

Egyetemi doktori (Ph. D.) értekezés tézisei

**KÍSÉRLETES ÉS KLINIKAI ADATOK
AZ ILEOCOECALIS JUNCTIO
GYERMEKSEBÉSZETI VONATKOZÁSAIHOZ**

Dr. Cserni Tamás
DE OEC Gyermekklinika, Gyermeksebészeti Részleg



Témavezető:

Prof. Dr. Mikó Irén
az orvostudomány kandidátusa

**Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar
Sebészeti Intézet
Sebészeti Műtéttani Tanszék**

**Debrecen
2007.**

BEVEZETÉS

Az ileocecalis junctio és az ileocecalis billentyű élettani feladata kettős, lassítja a béltartalom áramlását, segíti a tápanyagok felszívódását, illetve megakadályozza a vastagbélben honos baktériumok vékonybélbe jutását. Sokáig úgy gondolták, hogy az ileocecalis billentyű passzív egyenirányító szelepként működik. Újabb értelmezés szerint a terminális ileum, az ileocecalis billentyű és a caecum funkcionális egységet képez.

Az ileocecalis junctio hasonlít a gastro-duodenalis junctióhoz, mert mindkettőben az emésztőtraktus két szomszédos, de különböző felépítésű szervei találkoznak, melyek az emésztés folyamatának különböző fázisaiért felelősek. A szomszédos bélszakaszok motilitásának koordinációjában viszont lényeges különbség tapasztalható a két junctio között.

Annak ellenére, hogy az ileális kontrakciók 50-70 %-át nem követi coecalis kontrakció az ileocecalis junctio képes szinkronizálni a vékony- és a vastagbél perisztaltikáját. Ezzel szemben a gastro-duodenalis motilitás teljesen koordinálatlan, azaz a gyomor perisztaltikus hullámai nem terjednek át a duodenumra. Ennek anatómia alapja a körkörös izomrostok között lévő kötőszövetes szigetelésben, illetve a Cajal-féle interstitialis sejtek hálózatában észlelt folytonossági hiányban rejlik.

Az ileocecalis junctio autonóm idegrendszerével kapcsolatos, ezidáig megjelent közleményekből csupán annyi tudható meg, hogy az ileocecalis billentyűben a neuronok és az idegek denzitása nagyobb a környező bélszakaszokéhoz képest.

Az idegrendszer ultrastruktúrájáról, azaz a plexus myentericus térbeli szerkezetéről nincs információnk, nem ismert a vékonybél és a vastagbél autonóm idegrendszere közötti átmenet anatómiája és a Cajal-féle interstitialis sejtek hálózata sem. Az ileocecalis billentyű enterális idegrendszerének

részletes anatómiai ismerete elengedhetetlen az ileocecalis motilitás megértéséhez.

Az egyik leggyakrabban előforduló csecsemőkori akut sebészeti megoldást igénylő kórkép a primer (vezetőpont nélküli) invaginatio a legújabb elméletek szerint az ileocecalis junctio motilitási zavarával magyarázható. Az invaginatio kísérletes modelljében bakteriális lipopoliszacharid injekció hatására a myentereikus neuronokból nagy mennyiségben nitrogén-oxid szabadul fel, ami a bél motilitási zavarához vezetve invaginációt okoz. Ebből adódik az a kérdés, hogy az ileocecalis junctio nitricus innervációjának tulajdonságai magyarázhatják-e az invaginatio jellegzetességeit.

Az ileocecalis junctio újszülöttkori ileust okozó, veleszületett atresiája rendkívül ritka. Az irodalomban összesen három esetet közöltek eddig (8,21). Mindhárom esetben az ileocecalis billentyűt membrán zárta el. Az ileocecalis billentyű teljes agenesiája csupán egy közleményből ismert, de ebben az esetben ileocolicus fistula kialakulása miatt a diagnózisra csak felnőttkorban derült fény. Munkacsoportunk elsőként számolt be újszülöttkori ileust okozó veleszületett ileocecalis billentyű agenesiáról. Felhívtuk a figyelmet a membrános elzáródás és az agenesia elkülönítésének jelentőségére és a műtéti stratégia különbségeire, újszülöttkori szempontjaira.

Az ileocecalis billentyű sebészeti resectiójára különböző okok miatt kerülhet sor, például ileocecalis vékonybél-atresia, vagy akut újszülöttkori necrotizáló enterocolitis (NEC), ileocecalis invaginatio, ritkán coecum volvulus vagy súlyos szövődményekkel járó Crohn betegség miatt kialakult nekrozis, továbbá a NEC késői szövődményeként az ileocecalis billentyűben kialakult szűkület miatt. Az ileocecalis billentyű elvesztésével megszűnik a coeco-ilealis refluxgátlás, emiatt a vastagbél baktériumok kolonizálhatják a terminális ileumot, gyulladással reagálhatnak, növelhetik a Crohn betegség recidívájának esélyét. Innen ered az elvesztett ileocecalis billentyű pótlásának

alapötlete. Az ileocecalis billentyű pótlására szolgáló sebészeti megoldások közül a legismertebb a vékonybél invaginációjával képzett művi szelep. Ezek a szelepek -mai ismereteink szerint- csupán passzívan helyettesítik az ileocecalis billentyűt, de hatékonyságukat több kísérlet is alátámasztja. Az ileocecalis billentyű elvesztésével megszűnik az ileocecalis anterograd passzázs kontroll is. A terminális ileum felgyorsult kiürülése miatt csökken a felszívódó zsírok, vitaminok, mineraloidok mennyisége. Masszív bélrezekciót követően, a parenteralis táplálás mai színvonalán intakt ileocecalis billentyű mellett minimum 11 cm hosszúságú egészséges vékonybél szükséges a túléléshez, míg ileocecalis billentyű nélkül ennek kétszeresére, azaz kb. 25 cm vékonybéltre van szükség. Az ileocecalis billentyű pótlásának célja az életkilátások közvetlen növelése és a nem éppen szövődménymentes és drága tartós parenteralis táplálás tartamának rövidítése.

