Rogers AA. Effectiveness of wound contact layers in enabling undisturbed wound management: a case series. *J Wound Care.* 2023;32(3):134–44. doi:10.12968/jowc.2023.32.3.134
62. Agarwal P, Kukrele R, Sharma D. Vacuum assisted closure (VAC)/negative pressure wound therapy (NPWT) for difficult wounds: A review. *J Clin Orthop Trauma.* 2019;10(5):845–8. doi:10.1016/j.jcot.2019.06.015
63. Xin D, Quan R, Zeng L, Xu C, Tang Y. Lipoxin A4 protects rat skin flaps against ischemia-reperfusion injury through inhibiting cell apoptosis and inflammatory response induced by endoplasmic reticulum stress. *Ann Transl Med.* 2020;8(17):1086–1086. doi:10.21037/atm-20-5549

64. Su L, Xie S, Li T, Jia Y, Wang Y. Pretreatment with platelet-rich plasma protects against ischemia–reperfusion induced flap injury by deactivating the JAK/STAT pathway in mice. *Mol Med*. 2024;30(1):18. doi:10.1186/s10020-024-00781-3
65. Rah DK, Min HJ, Kim YW, Cheon YW. Effect of Platelet-Rich Plasma on Ischemia-Reperfusion Injury in a Skin Flap Mouse Model. *Int J Med Sci*. 2017;14(9):829–39. doi:10.7150/ijms.19573
66. El Gazzar K, Kamel I, Nagy E, Ibrahim E, Morsy M, Ali A. Study of Different Therapeutic Agents for the Prevention of Ischemia Reperfusion Injury in Free Skin Flap. *Egypt J Plast Reconstr Surg*. 2019;43(1):93–100. doi:10.21608/ejprs.2019.65164
67. Nabavi SF, Braidys N, Gortzi O, Sobarzo-Sanchez E, Daglia M, Skalicka-Woźniak K, és mtsai. Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent: A brief review. *Brain Res Bull*. 2015;119:1–11. doi:10.1016/j.brainresbull.2015.09.002
68. Chen G, Shen H, Zang L, Su Z, Huang J, Sun Y, és mtsai. Protective effect of luteolin on skin ischemia-reperfusion injury through an AKT-dependent mechanism. *Int J Mol Med*. 2018. doi:10.3892/ijmm.2018.3915
69. Winters SJ, Moore JP. PACAP: A regulator of mammalian reproductive function. *Mol Cell Endocrinol*. 2020;518:110912. doi:10.1016/j.mce.2020.110912
70. Vaudry D, Falluel-Morel A, Bourgault S, Basille M, Burel D, Wurtz O, és mtsai. Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide and Its Receptors: 20 Years after the Discovery. *Pharmacol Rev*. 2009;61(3):283–357. doi:10.1124/pr.109.001370
71. Reglodi D, Kiss P, Lubics A, Tamas A. Review on the Protective Effects of PACAP in Models of Neurodegenerative Diseases In Vitro and In Vivo. *Curr Pharm Des*. 2011;17(10):962–72. doi:10.2174/138161211795589355
72. Juhász T, Szentlélek E, Somogyi CS, Takács R, Dobrosi N, Engler M, és mtsai. Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) Pathway Is Induced by Mechanical Load and Reduces the Activity of Hedgehog Signaling in Chondrogenic Micromass Cell Cultures. *Int J Mol Sci*. 2015;16(8):17344–67. doi:10.3390/ijms160817344
73. Józsa G, Szegeczki V, Pálfi A, Kiss T, Helyes Z, Fülöp B, és mtsai. Signalling Alterations in Bones of Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) Gene Deficient Mice. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9):2538. doi:10.3390/ijms19092538
74. Bhatt DK, Gupta S, Olesen J, Jansen-Olesen I. PACAP-38 infusion causes sustained vasodilation of the middle meningeal artery in the rat: Possible involvement of mast cells. *Cephalalgia*. 2014;34(11):877–86. doi:10.1177/0333102414523846
75. Sumegi K, Fekete K, Antus C, Debreceni B, Hocsak E, Gallyas F, és mtsai. BGP-15 Protects against Oxidative Stress- or Lipopolysaccharide-Induced Mitochondrial Destabilization and Reduces Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species. Ahmad A, szerkesztő. *PLOS ONE*. 2017;12(1):e0169372. doi:10.1371/journal.pone.0169372
76. Liu Q, Zhao JN, Fang ZT, Wang X, Zhang BG, He Y, és mtsai. BGP-15 alleviates LPS-induced depression-like behavior by promoting mitophagy. *Brain Behav Immun*. 2024;119:648–64. doi:10.1016/j.bbi.2024.04.036
77. Gonzalez MB, Campugan CA, Connaughton HS, Andreas E, Winstanley YE, Williams EJ, és mtsai. REPRODUCTIVE AGEING: BGP-15 mitigates adverse impacts of aging on sperm quality, fertility, and offspring health in male mice. *Reproduction*. 2024;168(3):e240105. doi:10.1530/REP-24-0105
78. Bácskay I, Hosszú Z, Budai I, Ujhelyi Z, Fehér P, Kósa D, és mtsai. Formulation and Evaluation of Transdermal Patches Containing BGP-15. *Pharmaceutics*. 2023;16(1):36. doi:10.3390/pharmaceutics16010036

