

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Microvascularis anastomosisok morfológiai, biomechanikai  
és áramlástanai változásai**

**Dr. Szabó Balázs**

**Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert**



**DEBRECENI EGYETEM**

**Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola**

**Debrecen, 2022**

# MICROVASCULARIS ANASTOMOSISOK MORPHOLOGIAI, BIOMECHANIKAI ÉS ÁRAMLÁSTANI VÁLTOZÁSAI

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

Írta: Dr. Szabó Balázs, általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskolája  
(Experimentális és Operatív Orvostudományok Programja) keretében  
Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert, az MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, az MTA doktora

bírálok: Dr. Jancsó Gábor, PhD

Dr. Tóth Dezső, PhD

tagok: Prof. Dr. Arató Endre, PhD

Dr. Ferencz Andrea, PhD

Az értekezés védésének helyszíne és időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK, Urológiai Tanszék tanterme

2022. december 5., 13:00

## BEVEZETÉS

Napjainkban számtalan érvarratot készítenek rutinszerűen különböző sebészeti beavatkozások során. Azonban, mint minden orvosi beavatkozás esetében, itt is számos szövődmény és komplikáció léphet fel. Az egyik alapvető probléma, hogy az erek a műtétet követően folyamatosan változnak és a műtét utáni állapotok drasztikusan eltérhetnek a kiindulási helyzettől. Ez az anastomosisok elzáródásához vagy a varrat rupturájához is vezethet, valamint előfordulhat még az ér rendellenes kitágulása, vagy a graft érési rendellenessége. Ezek a problémák a mikrosebészeti érvarratok elkészítése során is hasonlóképpen fennállnak. Az érsebészet hatalmas fejlődésen ment keresztül mind anyagok, mind módszerek tekintetében, azonban ezeket a szövődményeket napjainkig sem sikerült teljesen megoldani. Ezért ezeknek a folyamatoknak a befolyásolása igen fontos kutatási terület.

Az érvarratok megannyi különféle aspektusból vizsgálhatóak, ebből következik, hogy az ezzel foglalkozó kutatások igen sokrétűek. A műtét után megjelenő elváltozásokat korai és késői kategóriába sorolhatjuk. Korai szövődménynek számít a thrombosis vagy a varratelégtelenség, ami több forrásból is fakadhat. Egy-egy öltés kiszakadhat, az öltésközökből folyamatosan szívároghat a vér, vagy akár az egész varratsor megnyílhat. A helytelen sebészi technika, amely a szöveteket károsítja, vérrög-képződéshez vezethet. Késői komplikációk az ér beszűkülése vagy az úgynevezett aneurysma képződé, ami az ér kóros kitágulását jelenti. Az utóbbi meg is repedhet és nagyér esetén igen súlyos vérzést okozhat, ami pillanatokon belül a beteg halálához vezet. Minden beavatkozást követően, a legnagyobb körütekintés ellenére is az ér geometriájában valamilyen mértékű változás bekövetkezik. A megváltozott áramlási viszonyok különböző patológiás folyamatokat indíthatnak el, mint például intima megvastagodás (intima hyperplasia, IH), amely később az ér elzáródásához vezethet. Ezek elkerülése napjainkban is még jelentős problémát okoz. Az ultrastrukturális, immunhisztokémiai, áramlástan és még sok egyéb vizsgálati módszerek megjelenésével eddig ismeretlen, nem vizsgálható mechanizmusok és körök váltak megfigyelhetővé.

Az egyik gyorsan fejlődő módszertani terület az áramlástan szimulációk alkalmazása a cardiovascularis rendszerben. Ezen szimulációk egyik alapja a Navier–Stokes-egyenlet, amely a viszkozus folyadék áramlását írja le. Ezzel olyan területeket figyelhetünk meg, ahol ismert szövettani elváltozások jelennek meg és ezeket összehasonlíthatjuk a szimulációból nyert áramlási mintázatokkal. Ezáltal fontos következtetéseket tudunk levonni, ugyanis az erek szövettani elváltozásait a varrattechnika mellett az érpályában keringő vér áramlási tulajdonságai

is jelentősen befolyásolják. Ezeknek a módszereknek a segítségével akár egy operáció előre megtervezhető a legmegfelelőbb áramlási körülmények megteremtéséhez.

A vérben kialakuló rendellenes áramlási viszonyok a vörösvérsejtekre is káros hatással lehetnek, amelyek hosszútávon károsíthatják a mikrokeringést, ezáltal csökkentve a szöveti perfúziót. Az előbb említett hatások miatt fontos ezen változásokat vizsgálni. Ezt a kérdéskört részben a haemorheologia tudományköre vizsgálja.

Nem szabad megfeledkeznünk azonban a módszertani elemek és eszközök fontosságáról sem, hiszen ezek is szerves részeit képezik a sebészi munkának. Amikor az erek összevarrásra kerülnek azt is figyelembe kell venni, hogy a varrat kibírja-e a szöveti feszülést, a vérnyomás és a pulzáció által állított terheket. Emellett sok esetben az anatómiai elhelyezkedésből kifolyóan az ér külső hatásoknak, vagy az ember mozgása miatt folyamatos torzióknak van kitéve. Az is előfordulhat, hogy az ereket traumás sérülés után rekonstruálják. Az ebből fakadó szövethiány miatt a varratok jelentős feszülésnek lehetnek kitéve. Ez csökkentheti a szövetek keringését és ezáltal növekedhet a varratelégtelenség előfordulásának valószínűsége.

Mindezek az előbb említett tényezők miatt fontos kutatási téma az erek várható alkalmazási területnek megfelelő biomechanikai tesztelése, hogy tisztában legyünk az adott varratípus szerkezeti stabilitásával. Ilyen például a varróanyagok és az erek szakítószilárdság vagy nyomástűrő vizsgálatai. Manapság ezeket kevésbé vizsgálják. A disszertáció írásakor a PubMed honlapon az „arterial anastomosis” és a „tensile-strength” (szakítószilárdság) kulcsszavakra rákeresve összesen 22 megjelent cikket találunk az elmúlt tíz évből. Ez is mutatja, hogy kevésbé kutatott ez a tudományterület.