Az invaginált szelepekkel kapcsolatos, eddig ismert tanulmányok főként a refluxgátló tulajdonság pótlására összpontosítanak, pedig az előbb felsoroltak miatt a gyermeksebészi gyakorlatban a béltartalom anterograd áramlásának lassításának is komoly jelentősége van. Nem található irodalmi adat arra vonatkozóan, hogy az invaginált szelepek anterograd és retrograd hidrosztatikai paraméterei hogyan viszonyulnak egymáshoz és az ileocecalis billentyű hasonló paramétereire. Arra sincs irodalmi adat, hogy hogyan változnak ezek az értékek az invaginált szelepek hosszának függvényében, pedig az optimális ileocecalis billentyű pótlás megtervezéséhez ezek az adatok igen fontosak.

Az ileocecalis junctio refluxgátló képességének felhasználása más szervek sebészetében nem új ötlet. Eltávolított gyomor, vagy gége pótlására is használták már. A gyermeksebészetben az extrahepaticus epeút atresia primer rekonstrukciójára alkalmazták. A biliaris atresia ma is első lépcsős kezelésének számító Kasai-féle porto-enterostomia leggyakoribb (közel 80%) szövődménye a postoperatív cholangitis. Míg a korábbi irodalmi adatok az invaginált

vékonybél-szelepek hatékonyságáról számoltak be a postoperatív cholangitis megelőzésében, az újabb közlemények szerint az antireflux technikák nem befolyásolják a cholangitis gyakoriságát. Ezek az adatok azt sugallják, hogy a postoperatív cholangitis kialakulásában az ascendáló fertőzésnek kis szerepe van. Ugyanakkor más tanulmányok azt bizonyítják, hogy a cholestatikus máj különösen fogékony az ascendáló fertőzésekre. Ezért egy mikrobiológiailag hatékony bilioentericus anastomosistól elvárható, hogy csökkentse a postoperatív kockázatot. Elképzelhető, hogy a nagy hidrosztatikai antireflux ellenállás ellenére az invaginált szelepek nem bírnak megfelelő mikrobiológiai hatékonysággal, és ezért voltak hatástalanok a klinikumban. Az ileocecalis billentyűt porto-enterostomaként használó tanulmány szerint a postoperatív cholangitis gyakorisága 10%-kal csökkent az eredeti Kasai műtétekhez képest. Vajon az ileocecalis billentyű lényegesen kisebb hidrosztatikus antireflux hatékonyság mellett jobb mikrobiológiai barrier? Nem található arra utaló adat az irodalomban, hogy hogyan viszonyul egymáshoz a hidrosztatikai ellenállás és a mikrobiológiai hatékonyság a különböző antireflux szelepekben.

Kutatásaim során tehát gyermeksebészeti szemszögből kívántam vizsgálni az ileocecalis junctio jelentőségét. Így az ileocecalis junctio motilitásának neuroanatómiai hátterét, a csecsemőkorban gyakran előforduló motilitási zavarának, a primer vezetőpont nélküli invaginációk neuroanatómiai összefüggéseit, fejlődési rendellenességeinek (atresia, agenesia) műtéti megoldásait, az ileocecalis billentyű pótlásának nehézségeit és az extrahepaticus biliaris atresia rekonstrukciójában történő felhasználás előnyeit. Célkitűzéseimet ennek megfelelően állítottam össze.

CÉLKITŰZÉSEK

1. Különböző korú sertésekből származó ileocoecalis billentyűkön az ileocoecalis junctio mikroszkópos anatómiájának feltérképezése, az ileocoecalis billentyűn belüli izomrétegek és az enteralis idegrendszer szerkezetének vizsgálatával.
2. A „Whole-Mount” preparálás technikájának adaptálása az ileocoecalis billentyűre, a plexus myentericus térbeli szerkezetének tanulmányozása céljából.
3. Az ileocoecalis plexus myentericus postnatalis változásainak összehasonlító vizsgálata újszülött-, 4 hetes-, 12 hetes és felnőttkorú sertésből származó ileocoecalis billentyűkben.
4. Az ileocoecalis billentyű atresia és agenesis műtéti megoldásának tárgyalása egy klinikai esetismertetésünk kapcsán.
5. Az ileocoecalis billentyűpótlás műtéti technikájának kidolgozása keverék kutyákon, az invaginált vékonybél-szelepek készítése, az ileocoecalis billentyű hidrosztatikai paramétereinek felmérése az optimális invaginált szelephossz megválasztása céljából.
6. Az ileocoecalis billentyű felhasználásának vizsgálata a biliaris atresia sebészetében is használt modellen.
7. Az ileocoecalis junctioval készített bilioentericus anastomosis mikrobiológiai hatékonyságának összehasonlítása más bilioentericus anastomosisokkal (meghosszabbított Roux-Y jejunum kacs, invaginált vékonybél-szeleppel rendelkező Roux-Y).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Ileocoecalis junctio mikroszkópos anatómiája

Kísérleti állatok, szövettani mintavétel

A terminális ileum, az ileocoecalis billentyű és a caecum kezdeti szakasza 60 napos sertés embrióból, újszülött, 4 hetes, 12 hetes és felnőtt házi sertésekből származik, melyeket a Dán Institute of Experimental Clinical Research, Skejby Sygehus, University of Aarhus-tól kaptunk az enterális idegrendszer vizsgálata céljából, a Dán Állatvédelmi Hatóság engedélyével. Engedély szám: 200601-068S. A bélszakaszok fixálása 48 órán keresztül, 4%-os paraformaldehid oldatban, a további tárolása feldolgozásig foszfát pufferben (PBS), 4 °C hőmérsékleten történt.

Izomrétegek vizsgálata (Haematoxylin-eosin festés)

Paraffinba ágyazott, illetve folyékony nitrogénben fagyasztott mintákból 8-10 µm vastagságú metszeteket készítettünk a bél tengelyével párhuzamosan (longitudinalis), illetve haránt irányban. A metszeteket 55 °C-on 90 percig, majd xylenben 2x5 percig deparaffinizáltuk, 100%-os, 80%-os és 70%-os alkohol oldatban rehidráltuk egyenként 1 percig, majd 20%-os Haematoxylin oldatbanban festettük 10 percig. Ezt követően 5 perc folyóvízes mosás után 1%-os Eosin oldatban 1 percig festettük, 70%, 80%-os és 100%-os alkohol oldatokban 1-1 percig, xylenben 2x5 percig dehidráltuk, majd „Glycerogel mounting medium” segítségével tartósítottuk, és fedőlemezzel fedtük.