79. Farkas B, Magyarlaki M, Csete B, Nemeth J, Rablóczy G, Bernath S, és mtsai. Reduction of acute photodamage in skin by topical application of a novel PARP inhibitor. *Biochem Pharmacol.* 2002;63(5):921–32. doi:10.1016/S0006-2952(01)00929-7
80. Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. *Lab Anim.* 1981;15(2):163–70. doi:10.1258/002367781780959107
81. Flecknell, Paul. *Laboratory Animal Anaesthesia: Fourth Edition.* Amsterdam, The Netherlands: Academic Press, Elsevier; 2015. Located at: pp. 163–165.
82. Cannon CZ, Kissling GE, Hoenerhoff MJ, King-Herbert AP, Blankenship-Paris T. Evaluation of dosages and routes of administration of tramadol analgesia in rats using hot-plate and tail-flick tests. *Lab Anim.* 2010;39(11):342–51. doi:10.1038/labani1110-342
83. Hardeman M, Goedhart P, Shin S. Methods in hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* Amsterdam, The Netherlands: IOS Press; 2007. o. 242-266.
84. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, és mtsai. New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009.;42(2):75–97. doi:10.3233/CH-2009-1202
85. Baskurt OK, Meiselman HJ. Data reduction methods for ektacytometry in clinical hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;54(1):99–107. doi:10.3233/CH-2012-1616
86. Godo ZA, Fazekas LA, Fritsch G, Szabo B, Nemeth N. A Custom-Developed Device for Testing Tensile Strength and Elasticity of Vascular and Intestinal Tissue Samples for Anastomosis Regeneration Research. *Sensors.* 2024;24(18):5984. doi:10.3390/s24185984
87. Lundell A, Bergqvist D, Mattsson E, Nilsson B. Volume blood flow measurements with a transit time flowmeter: an *in vivo* and *in vitro* variability and validation study. *Clin Physiol.* 1993;13(5):547–57. doi:10.1111/j.1475-097X.1993.tb00470.x
88. Mordick TG, Romanowski L, Eaton C, Siemionow M. Microvascular Application of the Nonreversed Vein Graft: *Plast Reconstr Surg.* 1995;95(4):731–6. doi:10.1097/00006534-199504000-00016
89. De Backer D, Hollenberg S, Boerma C, Goedhart P, Büchele G, Ospina-Tascon G, és mtsai. How to evaluate the microcirculation: report of a round table conference. *Crit Care.* 2007;11(5):R101. doi:10.1186/cc6118
90. Rothery P, Mead R. *The Design of Experiments: Statistical Principles for Practical Applications.* J Ecol. 1989;77:889.
91. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev.* 2019;99(1):665–706. doi:10.1152/physrev.00067.2017
92. Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020;58(3):298–312. doi:10.1007/s12016-019-08729-w
93. Guth C, Limjunyawong N, Pundir P. The evolving role of mast cells in wound healing: insights from recent research and diverse models. *Immunol Cell Biol.* 2024;102(10):878–90. doi:10.1111/imcb.12824
94. Mast cells and wound healing: still an open question. *Histol Histopathol.* 2024;40(01):21–30. doi:10.14670/HH-18-757
95. Jurisic V, Terzic T, Colic S, Jurisic M. The concentration of TNF- α correlate with number of inflammatory cells and degree of vascularization in radicular cysts. *Oral Dis.* 2008.;14(7):600–5. doi:10.1111/j.1601-0825.2007.01426.x
96. Jurisic V, Srdic-Rajic T, Konjevic G, Bogdanovic G, Colic M. TNF- α Induced Apoptosis is Accompanied with Rapid CD30 and Slower CD45 Shedding from K-562 Cells. *J Membr Biol.* 2011;239(3):115–22. doi:10.1007/s00232-010-9309-7