## CÉLKITŰZÉSEK

1. Biopreparátumokon és *ex vivo* ereken elemezni kívántuk különböző varratok (egyszerű csomós, tova futó és módosított "Lauritzen"-féle technika) biomechanikai tulajdonságait, vizsgálva az elkészítéshez szükséges időt, az öltésszámot, a nyomástűrő képességet és a szakítószilárdságot.
2. Célul tűztük ki patkányban a művi ér-anastomosisok regenerációjára, komplex funkcionális és morphologiai vizsgálataira alkalmas arterio-venosus fistula (AVF) és hurok alakú véna interpozitum graft modell kidolgozását.
3. A kialakított *in vivo* modellen össze kívántuk hasonlítani az AVF és a hurok alakú véna graftban fellépő áramlási profilt, a nyírófeszültség és nyomás, valamint más áramlási paraméterek eloszlási mintázatát speciális érfeltöltéssel készült korróziós készítményeken végzett 3D áramlási szimuláció segítségével, összevetve az érfalban létrejött szövettani elváltozásokkal. Ehhez öt hetes követéses időszakot választottunk.
4. Vizsgálni kívántuk továbbá, hogy az AVF és a hurok alakú véna graft jelenléte, a kialakult új áramlási viszonyok miként befolyásolják a haematologiai, haemorheologiai, hemodinamikai és mikrokeringési paramétereket.

## ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### Anastomosisok biomechanikai vizsgálatai

#### *Biomodellek és kísérleti állatok, csoportok*

A kísérlet során csirke felsőcombok kerültek felhasználásra biomodelleként ( $n=60$ ). Ezeket frissen, fagyasztás nélkül szereztük be és még a beszerzés napján elvégeztük rajtuk a vizsgálatokat. Mindegyik comb nőstény állatból származott, az állatok a 32/1999. (III. 31.) FVM rendeletnek megfelelően voltak tartva.

Hat csoportot hoztunk létre csoportonként 10 elemszámmal. A nyomástűrő képességet az egyszerű csomós, tovaftó és a módosított "Lauritzen"-féle varratokon végeztük. A szakító szilárdság vizsgálatai során 8 illetve 12 öltéssel készített egyszerű csomós varrat és 12 öltéssel készített tovaftó varrat csoportokat alakítottunk ki.

A 8 öltéssel készített anastomosisokat patkányból származó aorta abdominalis-on is megvizsgáltuk ( $n=10$ ). Az állatkísérletek az 1998. évi XXVIII. Törvényben foglaltaknak megfelelően történtek (engedély nyilvántartási szám: 25/2016/DEMÁB, Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság). A műtétek során standard mikrosebészeti műszereket használtunk. Mindegyik varrat 8/0-s monofil poliamid fonállal készült serosa túvel (Silon, Chirmax®, Cseh Köztársaság). A mikrosebészeti beavatkozásokat operáló mikroszkóp segítségével hajtottuk végre (Leica Wild M650 mikroszkóp, Leica Ltd., Németország). A csirke ereken készített varratokat tízszeres a patkány ereken készített varratokat pedig tizenhatszoros nagyításon végeztük.

#### *Műtéti protokoll a nyomástűrő képesség méréséhez*

Összesen három csoportot különítettünk el a nyomástűrő képesség vizsgálatához. Ezek az egyszerűcsomós, a tovaftó és a módosított "Lauritzen"-féle varratok voltak. Csoportonként 10-10 anastomosisot készítettünk el.

Erek előkészítése: A combcsonttól egy harántujjnyira ventrálisán ejtettünk egy körülbelül 5 centiméter hosszú, a csontal párhuzamos bemetszést. Majd az artériát atraumatikusan kipreparáltuk. Ebben a csoportban az erek átmérője  $3,25 \pm 0,38$  mm volt. Az oldalágakat lekötöttük, ennek köszönhetően az ér izoláltá vált, majd a proximális vége felől egy 20 G-s kanül került bevezetésre. A kanül öltésekkel rögzítettük, ez érhez és az izomzathoz. Ezt követően az eret fiziológiás sóoldattal átmostuk, és csatlakoztattuk a kanülhöz a nyomásmérő berendezést, majd a distalis érvégre pedig egy moszkítót helyeztünk. Ezután az ér nyomás próbáját végeztük

el. Az artériát híg Betadine-os oldattal feltöltöttük és 200 Hgmm-es nyomás alá helyeztük, hogy teszteljük a ligatúrák minőségét. Amennyiben szivárgás nem volt látható, és a nyomás nem csökkent 5 perc után sem, tovább folytattuk a műtétet és az anastomosisok elkészítését. A nyomást 120 Hgmm-re csökkentettük, hogy minél fiziológiásabb környezetben történjen a varrat készítés.

Csomós varrat: Az érre approximátort helyeztök és átvágtuk, a közrefogott szakasz közepén. Majd a laza adventitiát 1-2 milliméternyire az érvégeről eltávolítottuk. Ezt követte a két saroköltés behelyezése, melyeket az ér átellenes pontjaira helyeztünk. Ezáltal az eret egy elülső és egy hátulsó falra osztjuk fel. Ezután a következő öltést az elülső falon pontosan a két tartóöltés közé helyeztük, majd az így elfelezett elülső érfal szakaszokat mind két oldalon az ér méretének megfelelően 2 vagy 3 öltéssel egyesítettük. A hátulsó falat az approximátor 180°-os elforgatásával hoztuk látó térbe, és az előbbiekkben részletezett módon varrtuk össze. Az anastomosisist 120 Hgmm-es nyomáson teszteltük az aproximátor proximális klippjének megnyitásával. Amennyiben jelentős szivárgást tapasztaltunk póttöltések behelyezésével korrigáltuk azt. Maximálisan plusz 2 öltést helyeztünk be, amennyiben többre lett volna szükség az eret kizártuk a kutatásból.