Enterális idegrendszer vizsgálata hosszanti és haránt metszeteken

Acetil-kolin-észteráz (AChE) festés

A szövetmintákat 10 ml 65 mM-os (pH 6.0) natrium acetát pufferben oldott, 1.7 mM acetiltiokolinjodidot, 5 mM natrium citrátot, 3 mM rézszulfátot, 0.5 mM káliumferricianátot tartalmazó oldatba helyeztük, és 37 °C fokon a

kellő intenzitás eléréséig inkubáltuk. Majd „Glycergel mounting medium” (Dakocytomation) segítségével fedőlemezzel fedtük.

Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát-diaforáz (NADPH-d) festés

A fagyasztott metszeteket, illetve a Whole-Mount preparátumokat 1 mg/ml β -NADPH-t (Sigma), 0,25 mg/ml nitro-blue-tetrazoliumot, 0.3% Triton-X-et tartalmazó 0.05 mol/l Tris-HCL puffer oldatban (pH 7.6) 37 °C-on 2 órán keresztül, ezután szobahőmérsékleten másnapig inkubáltuk, majd „Glycergel mounting medium” (Dakocytomation) segítségével konzerváltuk és fedőlemezzel fedtük.

Protein Gene Product 9.5 (PGP 9.5) immunhisztokémia

A paraffinba ágyazott metszeteket gondos deparaffinálásnak vetettük alá 90 perc 55 °C-on szárazon, majd 2x5 perc xylenben. Az antigén feltárást citrat pufferben (pH: 6) mikrohullámú sütőben 650 W teljesítmény mellett 7 percig végeztük. A metszeteket jégen 45 percig hűtöttük, majd foszfát pufferben 2x5 percig mostuk. A mintákat a tárgylemezeken jelölő tollal körberajzoltuk, majd a metszeteket nedves kamrába raktuk és 10 %-os kecske szérummal (Dakocytomation) maszkoltuk 30 percen keresztül. A kecskeszérumot a tárgylemezről leráztuk, majd a mintákra nyúlban készült PGP 9.5 anti-human antitestet (Dakocytomation) csepegtettünk, melyet 1:500 arányban hígítottunk antitesthígító folyadékban (Antibody dilutant, Dakocytomation). Az első antitestet 4°C-on másnapig inkubáltuk. A következőkben a metszeteket foszfát pufferben 2x5 percig mostuk, majd a metszetekre csepegtettük a „Texas Red” fluoreszcein festékkel jelölt második kecske anti-nyúl antitestet (Eugene, Oregon USA), melyet korábban 10%-os kecske szérumban 1:100 arányban hígítottunk. A mintákra „Fluorescein mounting mediumot” (Dakocytomation) csepegtettünk és a metszeteket fedőlemezzel fedtük.

C-kit immunhisztokémia

Hasonlóan az előző pontban részletezett módon deparaffinizálás, rehidrálás, antigénfeltárás, maszkolás után a metszeteket nyúlban készült anti-human C-kit antitesttel (Dakocytomation) inkubáltuk, melyeket korábban 1: 50 arányban hígítottunk antitesthígító folyadékban. A második antitestként szintén kecskében készült, „Texas Red” fluoreszcein festékkel jelölt anti-nyúl antitestet (Eugene, Oregon USA) használtunk.

Postnatis változások az ileocoecalis junctio plexus myentericusában

A vizsgálatba újszülött, 4 hetes, 12 hetes és felnőtt sertésből származó ileocoecalis billentyűt vontunk be, minden korcsoportból 3 darabot.

Whole-Mount technika alkalmazása

Az úgynevezett Whole-Mount technika a hagyományos fagyasztott, vagy paraffinba ágyazott metszetekkel szemben lehetőséget ad a plexus myentericus térbeli szerkezetének tanulmányozására.

Az ileumon és a coecumon a Whole-Mount preparálás, azaz a plexus myentericus feltárása a bél körkörös és hosszanti izomrostjai között nem jelent különösebb nehézséget. Dissectiós mikroszkóp (Leica, Germany) segítségével a bélmintáról gondosan eltávolíthatók a mesenterium maradványai és a serosa. A bélszakaszok hosszirányban, a mesenterium mentén való felhasítása után a nyálkahártya finom csipesz nyelével óvatosan lekaparható. A submucosa a minta szélén finom csipesszel megragadva az izomrétegről finoman lefejtethető.

Ezek után a belső körkörös izomrostokat egyenként kell eltávolítani úgy, hogy szinte csak a külső hosszanti rostok maradjanak. Vastagabb mintánál (12 hetes és felnőtt sertés esetében) a longitudinális rostokat is érdemes ritkítani, mert később tisztább kép kapható a mikroszkópiánál. A preparálás során törekedni kell a minél vékonyabb preparátum készítésére, de kerülni kell a

plexus myentericus roncsolását. A plexus myentericus natív állapotban a dissectiós mikroszkóp alatt nem látható. A jobb eredmény érdekében a preparálást a két izomréteg határán érdemes megszakítani, és NADPH-d festés után folytatni.

Az ileocecalis billentyűn (azaz a terminális ileum intracoecalis része) a Whole-Mount preparálás korántsem egyszerű. Magát a billentyűt először ilealis és coecalis részre kell választani. A dissectiós mikroszkóp segítségével ez könnyen kivitelezhető. A mucosa eltávolítása után a submucosa lefejtése nem okoz nagyobb gondot. A cirkuláris izomrostok eltávolítása viszont sokkal nehezebb, mint a bél más részén, mert egy vékony hártya sokkal erősebben akadályozza a műveletet.

A myentericus ganglionok illetve neuronok számolása

Konvencionális fénymikroszkópia segítségével megszámláltam a ganglionok, a neuronok számát négyzetcentiméterenként, illetve a neuronok számát gangliononként. A számolást miliméteres beosztású, 1 cm^2 nagyságú graticula (a metszetre helyezhető, a miliméterpapírhoz hasonló, átlátszó rács) segítségével végeztem. Az újszülött mintákon 0.25 cm^2 -es területen történt a számolás, mivel itt a minta nem volt elég nagy, így nem tett ki 1 cm^2 -t. Az így kapott számokat 4-gyel megszoroztam. A ganglionokban lévő neuronokat 25 egymás mellett lévő ganglionban számoltam meg, függetlenül annak alakjától, méretétől, kerülve az ún. "könnyen számolható" ganglionok vizsgálatát. Az 1 cm^2 -re eső neuronok számát a ganglionok számának és az átlagos ganglion / neuron szám szorzataként kalkuláltam. Az eredmények statisztikai analízise Microsoft Excel-ben, one-way Anova teszt segítségével történt.