97. Lohman R, Yowell R, Barton S, Araneo B, Siemionow M. Dehydroepiandrosterone Protects Muscle Flap Microcirculatory Hemodynamics from Ischemia/Reperfusion Injury: An Experimental In Vivo Study. *J Trauma Inj Infect Crit Care*. 1997.;42(1):74–80. doi:10.1097/00005373-199701000-00013
98. Jurisic V, Bumbasirevic V, Konjevic G, Djuricic B, Spuzic I. TNF- α induces changes in LDH isotype profile following triggering of apoptosis in PBL of non-Hodgkin's lymphomas. *Ann Hematol*. 2004;83(2):84–91. doi:10.1007/s00277-003-0731-0
99. Zhang D yi, Kang S song, Zhang Z wen, Wu R. Edaravone enhances the viability of ischemia/reperfusion flaps. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2017.;37(1):51–6. doi:10.1007/s11596-017-1693-0
100. Liu H, Zhang M, Dong X, Liu Y, Hao Y, Wang Y. Necrostatin-1 protects against ischemia/reperfusion injury by inhibiting receptor-interacting protein 1 in a rat flap model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2019;72(2):194–202. doi:10.1016/j.bjps.2018.10.019
101. Gordts S, Muthuramu I, Amin R, Jacobs F, De Geest B. The Impact of Lipoproteins on Wound Healing: Topical HDL Therapy Corrects Delayed Wound Healing in Apolipoprotein E Deficient Mice. *Pharmaceuticals*. 2014;7(4):419–32. doi:10.3390/ph7040419
102. Paragh G, Németh Á, Harangi M, Banach M, Fülöp P. Causes, clinical findings and therapeutic options in chylomicronemia syndrome, a special form of hypertriglyceridemia. *Lipids Health Dis*. 2022;21(1):21. doi:10.1186/s12944-022-01631-z
103. Wang Z, Zhao F, Xu C, Zhang Q, Ren H, Huang X, és mtsai. Metabolic reprogramming in skin wound healing. *Burns Trauma*. 2024;12:tkad047. doi:10.1093/burnst/tkad047
104. Qin Y, Chen X, Bao L, Ren L, Dou G, Lian J, és mtsai. Lipid metabolism of apoptotic vesicles accelerates cutaneous wound healing by modulating macrophage function. *J Nanobiotechnology*. 2025;23(1):106. doi:10.1186/s12951-025-03194-4
105. Chen H, Martins PN. *Advances in Experimental Surgery*. Volume 2. Hauppauge: Nova Science Publishers, Incorporated; 2018. 1 o. (Surgery - Procedures, Complications, and Results).
106. Gieriek M, Bergler-Czop B, Słaboń A, Łabuś W, Ochala-Gieriek G. Laser speckle contrast analysis (LASCA): a new device in the diagnosis and monitoring of surgical treatment of hidradenitis suppurativa. *Adv Dermatol Allergol*. 2023;40(2):253–8. doi:10.5114/ada.2023.126323
107. Gieriek M, Klama-Baryła A, Łabuś W, Bergler-Czop B, Pietrauska K, Niemiec P. Platelet-Rich Plasma and Acellular Dermal Matrix in the Surgical Treatment of Hidradenitis Suppurativa: A Comparative Retrospective Study. *J Clin Med*. 2023;12(6):2112. doi:10.3390/jcm12062112
108. Nanda D, Sahu SA, Karki D, Kumar S, Mandal A. Adipofascial perforator flaps: Its role in reconstruction of soft-tissue defects of lower leg and ankle. *Indian J Plast Surg*. 2018;51(02):216–21. doi:10.4103/ijps.IJPS_19_17
109. Kim KJ, Ahn JT, Yoon KT, Lee JH. A comparison of fasciocutaneous and adipofascial methods in the reverse sural artery flap for treatment of diabetic infected lateral malleolar bursitis. *J Orthop Surg*. 2019;27(1):2309499019828546. doi:10.1177/2309499019828546
110. Rohrich RJ, Weinstein A. The Impact of Plastic and Reconstructive Surgery: By the Numbers. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(5):1501–4. doi:10.1097/PRS.0000000000001223
111. Phillips BT, Lanier ST, Conkling N, Wang ED, Dagum AB, Ganz JC, és mtsai. Intraoperative Perfusion Techniques Can Accurately Predict Mastectomy Skin Flap Necrosis in Breast Reconstruction: Results of a Prospective Trial. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129(5):778e–88e. doi:10.1097/PRS.0b013e31824a2ae8