Tovafutó varra: A lépések az az adventitia eltávolításáig ugyan azok voltak, mint az előbb említett csoportban. A tartó öltésekhez két darab tűs fonalat használtunk, és úgy helyeztük be ezeket, hogy a csomózást követően a fonalakat nem vágtuk le így az egyik fonalvégen ott maradt a tű, amivel folytatni tudtuk a varratsort. Az elülső falat a bal oldalra behelyezett saroköltés tűs fonalával varrtuk végig és a másik sarok öltést elérve annak a rövid szárával kötöttük el. Az approximátor 180°-os elforgatásával elértük a hátsó falat, és egyesítettük ez elülső fal esetén leírt módon, így elkészítve a 12 öltéses tova futó varratot. A 120 Hgmm-s nyomás próbát követően, ha szükséges volt póttöltéseket helyeztünk be, ebben a csoportban is a póttöltések számát maximálisan 2 darabban határoztuk meg.

Módosított "Lauritzen"-féle varrat: Ezt az öltés technikát ingujj vagy "sleeve" technikánka is nevezik. A módszer lényege, hogy a proximális érvéget behúzzuk a distalis érvégbe teleszkópszerűen. Ebben a csoportban a distalis érvégbe a tartó-, avagy húzó öltéseket úgy helyeztük be, hogy először kívülről beöltöttünk a distalis ér végétől olyan távolságra, mint amekkora az ér átmérője nyomás alatt. Ez a csirke femoralis ereknél 4-5 mm-t jelentett, és kijöttünk a tüvel az ér lumenén. Majd a tüvel felvettük a proximális érvéget és visszaöltöttünk a lumenen keresztül a distalis érvégbe belülről kifele az eredeti beöltéstől fél milliméternyire proximálisan az érvéghez képest. Ha a két húzóöltés elkészült, azokat megcsomózva a proximális érvéget teleszkópszerűen behúztuk a distalis érvég lumenében. Ezt követte két tartóöltés

behelyezése, melyeket a húzó öltése közé helyeztünk. Ezek az öltések a distalis érvég minden rétegét át öltik, de a proximális ér falából csak az adventitiát veszik fel. Ebben a csoportban is végeztünk 120 Hgmm-s nyomáspróbát és szükség esetén maximum két póttöltés helyezettünk be.

Minden anastomosis esetén rögzítettük a végleges öltés számot, és az elkészítéshez szükséges időt is. Az anastomosisok elkészítésének folyamatáról fotó- és videó felvételeket készítettünk további elemzés céljából.

### ***Nyomástűrő képesség mérése***

A nyomásméréshez egy, a Tanszékünkön összeállított berendezést használtunk. Ez egy híg Betadine-s oldattal feltöltött infúziós tasakból és egy higanyos vérnyomásmérő berendezésből áll. Rögzítettük a vérnyomásmérő mandzsettát az infúziós zsákra és ezt felfújva állítottuk vagy mértük a nyomást. Az infúziós zsákot és a kanülált ereket egy sztenderd infúziós szereléssel kötöttük össze.

Az anastomosis elkészültével az infúziós szerelékelt elzártuk, majd a nyomást felemeltük 280 Hgmm-re. Felengedtuk a szerelékelt és öt percig figyeltük a nyomásesést mértékét. A sebárkot fiziológiás sóoldattal töltöttük fel, így kiválón vizualizálni tudtuk a szivárgási pontokat. A mérés közben videókat és fotókat készítettünk későbbi elemzés céljából. Az idő leteltét követően feljegyeztük az aktuális nyomást.

### ***Műtéti protokoll a szakítószilárdság méréséhez***

A mérésekhez négy csoportot hoztunk létre. Csirkecomb biomodellel 8 öltéses és 12 öltéses egyszerű csomós varrat és 12 öltéses tova futó varrat csoportokat, valamint patkány abdominalis aortán 8 öltéses egyszerű csomós csoportot, minden csoportban 10-10 anastomosisot készítettünk.

A "sleeve" technika mind öltésszámban mind pedig érgeometriában annyira különbözik az end-to-end típusú varratokhoz képest, hogy összehasonlítása a többi varratípussal nem mutatna informatív eredményeket, ezért ezt a csoportot kihagytuk ebből a vizsgálati részből.

Egyszerű csomós varrat: A nyomás méréshez hasonlóan készüllet ebben a csoportban is a varratok azzal a különbséggel, hogy ennél a vizsgálatnál csak 3 mm-t szorosan megközelítő ereket használtunk ( $2,96 \pm 0,3$  mm), ezzel sztenderdizálva az öltés távolságokat. A 12 öltéses csoportba a tartóöltések közés 5-5 öltés került behelyezése az elülső illetve a hátulsó falon, míg a 8 öltéses csoportba 3-3.

Tovafutó varrat: A varrat elkészítésének lépései megegyeztek a korábban említett tova futó varrat lépéseivel. Az elülső és a hátulsó fal varratánál 5-5 öltést használtunk, figyelve arra, hogy ezek az öltések minél egyenletesebben legyenek elosztva a 12 öltéses csoportban.

### ***Szakítószilárdság mérése***

Biomodell: A méréshez szükséges berendezés a Debreceni Egyetem Informatikai Kar Információ Technológiai Tanszéke és az Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Műtéttani Tanszéke közötti kollaboráció során készült. A készülék egy Arduino® mikrokontrollerből, egy torziós erőmérőből és egy CNC léptető motorból áll. Két befogó pofa az erőmérőre és egy csúszó sínre van rögzítve, amit a CNC motor húz. Ezek közé rögzítettük a vizsgálandó érszakaszt. A műszer a húzóerőt, Newtonban jelzett ki. A mérés elején a húzó pofák közötti távolságot 1 cm-re állítottuk. Minden teszt során 2 cm hosszan húztuk az ereket. A torziós erőmérőre terhelődő húzást a gép folyamatosan kirajzolta egy erő/nyúlás görbén. Ebben az esetben az erő a Newtonban kifejezet húzóerőnek felelt meg, a nyúlás pedig a mérés kezdeti helyzetétől számított távolságot jelentette. Ezeket a görbéket elmentettük és elemeztük. A görbék alapján mértük az erek nyúlását, a maximális szakító szilárdságát, és az elaszticitását, melynek reprezentálásához az effektív Young-modulus használtuk. Minden eret kétszer szakítottunk el. Egyszer magát az anastomosist, majd másodszor az anastomosistól proximalisan 1 cm-re a sértetlen eret is elszakítottuk összehasonlítás érdekében. Az érvarratokról és a szakításokról képeket és videót készítettünk további elemzés céljából.