Az ileocecalis billentyű atresia és agenesia sebészeti megoldása

Esetismertetés

Egy 4200 g-mal, a 41. gesztációs héten farfekvés miatt sectióval született, egy napos fiú újszülöttet haspuffadás és meconium ürítés elmaradása miatt referáltak a gyermeksebészeti osztálynak. Az anya terhesség alatt gyógyszert nem fogyasztott. A függesztett natív hasi röntgenképen folyadéknívókkal telt tágult vékonybélkacsok ábrázolódtak, az alhasi gázárnyékok hiányoztak. A gastrographinos irrigoscopia microcolont igazolt, a kontrasztanyag a colon transversum közepéig jutott.

Ileum atresia gyanújával laparotomiára került sor. A pontos diagnózis csak a műtőasztalon derült ki. A műtét során tágult terminális ileumot találtunk, melyhez egy kb. 6 cm-es elzáródott atrophias coecumnak és colon ascendensnek megfelelő bélszakasz tapadt. Ezen a bélszakaszon appendix vermiformis és tenia coli nem volt felismerhető. A mesenteriumon V-alakú deffectust is észleltünk, egyéb forgási rendellenességet nem tapasztaltunk. Az ileum vége nem csatlakozott a coecumhoz úgy, ahogyan ileocecalis billentyű atresia esetén leírták. Az atresiás ileum kifejezetten tág volt, a coecum hypoplasiás, a colon pedig „microcolon”. Az atresiás bélszakaszt resecáltuk a terminális ileum 8 cm-es aboralis tágult szakaszával együtt, majd Dennis-Brown anastomosist készítettünk, a bélveszteséget minimálisnak ítéltük.

A gyermek meconiumot ürített a 2. postoperatív napon. Oralis táplálását az 5. napon elkezdtük. Műtét után 8 hónappal panaszmentes, a súlya a 30-as percentil értéken belüli.

A pathologiai és szövettani vizsgálat megállapította az ileocecalis billentyű agenesiáját és az appendix vermiformis továbbá a colon ascendens atrophiját, a tenia coli hiányát.

Megfelelő billentyűpótlás

Kísérleti állatok

Az kísérletsorozat e szakaszát, a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának engedélyével (DEMÁB 16/2000), az 1998. évi XXVIII, „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény messzemenő betartásával végeztük. Kísérletünkben 5 db 18-22-kg testsúlyú, egészséges keverék kutyán végeztünk műtéteket. Ennek során az állatokat, 2-4 hét megfigyelés után (amely magába foglalja a szükséges állatorvosi kezelést, illetve oltásokat is) vontuk be a kísérletekbe. Az állatokat egyedi ketrecben tartottuk, normál vegyes étrendet, vízhez való szabad hozzáférést, és az állat igényei szerinti szabad mozgás lehetőségét biztosítva. A 18-22 °C hőmérsékletű helyiségekben a fényciklus a napszaknak megfelelő volt. A műtéti érzéstelenítést ketamine (10 mg/kg), xilazine (1 mg/kg) frakcionált intramuscularis adagolásával végeztük, a vérnyomás, a pulzus, a testhőmérséklet folyamatos monitorizálása mellett. A kísérletek végén az állatokat narkózisban, intracardialisan adott KCl oldattal extermináltuk.

A bélszakaszok izolálása

Median laparotomia után 150 cm hosszúságú vékonybél, jejunum és ileum szakaszt öt egyenlő, 30 cm hosszúságú (A, B, C, D és E) szegmensre daraboltunk, úgy, hogy a belet átvágtuk, de a bélszakaszok keringését megtartottuk. Egy az ileocecalis szelepet magába foglaló 15 cm hosszúságú terminális ileumot és 15 cm, a coecumot és ascendens colont tartalmazó bélkacsot is elkülönítettünk (F-kacs).

Az A-kacsban nem készítettünk szelepet, így csupán a megőrzött keringésével és motilitásával kontroll csoportnak tekintettük. A B, C, D és E-

kacsokban 4, 5, 6 és 7 cm hosszúságú invaginált szelepet készítettünk. A bél kalibere, a falvastagsága, nem tért el lényegesen egyik csoportban sem. A bélkacsok keringését és motilitását a mesenterium megóvásával és a bélfal óvatos kezelésével próbáltuk megőrizni, a kihűléstől 37°C-os fiziológiás sóoldat alkalmazásával védtük.

Hidrosztatikai nyomásmérés módszere

Az izolált bélszakaszok mindkét végében 12 Ch-es Foley ballon katétert helyeztünk. A ballont felfújtuk, és 1/0-ás len fonállal a belet a katéterre kötöttük. A humán gyógyászatban használt infúziós szerelékert és infúziós palackot csatlakoztattunk a katéterek végére. Az infúziós állványra egy kihúzott állapotban lévő mérőszalagot rögzítettünk úgy, hogy annak nulla pontja a műtőasztalon lévő állat magasságában legyen. A kísérletben a közlekedő edények elvét használtuk. Az infúziós palack lassú (kb. 5 cm/min) emelésével növeltük a bélszakaszban kialakított hidrosztatikai nyomást. A nyomás értékét vízcentiméterben fejeztük ki, melyet az infúziós állványon lévő mérőszalagról olvastunk le. Töltőfolyadéknak Gastrographin és 0.9%-os sóoldat 1:2 arányú keverékét használtuk, melynek sűrűségét megmértük és gyakorlatilag a víz sűrűségével egyenlőnek találtuk. A bélszakaszok telődését, folyamatos átvilágítás mellett, RTG képerősítőn követtük. A pillanatnyi nyomásértéket, amely mellett a kontrasztanyag éppen átjutott a bélkacson vagy a szelepen, a mérőszalagról leolvastuk. Elsőként anterograd irányú töltéseket végeztünk, majd a kontrasztanyag alapos kiöblítése után retrograd irányban, a bélkacs másik végébe illesztett katéteren keresztül megismételtük a méréseket.

Invaginált vékonybél-szelepek készítése

A bélfalat az izolált bélszakaszok közepén, körkörösén a bél kerülete mentén, egymástól egyenlő távolságra seromuscularis öltésekkel felöltöttük.