112. Berthelot M, Yang GZ, Lo B. A Self-Calibrated Tissue Viability Sensor for Free Flap Monitoring. *IEEE J Biomed Health Inform.* 2018;22(1):5–14. doi:10.1109/JBHI.2017.2773998
113. Jeon FHK, Varghese J, Griffin M, Butler PE, Ghosh D, Mosahebi A. Systematic review of methodologies used to assess mastectomy flap viability. *BJS Open.* 2018;2(4):175–84. doi:10.1002/bjs5.61
114. Khavanin N, Qiu C, Darrach H, Kraenzlin F, Kokosis G, Han T, és mtsai. Intraoperative Perfusion Assessment in Mastectomy Skin Flaps: How Close are We to Preventing Complications? *J Reconstr Microsurg.* 2019;35(07):471–8. doi:10.1055/s-0039-1679958
115. Patial T, Kaur A, Mittal R. Use of intraoperative fluorescein dye for prediction of flap viability. *Pol J Surg.* 2022;95(6):46–52. doi:10.5604/01.3001.0016.0662
116. Zhou Z, Yu L, Meng F, Wen J, Xiao Y, Wan S, és mtsai. Study on Blood Circulation Monitoring After the Tissue Transfer of Ultrathin or Conventional Anterolateral Thigh Flaps. *Plast Reconstr Surg - Glob Open.* 2024;12(11):e6337. doi:10.1097/GOX.0000000000006337
117. Kim HH, Song IS, Cha RJ. Advancing DIEP Flap Monitoring with Optical Imaging Techniques: A Narrative Review. *Sensors.* 2024;24(14):4457. doi:10.3390/s24144457
118. Martin RF. Wound Healing. *Surg Clin North Am.* 2020;100(4):ix–xi. doi:10.1016/j.suc.2020.05.012
119. Sorg H, Sorg CGG. Skin Wound Healing: Of Players, Patterns, and Processes. *Eur Surg Res.* 2023;64(2):141–57. doi:10.1159/000528271
120. Akhavan MA, Sivakumar B, Paleolog EM, Kang N. Angiogenesis and plastic surgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008;61(12):1425–37. doi:10.1016/j.bjps.2008.05.041
121. Yousefi S, Qin J, Dziennis S, Wang RK. Assessment of microcirculation dynamics during cutaneous wound healing phases *in vivo* using optical microangiography. *J Biomed Opt.* 2014;19(7):076015. doi:10.1117/1.JBO.19.7.076015
122. Tamas R, Nemeth N, Brath E, Sasvari M, Nyakas C, Debreczeni B, és mtsai. Hemorheological, morphological, and oxidative changes during ischemia-reperfusion of latissimus dorsi muscle flaps in a canine model. *Microsurgery.* 2010;30(4):282–8. doi:10.1002/micr.20699
123. Klarik Z, Tamas R, Toth E, Kiss F, Kovacs EL, Jäckel M, és mtsai. Intra and postoperative evaluations of microcirculation and micro-rheological parameters in a rat model of musculocutaneous flap ischemia-reperfusion. *Acta Cir Bras.* 2015;30(8):551–60. doi:10.1590/S0102-865020150080000006
124. Molnar A, Magyar Z, Nachmias DB, Mann D, Szabo B, Toth L, és mtsai. Effect of short-term ischemia on microcirculation and wound healing of adipocutaneous flaps in the rat. *Acta Cirúrgica Bras.* 2019;34(12):e201901203. doi:10.1590/s0102865020190120000003
125. Zellner EM, Hedlund CS, Kraus KH, Burton AF, Kieves NR. Comparison of tensile strength among simple interrupted, cruciate, intradermal, and subdermal suture patterns for incision closure in ex vivo canine skin specimens. *J Am Vet Med Assoc.* 2016;248(12):1377–82. doi:10.2460/javma.248.12.1377
126. Gökkaya A, Görgü M, Kızıllan J, Karanfil E, Doğan A. The measurement of wound tensile strength and the effect of PRP on wound tensile force: an experimental investigation on rabbits. *J Plast Surg Hand Surg.* 2022;56(1):38–46. doi:10.1080/2000656X.2021.1914637
127. Capek L, Flynn C, Molitor M, Chong S, Henys P. Graft orientation influences meshing ratio. *Burns.* 2018;44(6):1439–45. doi:10.1016/j.burns.2018.05.001