Fonal modell: A kutatás során felmerült, hogy a fonalak tulajdonságai és a csomó minősége mekkora befolyásoló tényező lehet. Ezért a fonalat önmagában is megvizsgáltuk, különböző körülmények között, valamint elkészítettük az anastomosisok analógjait "száraz" modellen is két fonal összekötésével. A következő csoportokat hoztuk létre: sértetlen fonal, csomós fonal, egy darab öltés, egy darab öltés sértett fonallal, 8 darab öltés, 12 darab öltés, 12 öltéses tova futó. A vizsgálatokat 8/0-s polyamid monofil fonalon végeztük (Silon, Chirmax®).

Az anastomosis analógok mérése során két hurkot készítettünk 2/0-s fonott polyester fonalból (Tervalon Braiden Green, Chirmax®), melyeket egyesével befogtunk a két húzópofába. Ezeket a hurkokat kötöttük össze az adott csoportoknak megfelelő anastomosisok öltésszámaival. Egy öltést tulajdonképpen a fonalakat összekötő megcsomózott hurkokként kell elképzelni. A fonal vizsgálatához egy szál 8/0-s varróanyagot rögzítettünk a két húzópofa közé. A csomós fonal ugyanilyen módon volt mérve azzal a különbséggel, hogy a középre a rögzítés előtt kötöttünk egy csomót.

Emellett megvizsgáltuk a fonalkezelés fontosságát és a helyes csomózási technika hatását az öltések szakító szilárdságára. Helytelen csomózási technikához a fonalakat úgy csomóztuk, hogy a fonalat direkt egyirányba és nem alternálva húztuk a csomózásnál, így a csomók látványosan eltértek alakilag is. A sértett fonalat úgy hoztuk létre, hogy az öltés elkészítése után a csomóval átellenes pontján egy mikrosebészeti csipesszel megszorítottuk úgy, hogy csipesz szárai teljesen összeérjenek a fogási pontokon, ezáltal létrehozva egy kis lapított szakaszt a fonalon. A méréseket a biomodellek során alkalmazott protokoll szerint hajtottuk végre. A méréseknél három paramétert vizsgáltunk: a minták nyúlását, a maximális szakítószilárdságát és az elaszticitását effektív Young-modulusban kifejezve.

## **Hurok alakú vénagraft és az arterio-venosus fistula vizsgálatai**

Ebben a kutatási szakaszban végzett kísérletek is az állat kísérletek 1998. évi XXVIII. törvényben foglaltaknak megfelelően a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság engedélyével történtek (engedély nyilvántartási szám: 25/2016/DEMÁB). A kutatás során 36 hím Wistar (Crl:Wi) patkányt használtunk fel, melyek 8-10 hetesek és  $349.7 \pm 13.76$  gramm súlyúak voltak. Ezeket véletlenszerűen három csoportra osztottunk: alloperált, vénahurok azaz "loop", és arterio-venosus fistula. Minden csoport 12-12 állatot tartalmazott. Az állatokat 22-24 °C-s szobában 12 órás fényciklus mellett tartottuk, szabad víz és táp hozzáférést biztosítva. A műtéteket követően az állatokat elkülönített ketrecekben tartottuk. A műtétek során standard mikrosebészeti műszereket használtunk, és az anastomosisok elkészítéséhez pedig 10/0-s monofil poliamid fonalat használtunk szerózatúval (Silon, Chirmax®, Cseh köztársaság). A mikrosebészeti beavatkozásokat operáló mikroszkóp segítségével hajtottuk végre (Leica Wild M650 mikroszkóp, Leica Ltd., Németország). Valamint huszonötszörös nagyításon történt a varratok elkészítése a patkány femoralis ereken.

### ***Műtéti protokoll***

Minden esetben az állatok súlyát mértük meg először. Ez alapján határoztuk meg a szükséges altatószer dózist, amely ketamin (100 mg/ttkg), Xylazin (10 mg/ttkg) és Atropin (0,05 mg/ttkg) keverékéből állt. Az altatószer keveréket intraperitonealisan adtuk be az állatoknak. A műtétek során az altatás fenntartását a kezdeti altató dózisban megtalálható ketamin adag harmadával végeztük.

A thrombosis profilaxis érdekében intravénás heparint (80 NE/ttkg) alkalmaztunk. A posztoperatív első hét folyamán pedig analgetikumként subcutan Flunixin-t (10 mg/tkg) adtunk az állatoknak. A műtéti terület leborotváltuk és Betadinnal dezinficiáltuk.

A beavatkozás első lépése a bőrmetszés volt a ligamentum inguinale felett. Ebből a metszésből atraumatikus preparálás segítségével felkerestük az arteria és a vena femoralist. Az arteria femoralis-t a ligamentum inguinale-tól az arteria saphena oszlásáig preparáltuk ki.

A köztes szakaszon az oldalágakat lekötöttük. A ligamentum inguinale felől számított második medialis oldalágak a femoralis érkötegekben az angol nevezéktan alapján superficial inferior epigastric artery, ven. Ezeket SIEA és SIEV-nek rövidítjük. A SIEA-t lekötöttük a SIEV-t kipreparáltuk. Úgy sztenterdizáltuk a SIEV hosszát, hogy a vena femoralis-ba való beszájadásától az első oldalágig preparáltuk ki az eret.

Eddig a pontig minden csoportban megegyeztek a lépések. Az áloperált csoport esetén a műtéti területet egy fiziológiás sóoldattal átitatott gézlappal lefedtük és az állatokat további 90 percig allatásban tartottuk, mely időtartam megegyezett a többi csoport átlagos műtéti idejével. Ennek elteltével a bőrt horizontális tovafutó matracvarrattal egyesítettük.

Fistula: Az erek kipreparálását követően a SIEV-t a femoralis beszájadásánál egy microvascularis klip segítségével lezártuk és lekötöttük az első distalis oldalága szintjében. Majd az eret átterszettük és átmostuk az ér lumenét. A mosáshoz 50 NE/ml töménységű Heparin oldatot használtunk. Ezután a kipreparált arteria femoralis szakaszának proximális és distalis végét egy-egy klippel lezártuk. Majd a közepén egy öltést helyeztünk be és azt megcsomóztuk. Ezt megemelve az érfal sáttortetőszerűen kiemelkedett. Egy hajlított olló segítségével a kiemelkedő érfalat lemetsztük úgy, hogy a kialakított nyílás a SIEV átmérőjével megegyezzen.