Az öltéseket a bél kerülete mentén egymástól 10 mm-re helyeztünk el. Az öltéseket megcsomózva a begyűrődő bélfalat aborális irányba invagináltuk. A vizsgálni kívánt szelepek minimum és maximum hosszának meghatározásánál a következő szempontokat vettük figyelembe:

1. Ha a bélfalba helyezett öltések, a bél hossz tengelye mentén egymástól X cm távolságban vannak, akkor az invaginált szelep szárnyainak hossza X/2 cm lesz. Ahhoz, hogy olyan szelepet alakítsunk ki, melynek a szárnyai a bél lumenében összeérnek, az X távolság el kell hogy érje a béllumen átmérőjének hosszát. A kísérletben használt állatok átlagos bélátmérője 4 cm volt. Ezért az invaginálandó bélszakasz minimális hosszát 4 cm-ben határoztuk meg.

2. Előkísérletben 4, 5, 6, 7, 8, 9 és 10 cm-es hosszúságú szelepeket készítettünk, hogy megvizsgáljuk az invagináció a bélfal keringésére kifejtett hatását. Három óra elteltével az öltéseket kivéve megfigyeltük az invaginált bélfal állapotát. A 7 cm-nél hosszabb invaginatumokon már enyhe pangás jeleit véltük felfedezni, ezért a kísérletben használt invaginatumok maximális hosszát 7 cm-ben határoztuk meg.

Statisztikai analízis

Statisztikai analízist SigmaStat 1.0 software (Jandel Scientific Co., Erkrath, Germany) és nonparametrikus teszt segítségével végeztük. One-way RM ANOVA és Student-Newman-Keuls tesztet, illetve „Mann-Whitney rank sum” tesztet használtunk az anterograd és retrograd ellenállás adatainak összehasonlítására. Az adatokat átlag \pm standard deviáció

(\pm S. D.) formában adtuk meg. A statisztikai szignifikancia értékét $p < 0.05$ -re állítottuk.

Ileocoecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében

Kísérleti állatok

A továbbiakban csupán előkísérletről lévén szó, az előző fejezet részletezett körülmények között 3 kutyán végeztünk vizsgálatokat (I.-III.).

Roux-Y bilioentericus anastomosis készítése

Medián laparotomia után kipreparáltuk a choledochust, melyet a ductus cysticus beszájadzása alatt 1/0-ás fel nem szívódó (Ethibond) fonállal kettősen lekötöttünk és a lekötések között átvágtunk. Az első jejunumkacsot átvágtuk és az aborális véget a mesocolonon készített lyukon áthúzva, az epehólyag fundusához anastomizáltuk két rétegű csomós varratsorral, nem felszívódó 4/0-ás (Ethibond) fonállal. A vékonybél folytonosságát end-to-side jejunojejunosztómiával állítottuk helyre. Az I. állatnál a felhúzott jejunum kacs hosszúsága 60 cm volt.

A II. állatnál a 40 cm hosszú jejunum kacsban egy 4 cm hosszúságú invaginált szelepet készítettünk a korábbiakban részletezett módon.

Bilioentericus anastomosis készítése az ileocoecalis junctio felhasználásával

A III. állatnál a biliodigestiv anastomosist az ileocoecalis billentyűt magába foglaló terminális ileum-coecum kaccsal végeztük a choledochus lekötése után. Elsőként a coecumot kellett mobilizálnunk, majd a bélkacsot a mesenterium feszülése nélkül, a mesocolonon áthúzva, az ileum felöli végénél az epehólyaggal anastomizáltuk. A coecalis véget end-to-side anastomosissal a jejunumba varrtuk. A bél folytonosságát end-to-end ileocolosztómiával állítottuk helyre.

Fajidegen „teszt” kórokozók alkalmazása

Egy héttel később az állatok táplálékába 10^5 human eredetű, *Enterococcus faecalis* baktériumot (ATCC törzs 80171, Mc Farland > 7.5) kevertünk. Kutya emésztőtraktusában ez a törzs nem fordul elő, erről a kísérlet előtt széklettenyésztéssel meg is győződünk.

Mikrobiológiai mintavétel

Huszonnégy óra elteltével az állatokat újból elaltattuk, laparotomiát hajtottunk végre és megfigyeltük az elkészült biliodigestiv anastomosisokat. Steril tűvel és fecskendővel mikrobiológiai mintát vettünk a jejunumból az epe beömléstől proximálisan, majd disztálisan. Továbbá mintát vettünk az epehólyagból, és az epét elvezető bélszakasz aborális a jejunum felé eső végéből. A mintákat szelektív táptalajra oltottuk, amelyen csak a beadott törzs képes szaporodni. A tesztek eredményét 72 óra múlva leolvastuk, és minden csoportban összehasonlítottuk.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Az ileocoecalis junctio mikroszkópos anatómiája

Haematoxylin-eosin festés eredménye:

Az ileocoecalis billentyű keresztmetszeti képén, a lumen belseje felől kifelé haladva, jól láthatóak a következő rétegek: ileum nyálkahártya, ileum submucosa, ileum belső körkörös izomrostjai, egy egységes hosszanti izomréteg, majd egy újabb körkörös izomréteg a coecumból, a coecum submucosája és a coecum nyálkahártyája. Az egységes hosszanti izomréteg az ileum és a coecum hosszanti izomrétegeinek összeolvadásával jött létre, közöttük kötőszövetes réteg, ami az ilealis illetve a coecalis serosa folytatása

lenne, nem látható. A billentyű csúcs hosszmetzetének vizsgálata során feltűnt, hogy a fuzionált hosszanti rostok belesugároznak a körkörös rostokba. Az ileum körkörös rostjai közvetlenül érintkeznek a coecum körkörös rostjaival a billentyű szabad végén.

Acetil-kolin-észteráz (AChE) festés

Az AChE festéssel mind a keresztmetszeti, mind a hosszmetzeti képen jól láthatóvá váltak az AChE pozitív idegrostok és ganglionok. A festés ábrázolja az enteralis idegrendszer speciális struktúráját az ileocoecalis billentyűben: az ilealis felületés és mély submucosus plexust, az ilealis plexus myentericust, az ezekkel párhuzamosan, azaz a térben coaxialisan futó coecalis plexus myentericust, a felületés és mély submucosus plexusokat.

NADPH-d festés

Az NADPH-d festéssel festődő neuronok nagy számban találhatóak az ileocoecalis billentyű idegrendszerében és hasonlóképpen kirajzolják az plexusokat.