10.2 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/15/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Flaskó Anna

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **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)
2. **Flaskó, A.**, Fazekas, L., Kincses, G., Varga, Á., Mátrai, Á. A., Cziráj, I., Dodity, N., Bácskay, I., Pető, Á., Reglödi, 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)

További közlemények

3. 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)
4. 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)





5. Diószegi, Á., Vass, M., **Flaskó, A.**, Gál, K., Mechler, F., Káplár, M., Csiba, L., Soltész, P.: Analysis of the Correlation between Microvascular Involvement and Neuropathy in Association with Metabolic Disorders in Case of Diabetic Leg Syndrome.
Annals atherosc. res. 1 (2), 1-6, 2018.
6. Diószegi, Á., Vass, M., **Flaskó, A.**, Mechler, F., Káplár, M., Soltész, P.: A diabeteses láb komplex vizsgálata.
Érbetegségek. 23 (3), 47-54, 2016.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 9,9

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
5,2**

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, 2026.01.14.



11. TÁRGYSZAVAK

adipocutan lebeny	adipocutaneous flap
cytocam	cytocam
fasciocutan lebeny	fasciocutaneous flap
haemorheologia	hemorheology
ischaemia-reperfusio	ischemia-reperfusion
microcirculatio	microcirculation
mikrosebészet	microsurgery
szakítószilárdság	tensile strenght
haemorheologia	haemorheology
rekonstrukciós sebészet	reconstructive surgery
sebgyógyulás	wound healing
vörösvérsejt deformabilitás	red blood cell deformability
vörösvérsejt aggregatio	red blood cell aggregation

12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Németh Norbert Tanszékvezető Úrnak, értékes szakmai iránymutatásáért és a folyamatos támogatásáért, emellett hálás köszönet illeti türelméért, tanácsaiért és segítségéért a kutatás és a dolgozat elkészítése során. Nélküle ez a munka nem jöhetett volna létre.

Köszönetemet szeretném kifejezni Dr. Fazekas László Ádámnak, Dr. Varga Ádámnak, Dr. Mátrai Ádám Attilának, Dr. Bedőcs-Baráth Barbarának, Szuhancs Évának, Füzesi Róbertnek illetve a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi Munkatársának, hogy segítették kutatásomat munkájukkal. Köszönet illeti kutatótársamat Dr. Kincses Gergőt is.

Köszönöm az együttműködést azon Kollégáimnak is, akik a kutatások során a társintézmények oldaláról csatlakoztak a közös munkához (DE Gyógyszertechnológiai Tanszék, Anatómia Intézet).

Köszönettel tartozok volt főnökömnek Dr.habil. Szilvássy Juditnak, aki mindig tudományos munkára ösztönzött és támogatott illetve jelenlegi főnökömnek Dr.habil. Sztanó Balázs Klinika Igazgató Úrnak, aki támogatásával lehetővé tette, hogy klinikai munkám mellett a kutatással is foglalkozzak. Köszönöm továbbá a Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinikán dolgozó kollégáimnak a kutatómunkám során nyújtott biztatást és támogatást.

Végül köszönetemet szeretném kifejezni Férfjemnek, Családomnak és Barátaimnak, amiért végig mellettem álltak, hittek bennem és támogattak minden nehézségben, végtelenül hálás vagyok a szeretetükért, türelmükért és bátorításukért.

13. FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények másolatai