Az artériát is átmostuk heparinnal a kialakított nyíláson keresztül. A SIEV distalis végét ráfordítottuk a femoralis artéria nyílására és csomós öltésekkel egyesítettük. Ezt követően eltávolítottuk a klipet a SIEV-ről, ekkor az eret a vissza áramló vér feltöltötte. Ezzel ellenőrizni tudtuk alacsony nyomáson a varrat minőségét és ha szükséges volt, póttöltéseket helyeztünk be.

A vena femoralisban megjelenő élénk piros vér jelezte a fistula működését. Az anastomosis átjárhatóságát több módon is ellenőriztük, dupla occlusió tesztet, avagy a „milking” tesztet. A sikeres átjárhatósági vizsgálatot követően a fistulát az éren hagyott kötőszövet segítségével a musculus gracilis-hez rögzítettük hét öltéssel azért, hogy az ér az állat mozgása közben ne tudjon elmozdulni a kötőszövetesedés lezajlásáig. Ismét ellenőriztük az erek átjárhatóságát, és ha nem találtunk problémát, bőrvarrattal fejeztük be a műtétet.

Loop: Ebben a csoportban a kipreparált arteria femoralis szakasz kirekesztéséig megegyeztek a lépések. Oldalöltés helyett azonban az eret egyenes ollóval átmetsztük a szakasz közepén, a ligamentum inguinale felől haladó érvéget proximalis az izom alá bújó érvéget distalis érvégnek neveztük. Az érvégekről a laza adventitiát eltávolítottuk és a lumeneiket heparinos oldattal kimostuk. Először a proximalis anastomosissal kezdtük, melyet a SIEV distalis vége és a proximalis érvég között hoztunk létre. Ez az anastomosis end-to-end típusú érvarratnak megfelelően készült az előző fejezetben leírt módon.

A műtéti lépések folytatása előtt teszteltük a proximalis anastomosist. Eltávolítottuk a SIEV szájadékáról és a proximalis érvégről a microvascularis klipeket, így megindult a véráramlás és a femoralis véna színe élénk pirossá változott. Addig hagytuk felengedett állapotban, ameddig minden vérzés forrás megszűnt. Ha nem láttunk vérzést, újra lezártuk a proximalis arteriás érvéget és a SIEV beszájadzását egy ligatura segítségével elzártuk. A vénát egy egyenes ollóval átmetsztük a ligatura mellet szorosan és a SIEV segmentumot újra kimostuk heparinnal. A kimosást követően egyesítettük a SIEV proximalis végét az arteria femoralis distalis érvégével, szintén egy end-to-end típusú varrattal.

Az átjárhatóságot „milking” tesztel ellenőriztük a distalis femoralis érvégen. A SIEV szegmens beillesztését követően eltávolítottuk a distalis klipet és megvártuk a vérzés megszűnését. Ezt követően az interpozitumot az óramutató járásával megegyező módon megtekerve létre hoztuk a hurkot, avagy a „loop”-ot. A graft alakját ebben ez esetben is két rögzítő öltéssel fixáltuk a gracilis izomzathoz. Újra ellenőriztük az anastomosisok átjárhatóságát és ha nem találtunk eltérést vagy vérzést, akkor a bőrt zártuk.

A műtét után és az ötödik posztoperatív héten (PO5) fotókat készítettünk az elkészített graftokról és a képek segítségével lemértük az erek külső átmérőjét meghatározott helyeken. Emellett a fistula ívén belül és a „loop” által bezárt területen megmértük a leghosszabb horizontális és vertikális átmérőt. A két átmérő hányadosából következtettünk az érésből fakadó alakváltozás mértékére. Az erek lefutását feljegyeztük mindegyik csoportban. Az állatokat öt hétig figyeltük meg, az első posztoperatív héten (PO1) altatásban varratszedést végeztünk és az ötödik héten az állatokat termináltuk. Ekkor az ereket altatásban eltávolítottuk szövettani elemzés céljából, valamint az állatokon exploratív laparotómiát végeztünk és feljegyeztük az esetlegesen talált eltéréseket. A vizsgálat során kipreparáltuk mindkét oldali arteria és vena femoralist, iliaca externát, iliaca communist, aorta abdominalist és a vena cava caudalist. A nagy hasi ereket az arteria és vena renalisok oszlásáig preparáltuk ki. A vizsgálat során megfigyelhettük a fistulában és a „loop”-ban áramló vért.

### ***Képalkotó vizsgálatok: MRI, SPECT-CT***

A képalkotó vizsgálatokat a posztoperatív második héten végeztük el az anastomosisok átjárhatósága és a végtagok perfúziójának ellenőrzése céljából. Az erek átjárhatóságát gadolíniumos MRI angiográfiás vizsgálattal ellenőriztük (nanoScan® PET/MRI, Mediso Kft, Budapest, Magyarország). Az állatokat sevoflurane segítségével altattuk el. A gadolíniumot tartalmazó kontrasztanyagot a laterális farokvénák egyikébe injektáltuk. Majd az állatokat az MRI készülékbe helyeztük és az artériás fázis során az állat alsó testfelét leképeztük.

A szöveti perfúziót technécium<sup>99m</sup>-mibi alapú SPECT-CT vizsgálattal mértük (nanoScan® SPECT/CT/PET, Mediso Kft, Budapest, Magyarország). Az állatokat ebben az esetben is elaltattuk, majd a technéciumot szintén az egyik laterális farokvénába fecskendeztük, és az állatokat a gépbe helyeztük. A magas szöveti aktivitás a felvételeken kielégítő perfúziót jelentett. Thrombosis vagy részleges elzáródás esetén az alacsony szöveti aktivitás, és az ér lefutásának hiánya mutatta a károsodott graft működést. Ha elzáródást vagy jelentős eltérést tapasztaltunk az állatot kizártuk a kutatásból, és pótoltuk az adott csoportban.