PGP 9.5 immunhisztokémia

A PGP 9.5 panneuronális cytoplasmikus marker immunhisztokémia segítségével a plexus myentericus ganglionjainak teljes nagysága, illetve a ganglionok közötti kapcsolat jobban megítélhető. A harántmetzeteken a plexusok coaxiális elhelyezkedése látható.

A hosszmetzeteken a plexus folytonossága jól követhető. Azaz a vékonybél enteralis plexusai és a vastagbél plexusai között nincs szembetűnő folytonossági hiány. Különösen jól megfigyelhető ez a billentyű csúcsáról készült felvételeken. Az idegrendszer folytonossága a 60. gesztációs napon is jól megfigyelhető.

Cajal-féle interstitialis sejtek eloszlása

A C-kit immunhisztokémia már az embrionális korban megmutatta a myentericus Cajal sejt-hálózat jelenlétét. A hálózat folytonosságában hiány nem észlelhető.

A plexus myentericus térbeli szerkezete

A Whole-Mount preparálás és az NADPH-d festés segítségével láthatóvá vált a plexus myentericus térbeli hálózatos szerkezete. A plexus háló denzitása eltér a terminális ileumban, az ileocoecalis billentyű ilealis plexusában és a coecumban is. Az ileocoecalis billentyű coecalis plexusának szerkezete a coecum plexusától látszólag nem különbözik. A fénymikroszkóp legkisebb objektívjével készített felvételei ugyan részletgazdag képet adnak a ganglionokról, a bennük lévő neuronokról, de a dissectiós mikroszkóppal kisebb nagyítással készült felvételeken nagyobb területről kaptunk átfogó képet. Itt még jobban szembetűnik az ileális eredetű ileocoecalis billentyű plexus sűrűbb fonata és megfigyelhető a coecalis eredetű ileocoecalis billentyű plexus és a coecum fonatának hasonló mintája.

A plexus myentericus postnatalis változásai

A ganglionok és a neuronok számának változásai:

A ganglionok száma minden korcsoportban az ileocoecalis billentyű plexusában a legnagyobb. A ganglionok számát illetően a legnagyobb különbség az ileocoecalis junction belül az újszülött korcsoportban volt, és ez a különbség az élekor előrehaladtával csökkent.

A ganglionokban lévő neuronok száma az életkorral nő ugyan, de e tekintetben, egy korcsoportban nem volt szignifikáns különbség az ileocoecalis junction belül.

Ezen adatokból nem meglepő, hogy a „neuronok száma / cm²” grafikon, melyet a „ganglionszám / cm²” és a „neuronszám / ganglion” értékek szorzatából kaptunk a „ganglionszám / cm²” grafikon jellegzetességeit mutatják.

Az invaginatio lipopoliszacharid indukálta kísérletes modellje rámutatott, hogy a primer vezetőpont nélküli invaginatio a bél motilási zavarának következtében alakul ki, mely összefügg a fokozott neuronális nitrogén-oxid felszabadulással. Az invaginációk többsége ileocecalisan történik. Ez azt jelenti, hogy az ileocecalis billentyű pathológiás relaxációja komoly szerepet játszik a folyamat kialakulásában. Vizsgálataim során az ileocecalis billentyűben találtam a legtöbb nitricus neuront. Ez véleményem szerint azt is jelenti, hogy megfelelő stimulus hatására, a nitrogén-oxid itt szabadul fel a legnagyobb helyi koncentrációban, azaz pathológiás motilitási zavar, kóros relaxáció itt alakul ki legkönnyebben. Ez a feltételezés magyarázza, hogy a primer invaginatio folyamata miért éppen az ileocecalis billentyűben kezdődik. Feltételezésem szerint az ileocecalis billentyűben leírt nagyszámú nitricus neuronból felszabaduló nagy mennyiségű nitrogén-oxid a sphincter kóros relaxációjához vezet, amely a terminális ileum ileocecalis invaginációját eredményezi vezetőpont hiányában is.

Tanulmányomban mind a terminális ileum, az ileocecalis billentyű és a caecum plexus myentericusában a nitricus neuronok számának kifejezett csökkenését észleltem az életkor előrehaladtával. A nitricus sejtek számának, denzitásának csökkenése miatt az életkor előrehaladtával egyre kisebb a veszélye a túlzott mennyiségű nitrogén-oxid felszabadulásnak adott szövetmennyiségben. Ez a jellegzetesség véleményem szerint, magyarázatot ad arra, hogy miért nem jellemző a primer invaginatio idősebb gyermek, illetve felnőttkorban.

Az ileocecalis billentyű atresia és agenesia sebészeti megoldása

A harmadik fejezetben az általunk publikált eset megerősíti, hogy az ileocecalis junctio atresiájának két formája van: membrános elzáródás illetve agenesia. A két típus elkülönítésének jelentősége az eltérő műtéti megoldásban rejlik. Amennyiben az ileocecalis billentyű membrános elzáródásával állunk szemben, a billentyűn végzett plasztika, a membrán resectioja, az ileocecalis billentyű megmentése eredményezi a legfiziológiásabb megoldást a komplett resectioval és esetleges pótlással szemben. Az agenesia sebészi kezelése felveti az ileocecalis billentyű helyettesítésének szükségességét. Amennyiben a resectio során elvesztett bél hossza nem szignifikáns, és a vékonybél hosszát megfelelőnek ítéljük, az ileocecalis billentyű helyettesítése nem feltétlenül szükséges. Hosszú vékonybélszakasz elvesztése esetén, mely hosszantartó parenteralis táplálás, „rövidbél” szindróma veszélyével fenyeget az ileocecalis billentyű helyettesítés hasznos lehet.

Megfelelő billentyűpótlás

Az invaginált vékonybél-szelepek meglepően nagy antireflux hatékonysággal bírnak az anterograd elleálláshoz képest. Ezzel szemben az ileocecalis billentyű anterograd és retrograd hidrosztatikus ellenállása közel egyforma. A legrövidebb (4 cm) invaginált vékonybél-szelep anterograd ellenállása nem éri el az ileocecalis billentyűét. Ez magyarázható a két szelep különböző struktúrájával.

Az invaginált vékonybél-szelep hosszabb szelep száakkal rendelkeznek, de nincs sphincter izomzata, tulajdonképpen passzív szelep, míg az ileocecalis billentyű hidrosztatikus aktivitása inkább az aktív sphincterfunkció következménye, mintsem a rövidebb passzív szelepszárnyak működéséből adódik. Méréseim során a 6 és 7 cm hosszúságúra növelt invaginált vékonybél-

szelep anterograd ellenállása elérte az ileocecalis billentyűnek megfelelő értéket.

Következtetésül levonhatjuk, hogy az aktív ileocecalis billentyűt nem lehet tökéletesen helyettesíteni invaginált passzív szeleppel, de az invaginált bélszakasz hosszának növelésével megfelelő anterograd hidrosztatikus ellenállás érhető el, kifejezetten jó antireflux ellenállás mellett. A lehető legrövidebb invaginált vékonybél-szelep készítése elegendő, ha a fő célunk a hatékony reflux kontrol kialakítása, például Crohn betegség esetén. Ha viszont megfelelő anterograd rezisztencia kialakítása áll előtérben („rövidbél” szindróma), a rövid invaginált vékonybél-szelep, mely egyébként megfelelő reflux kontrollal bír, nem lesz kellően hatékony. Mivel az invaginált vékonybél-szelep anterograd ellenállását a szelep hosszának növelésével fokozni lehet, hosszabb invaginált vékonybél-szelep készítése indokolt az ileocecalis billentyű fiziológiásabb helyettesítése érdekében. További vizsgálatokra van szükség a hosszabb invaginált vékonybél-szelep hosszútávú hatékonyságának ellenőrzése a klinikai alkalmazás bevezetése előtt.

Az ileocecalis billentyű felhasználásának vizsgálata biliaris atresia sebészetében

A bilioentericus anastomosisok biológiai próbájának eredménye

A mikrobiológiai mintavétel időpontjáig, egy hétig, tünetmentesek voltak. Icterusra utaló tünetük sem volt. A második műtét során gyógyult anastomosisokat találtunk. A conduitokban az epe látható volt, de elfolyási zavarnak, pangásnak nyomai nem voltak felfedezhetők.

A mikrobiológiai tesztek eredményei

Csak az ileocoecalis billentyű védte ki az ascendáló fertőzést. Sem a meghosszabbított, sem az invaginált vékonybél-szeleppel felszerelt Roux-Y kacs nem akadályozta meg a felszálló fertőzést.

Az ileocoecalis billentyű a lényegesen kisebb hidrosztatikus antireflux hatékonyság mellett jobb mikrobiológiai barriernek bizonyult az invaginált szelepeknél. Emiatt arra következtethetünk, hogy csupán a hidrosztatikai antrireflux hatás nem jelent megfelelő mikrobiológiai hatékonyságot. Ez magyarázhatja, hogy az invaginált szelepek miért nem bizonyultak hatékonyak a postoperatív cholangitis megelőzésében.

Az ileocoecalis billentyű mikrobiológiai hatékonysága feltehetően nem csupán a hidrosztatikus ellenállásából következik, egyéb tényezők pl. aktív reflexek, Peyer plakkok jelenléte komoly szerepet játszhatnak a funkciójában.

Következtetésként elmondhatjuk, hogy az ileocoecalis billentyű mint bilioentericus conduit hatékonyabb lehet a postoperatív cholangitis megakadályozásában a korábbi portoenterosztómáknál. Ezért érdemes tovább vizsgálni alkalmazásának lehetőségeit.

A továbbiakban, növelni szeretnénk a kísérletbe bevont állatok számát és túlélési idejét. A „fajidegen” baktériumok helyett az állatok saját baktériumainak a májra kifejtett közvetlen hatását is szeretnénk vizsgálni epeút rekonstrukciót követően. A klasszikus szövettani vizsgálatokon kívül egyéb érzékeny módszerekkel, immunhisztokémia és reverz polimeráz láncreakció (rtPCR) segítségével szeretnénk vizsgálni a különböző gyulladási mediatorok (TGF β , monocyta chemoattractant protein 1 (MCP1), interleukin 1 és 6 (Il1, Il6) expresszióját amájban.

Elért fontosabb új eredmények és következtetések összegzése

1. Elsőként számoltunk be az ileocoecalis billentyű idegrendszerének térbeli szerkezetéről, és arról, hogy az ileocoecalis billentyű autonóm idegrendszere két egymástól jól elkülöníthető, ilealis és coecalis eredetű myentericus-, mély- és felületes submucosus plexusokra bontható.

2. Elsőként sikerült a Whole-Mount preparálási technikát adaptálni és alkalmazni a különböző korú sertésekből származó ileocoecalis billentyűkben.

3. Szövetani vizsgálatokkal kimutattam, hogy a két különböző eredetű, coaxiális helyzetű plexus az ileocoecalis billentyű szabad végénél összeköttetésben van és a plexus myentericust övező -az ún. „lassú myoelektromos potenciál hullám” terjedéséért felelős- Cajal-féle interstitialis sejtek láncolatában nincs folytonossági hiány.

4. Az ileocoecalis billentyű plexus myentericusában észlelt nitricus hyperinnervatio magyarázatot ad arra, hogy a primer invaginatio miért az ileocoecalis billentyűben kezdődik.

5. A postnatalis vizsgálataink során a különböző életkorú sertések - újszülött, 4 hét, 12 hét és felnőtt korú- ileocoecalis billentyűiben végzett vizsgálataim során megállapítottam, hogy a nitricus neuronok és ganglionok száma szignifikánsan csökkent az életkor előrehaladtával. A hyperinnerváció csökkenés az életkor előrehaladtával magyarázhatja, hogy a primer invaginatio miért nem jellemző idősebb gyermekkorban és felnőttkorban.

6. Az ileocoecalis billentyű veleszületett atresiája, agenesiája igen ritka, de már újszülöttkorban akut sebészeti kezelést igényel. Munkacsoportunk elsőként számolt be újszülöttkori ileust okozó veleszületett ileocoecalis billentyű agenesiáról. Felhívtuk a figyelmet a membrános elzáródás és az agenesia elkülönítésének jelentőségére és a műtéti stratégia különbségeire, újszülöttkori

szempontjaira. Az egyszerű anastomosis elfogadható, de ha „rövidbél” szindróma fenyeget, billentyű-plasztika illetve pótlás választandó.

7. Az ileocecalis billentyű tökéletesen nem helyettesíthető rövid invaginált szeleppel, de az invaginált szelep hosszának növelésével megfelelő anterograd hidrosztatikus ellenállás érhető el.