### ***Öntvénykészítési protokoll és 3D szimuláció***

A kutatás során készült öntvények a Pécsi Tudományegyetem és a DE ÁOK Sebészeti Műtéttani Tanszék kollaborációja során készültek. Ebben a fejezetben az öntvény és 3D modell készítésének lépéseit a „loop” példáján keresztül mutatom be. A median laparotómiát és inguinalis metszést követően kipreparáltuk a szervült érgraftokat az aorta abdominalis és az arteria iliaca communis. Első lépésként fényképek segítségével rögzítettük az erek alakját az altatott állatokon egy Canon EOS 1100 D fényképezőgép segítségével, mely 4K felbontásnak megfelelő minőségű képeket tudott készíteni.

A képek alapján rögzítettük az erek átmérőjét és pontos alakját. Ezt követően proximális irány felől distalis irányba felvezettünk egy 22 G-s kanült az éren úgy, hogy a vége már az arteria iliaca externában legyen.

A kanül rögzítettük és egy ultra-alacsony viszkozitású poliuretán polimert injektáltunk a kanülon keresztül az érbe (Mercor LADD Labsciences, USA). A polimer két komponensből áll, melyek összekeverését és felszívását követően körülbelül 30 másodpercünk volt a beinjektálásra a műanyag megszilárdulásáig. További 10 percet vártunk a műanyag teljes megkötéséig, majd az ér szövetét óvatosan eltávolítottuk a műanyag felszínéről mikrosebészeti eszközökkel. Figyeltünk

arra, hogy egyben fejtsük le az eret és ezáltal lehetőséget adva annak, hogy az ereket szövettani vizsgálatokra is fel tudjuk később használni.

Az így megtisztított öntvényeket egy 3D szkennel segítségével digitalizáltuk (CARA dental scanner, Kulzer, Japan, ME3D-Graft, Hungary). Így egy virtuális 3D modellt kaptunk amin elvégeztük az áramlási szimulációkat.

A kész modellt megvizsgáltuk és szükség esetén a műtermékeket, lyukakat egy meghatározott protokoll alapján eltávolítottuk egy nyílt forráskódú program segítségével (Meshmixer, Autodesk Inc, USA, Geomagic Wrap, 3DSystems Inc., USA). A protokoll biztosította, hogy minden esetben ugyanúgy járunk el és az utómunkálatokkal ne befolyásoljuk az eredményeket.

Az áramlási szimulációhoz egy saját fejlesztésű programot használtunk, melyhez az Ansys 20 R1 program nyújtotta a szoftveres háttérrel (Ansys, Inc; Canonsburg, Pennsylvania, USA). A mintákon keresztül be- és kiáramló folyadék áramlási paramétereit előre meghatározott értékek szerint állítottuk be. A szimulációhoz használt áramlási paraméterek átlag határértékeit használtuk: aorta és vena cava szisztolés és diasztolés ellenállása (patkányokon mértük meg invazív vérnyomásmérő segítségével, 100 mérés szív ciklusonként).

Több mint 30 paraméter rutinszerűen vizsgálható egy áramlási szimuláció során térben és időben: pl. áramlási sebesség, nyomás, vorticitás, helicitás, Reynolds szám, fali nyírófeszültség és az ezekből származtatott paraméterek, mint az oszcillatív nyírófeszültség index. Kutatásunk során a legnagyobb figyelmet a nyomás és fali nyírófeszültség változásaira fordítottuk. Ezen paraméterek mérésére és egyidejű megjelentésére Ansys 20 R1 CFD-Post szoftvert használtunk. További elemzés céljából a szimulációkból kimerevített képeket összehasonlítottuk a szövettani metszetekkel, hogy megvizsgáljuk az áramlási mintázatok szövettani lokalizációját. Minden csoportban 2 állapotot a műtétet követően felhasználtunk öntvény készítésre. Majd az ötödik héten csoportonként 4 állatból készült öntvény, így össze tudtuk hasonlítani az erek geometriai és áramlási változásait a szövettani érést követően.

### ***Elektronmikroszkópos vizsgálatok***

A műanyag öntvények felületét pásztázó elektronmikroszkóppal megvizsgáltuk az ultrastrukturális eltérések megfigyelése érdekében (JSM-IT500HR, Jeol Ltd, Akashima, Japán). A mintákat abszolút alkoholban megtisztítottuk, majd hideg argon plazma segítségével három réteg arannyal bevontuk, ami 5-10 nm vastagságúnak felel meg. A képeket a natív és az érett erekről készült öntvények összehasonlításához használtuk fel.

## ***Szövetteni vizsgálatok***

A szövettani mintákat a Debreceni Egyetem Patológiai Intézetében dolgozták fel. Hematoxinilín&eozin festés alkalmaztunk a morfológiai vizsgálatok elvégzéséhez. A PO5 héten az állatokat elaltattuk és a szövettani mintavételezés vagy öntvény készítés előtt laparotómiát végeztünk, hogy felderítsük az esetleges távoli makroszkópos elváltozásokat, amik a műtétek következtében kialakulhattak. Ezért minden csoportból az állatok szívét is eltávolítottuk és megmértük az arteria és vena iliaca communis és a vena femoralis átmérőjét. Minden csoportból 6 állatot az erek szövettani mintavételezésre használtunk fel. Minden mintát operáló mikroszkóp alatt távolítottunk el, és támpontokat jegyeztünk fel: tartóöltések, anatómiai struktúrák. A szimuláció és a szövetten összehasonlítása során ezeket a támpontokat használtuk, hogy minél nagyobb pontossággal tudjuk összehasonlítani a megegyező anatómiai lokalizációkat. Az ereket a környező izomzattal együtt távolítottuk el, hogy a fistulák és a „loop”-ok alakja ne változzon a feldolgozás során.