8. Rövid invaginált szelep készítése elegendő, ha a resectio után a prioritás a hatékony reflux kontroll kialakítása (Crohn betegség). Megfelelő anterograd rezisztencia elérése céljából („rövidbél” szindróma) azonban hosszabb invaginált szelep készítése indokolt.

9. A Kasai porto-enterostomiákban készített, magas hidrosztatikai effektivitású antireflux szelepek előnyét kísérletes eredményeink nem támasztották alá. Ugyanakkor a kisebb hidrosztatikai effektivitású ileocecalis billentyű, hatékonyabb immunológiai barriernek bizonyult, valószínűleg eredményesebb lehet a postoperatív epeútgyulladások prevenciójában.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények jegyzéke

1. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Hydrostatic characteristics of the ileocolic valve and intussuscepted nipple valves: an animal model. J Invest Surg 2005; 18: 185-191. **IF: 0,857**
2. **Cserni T**, Magyar Á, Németh T, Paran ST, Csízy I, Józsa T.: Atresia of the ileocecal junction with agenesis of the ileocecal valve and vermiform appendix: report of a case. Surg Today 2006; 36: 1126-1128. **IF: 0,478**
3. **Cserni T**, Paran S, Puri P.: New hypothesis on the pathogenesis of ileocaecal intussusception. J Paediatr Surg 2006; (közlésre elfogadva) **IF: 1,125**

Impakt faktor: 2,46

Egyéb közlemények jegyzéke

1. **Cserni T**, Kiss A, Jozsa T, Szolosi Z, Nagy B.: Extralobar pulmonary sequestration in the right upper thoracic region. Respiration 2005; **IF: 1,299**
2. **Cserni T**, Jozsa T, Csizy I, Carr MC, Canning DA, Rushton HG.: The danger of intraoperative antegrade cannulation of the ureter in infancy and early childhood. J Urol 2005; 173: 967-968. **IF: 3,592**
3. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svebis M, **Cserni T**, Brath E, Nemeth N, Miko I.: A new concept for esophageal resection-prevascularization: an experimental study. Dis Esophagus 2005; 18: 274-280. **IF: 0,936**

4. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svébis M, **Cserni T**, Bráth E, Németh N, Mikó I.: Extraabdominalisan átültetett cseplesz lebeny mikrocirkulációjának intraoperatív vizsgálata laser Doppler flowmetria segítségével kutyán. *Magy Seb* 2005; 58: 116-119.

5. Jozsa T, **Cserni T**, Szikszay E, Csizy I, Olah E.: Fetor ex ore-a rare presenting symptom of a complete second branchial fistula. *Clin Pediatr (Phila)* 2004; 43: 473-474. **IF: 0,692**

6. Csizy I, Furka I, **Cserni T**, Józsa T, Oláh Cs, Pethő K, Németh N, Mikó I.: Szöveti microcirculatio mérése kísérletes ureter-neoimplantációk során. *Orv Hetil* 2003; 144: 129-132.

7. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svebis M, **Cserni T**, Bráth E, Németh N, Mikó I.: Transplantation and microsurgical anastomosis of free omental grafts: experimental animal model of a new operative technique in dogs. *Microsurgery* 2003; 23: 414-418. **IF: 0,711**

Impakt faktor: 7,23

KUMULATÍV IMPAKT IMPACT FACTOR: 9,69

Az értekezés témájával kapcsolatos előadások

1. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Experimentelle Daten über die Antireflux-Klappen der Roux-Y-Anastomosen, die bei Kasaischen Operationen gebraucht werden. 7th Danube Symposium on Pediatric Surgery, 2001. Visegrád, Hungary
2. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N, Józsa T, Mikó I.: Efficacy of different antireflux techniques in preventing cholangitis in biliary atresia using animal model., 15th International Paediatric Surgical Research, 2002. Graz, Austria
3. **Cserni T**, Pap Szekeres J, Furka I, Németh N., Józsa T., Mikó I.: Tiermodell für den Vergleich der Antireflux-Effektivität der verschiedenen hepatischen Portoenterostomien für Gallengangatresie. 27th Seminar of the Austrian Society for Surgical Research, 2003. Gosau, Austria
4. **Cserni T**, Sri Paran, Prem Puri: New hypothesis on the pathogenesis of ileocecal intussusception. Congress of European Pediatric Surgical Association, 2006. Maastricht, Holland

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenek előtt köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőimnek *Prof. Dr. Mikó Irénnek* a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Sebészeti Műtéttani Tanszék Vezetőjének és *Prof. Dr. Prem Purinak* a Children's Research Centre, Our Lady's Hospital for Children, University College Dublin, Ireland igazgatójának, akik nélkül sem kutató-, sem oktató munkát nem végezhettem volna.

Köszönettel tartozom *Prof. Dr. Furka Istvánnak*, aki az állatkísérletekkel kapcsolatos összes szükséges elméleti és gyakorlati ismerettel ellátott, s nem egyszer személyes segítséget nyújtott a műtéteim végzése közben.

Köszönöm *Dr. Kiss Ákos Leventének*, a BAZ Megyei Kórház Gyermekegészségügyi Központ Sebészeti Osztálya főorvosának, hogy elindította sebészi pályámat.

Hálás köszönettel tartozom *Prof. Dr. Oláh Évának* a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Gyermekklinika igazgatójának és *Dr. Csízy Istvánnak* a Gyermeksebészeti Osztály vezetőjének a sok szakmai és emberi segítséget, mellyel lehetővé tették Ph.D. tanulmányaim végzését.

Köszönet illeti *Dr. Németh László* egyetemi docens urat, *Dr. Józsa Tamás* tanársegéd urat, *Dr. Pap-Szekeres József* főorvos urat, *Dr. Sefcsik István* főállatorvos urat, *Dr. Németh Norbert* egyetemi adjunktus urat, *Bráth Endre* tanársegéd urat és *Dr. Pető Katalin* tanársegéd nőt szakmai-baráti segítségükért.

Munkám nem jöhetett volna létre a *Sebészeti Műtéttani Tanszék munkatársainak* szeretetteljes segítsége nélkül.

Végezetül hálámat fejezem ki *Szüleimnek*, *Feleségemnek*, *Gyermekeimnek*, türelmükért, a tanulmányaim során nyújtott lelki támogatásukért, mely nélkül minden bizonnyal kudarcot vallott volna a kutatómunkám.