Az eltávolított szövettani mintákat 4%-os formalin oldatba helyeztük, ahol 24 óra fixálást követően xilol segítségével dehidratáltuk. Az így dehidratált mintákat parafinba ágyaztuk és 4 µm vastag metszeteket készítettünk. Metszés közben a parafin blokkot mikroszkóp alatt ellenőriztük, hogy a megfelelő anatómiai lokalizációról készüljön a metszet. A szöveteket hematoxinilín&eozin festéssel jelöltük meg a morfológiai vizsgálatok elvégzéséhez. A tárgylemezekre ragasztott és fixált metszeteket mikroszkóp (Leica DM 200, Leica Microsystems Ltd., Németország) alatt ellenőriztük, hibákat, műtermékeket, sérüléseket buborékokat keresve. Így ellenőriztük, hogy a minták alkalmasak-e további elemzésre. Amennyiben átmentek az ellenőrző vizsgálatokon, akkor a metszeteket bedigitalizáltuk szövettani scanner segítségével (Pannoramic MIDI Scanner, 3DHistech, Budapest, Magyarország). A virtuális metszetek további vizsgálatát szövettani elemző szoftver segítségével végeztük (Caseviewer 2.2, 3DHistech, Budapest, Magyarország). Mértük az erek különböző szövettani rétegeinek vastagságát (tunica intima, tunica media), az erek átmérőjét. Az átmérőt az összetett vénák esetén úgy mértük, hogy a szövettani elemző szoftver segítségével megmértük az ér belső szabálytalan alakjának területét és annak a területnek megfelelő szabályos kör átmérőjét rögzítettük.

A formaldehides fixálást követően a mintákat mikroszkóp alatt meghatározott helyeken felhasítottuk. A mikroszkóp segítségével a metszési síkokat tizedmilliméteres pontossággal tudtuk meghatározni.

A fistula csoportban az arterio-venosus anastomosis területén 5 síkot metszettünk. Az anastomosis közepén az arteria femoralis-ra merőlegesen vágtuk félbe az eret. Valamint 1 illetve

2 mm-re az anastomosistól proximálisan és distálisan is metszettünk egyet-egyet az arteria femoralison. Ugyanilyen módon készítettük a metszési síkokat a SIEV véna femoralis beszájadásánál. A SIEV-t az anastomosistól a beszájadásig 3 helyen metszettük át az érszakaszt egyenletesen felosztva. Az így nyert szövettani blokkokat a metszési síkoknak megfelelően ágyasztuk be.

Az anastomosisok közötti hurok szakaszt 3 helyen vágtuk át. A „loop” esetén a proximális és distális anastomosis az érrel párhuzamosan vágtuk félbe. Egy-egy metszési síkot létrehoztunk a proximális anastomosistól 2 mm-re proximálisan és a distális anastomosistól 2 mm-re distálisan.

Az említett síkok a 3D modelleken is könnyen és nagy pontossággal felkereshetők voltak, lehetővé téve a metszetek és a szimuláció összehasonlítását.

### ***Vérvételi technikák és időpontok***

A vérmintákat a műtét előtt és után, valamint az 1., 3. és 5. posztoperatív héten (PO1, PO3, PO5) vettünk. Minden állatba az altatás követően egy 26 G-s neonatalis kanült helyeztünk be az egyik oldali laterális farokvénába. A kanülből visszacsorgó vért heparinizált fecskendőbe felszívtuk és a vérmintákat vacutainer csövekben tároltuk (BD Vacutainer® cső, 5,4 g K<sub>3</sub>-EDTA, 3 ml). Minden vérvétel esetén összesen 300 µl vérmintát vettünk az állatokból a haematologiai és haemorheologiai mérésekhez, valamint további 90 µl vért távolítottunk el a vérgáz analízis elvégzéséhez, melyet nem anticoaguláltunk. A posztoperatív hetek során végzett vérvételek altatásban történtek. A fistula csoportban a PO5 héten mintákat vettünk a vena cavából is, hogy elemezzük a keveredett (arterio-venosus) vér összetételét.

### ***Haematologiai mérések***

A vizsgálatokat Sysmex K-4500 automatával végeztünk (TOA Medicor Electronics Co., Ltd., Japán). Minden méréshez 70 µl vérre volt szükség. A méréseket a műtét előtt után és a PO1, PO3, PO5 héten ismételtük meg. A kutatásban mért adatok rövidítéseihez az angolszász szakirodalomban használt megnevezéseket vettük alapul. A következő paramétereket elemeztük: vörösvérsejt szám (RBC [ $10^{12}/L$ ]), fehérvérsejt szám (WBC [ $10^9/L$ ]), haematokrit (Hct [%]), haemoglobin koncentráció (Hgb [g/L]), átlagos vörösvérsejt térfogat (MCV [fL]) és vérlemezke szám (Plt [ $10^9/L$ ]).

### ***Vérgáz analízis***

A vérgáz analízishez 90 µl nem anticoagulált vért használtunk fel. Ezeket a méréseket a műtét előtt után és a PO5 héten ismételtük meg. Az itt megjelölt paraméterek jelölésénél is az angolszász nevezéktant vettük alapul. Mértük a parciális oxigén és széndioxid nyomást ( $pO_2$ ,  $pCO_2$  [mmHg]), az oxigén szaturációt ( $sO_2$  [%]), a pH-t és a bikarbonát ( $HCO_3^-$  [mmol/l]), glükóz (Glu [mmol/L]), laktát (Lac [mmol/L]) koncentrációt. Továbbá a következő elektrolitok koncentrációját is meghatároztuk: nátrium ( $Na^+$  mmol/L), kálium ( $K^+$  mmol/L), kalcium ( $Ca^{2+}$  mmol/L) és klorid ( $Cl^-$  mmol/L). A vizsgálatokhoz ágymelleti EPOC® Vérgáz Analizátor rendszert használtunk (Siemens Healthineers, Erlangen, Németország). Minden méréshez egy egyszer használatos EPOC® kártyára volt szükség (34. ábra, B). A kártyát a műszerbe helyeztük, majd a kalibrálást követően befejeztük a vérmintát.

### ***Haemorheológiai mérések: vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio***

LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytométert használtunk a vörösvérsejt deformabilitás meghatározásához (Mechatronics BV, Hollandia). 10 µl vért 2 ml polivinil-pirrolidonban (PVP) és foszfát pufferelt fiziológiás só (PBS) oldatba szuszpendáltunk (viszkozitás: 27 mPas, ozmolaritás: 300 mOsm/kg, pH: ~7,3). A gép egy forgó hengerből és egy csészéből áll, a hengerből lézernyaláb vetül a mintára. A henger és az üvegszeze közötti hézagba fecskendeztük a mintát, melyet a gép a lézernyalábbal vizsgál. A forgó csésze és az álló detektor között nyírófeszültség alakul ki, aminek hatására a vörösvérsejtek megnyúlnak, elongálódnak. Az ezen átvilágító lézernyaláb a megnyúlt alakos elemeken szóródik és jellegzetes mintázatot vetít a detektorra. Így a deformabilitást az emelkedő nyíróerő (shear-stress: SS [Pa]) alatt megnyúló vörösvérsejtek által mutatott diffrakciós mintázatából számolta ki a műszer.

Az elongációs indexet (EI) 0,3 és 30 Pa nyírófeszültség között mértük és rögzítettük. Ahogy a mintán az átvilágító lézernyaláb a vörösvérsejteken szóródik, a detektoron kialakít egy diffrakciós mintázatot, ezt a gép analizálja és a műszerhez tartozó szoftver kiszámolja és megjeleníti az eredményeket egy elongációs index (EI) – nyírófeszültség (SS) görbeken. Az EI értékek arányosak a vörösvérsejtek deformabilitásával. A Lineweaver-Burke analízis használatával kiszámítható a maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]), és ezek hányadosa ( $EI_{max}/SS_{1/2}$ ).

A vörösvérsejtek aggregációját Myrenne MA-1 aggregométerrel vizsgáltuk (Myrenne GmbH, Németország). A műszer fény-transzmissziós elven működik. Az eszköz egy forgó üveglencséből és egy ráhajtható üveglapból állt, melyeket fényforrás világít át, az áthaladó fény intenzitását detektor rögzíti. A vörösvérsejtek aggregációja során a köztük keletkező réseken át

egyre nagyobb mértékben halad át a fény, nő az intenzitás. Ezt használja ki ez a mérőműszer. A befecskendezett vérből egy vékony filmréteget képzünk a két üvegfelület között, majd az üveglencse elforgatásával a sejteket diszaggregáljuk, majd egységnyi idő után megmérjük az áthatoló fény intenzitását. A vizsgálathoz 20  $\mu$ l anticoagulált vért fecskendeztünk be mérésenként. A mérést elvégezhetjük az aggregációs folyamat 5. illetve 10. másodpercében 0 s<sup>-1</sup> sebesség-gradiens (M5 sec, M10 sec index paraméterek), vagy 3 s<sup>-1</sup> sebesség-gradiens mellett (M1 5 sec, M1 10 sec index paraméterek).

### ***Hemodinamikai és mikrokeringési mérések***

Mivel a fistula az artériás és vénás rendszer között közvetlen összeköttetést hoz létre, így az artériás nyomás fenntartása többlet terhet ró a szívre. Ezért szövettani vizsgálatok mellett invazív vérnyomásmérő módszerrel is monitoroztuk a femoralis AVF cardiovascularis hatását. Ehhez a Haemosys invazív vérnyomásmérő rendszert használtuk (Haemosys, Experimetria Kft.). Az invazív vérnyomást a jobb oldali arteria carotis communis-ba bevezetett kanülön keresztül mértük a PO5 héten, melyet a műszer folyamatos nyomásgörbe formájában rögzített (36. ábra, B). A vérnyomás folyamatos monitorozása mellett a fistulát lezártuk, illetve felengedtük és mértük a vérnyomás kilengések mértékét is.

A szöveti mikrokeringést Laser Doppler (LD) segítségével mértük (LD-01 Laser Doppler flowmeter, Experimetria Kft.). A műszerhez laser Doppler mérőfejet használtunk mely 1 mm<sup>3</sup> szövet mikrokeringését képes vizsgálni (NP-100 Standard Pencil Probe, Oxford Optronix Ltd., UK). A gép 780 $\pm$ 10 nm hullámhosszúságú lézert fényt használ. Az eszköz rövid lézer impulzusokat bocsát ki (10-19 kHz) és az impulzusok közötti szünetekben detektálja a visszaverődött fényt. A mozgó vörösvérsejtekről visszaverődő fény hullámhosszában változás áll be (Doppler-shift), amely arányos a vizsgált területen lévő mozgó vörösvérsejtek számával és áramlási sebességével. Ebből határozza meg a perfúziós egységet, az úgynevezett blood flux unit-t (BFU, dimenzió nélküli szám).

A mérési pontok mindkét oldalon a kettes lábujj alatti talp párna, a comb belső oldala és a ligamentum inguinale feletti hasfali bőrterületek voltak. Ezeket a pontokat sebészeti bőrfilc segítségével körberajzoltuk, hogy ugyanazon a pontokon mérjünk minden alkalommal. A vizsgálat során ráhelyezzük a mérőfejet a mérni kívánt felületre és a mérőeszköz által kijelzett görbe stabilizálódása után 10 mp-ig rögzítettük az értékeket. Ennek a mérési szakasznak az átlagolásával kaptuk meg az összehasonlítás alapját adó BFU értékeket. Fontos megemlíteni, hogy a kapott érték függ az adott szövet anatómiai és szövettani felépítésétől, a felület

hőmérsékletétől, a műszer mozgásának mértékétől, valamint a mérőfej szövetbe nyomódásától. Ezért fontos, hogy a vizsgálatokat standard körülmények között végezzük. A méréseket a műtét előtt az erek leszorítása közben és az erek felengedését követő 10. pecben, valamint az utánkövetéses időszakban a PO1, PO3, PO5 héten végeztük el. A mért adatokat a műszerhez tartozó szoftver analizálta, és rajzolta ki (S.P.E.L. Advanced Kymograph, Experimetria Kft.).

A hátsó végtagok talpfelszíni hőmérsékelet is vizsgáltuk a mikrokeringés és a graftok működésének kiegészítő vizsgálatként. A vizsgálatokat a PO5 héten végeztük, ehhez egy infravörös felületi hőmérőt (Braun IRT 6030 Thermoscan, Braun® Kronberg, Németország) használtunk.

### **Statisztikai módszerek**

A statisztikai analízishez GraphPad Prism 8 szoftvert használtunk. Az analízis során a szignifikancia szintet  $p < 0,05$ -nél határoztuk meg és az értékeket átlag  $\pm$  szórás (S.D.) formájában tüntettük fel.

A mért adatokon minden esetben normalitás vizsgálatot végeztünk és ennek megfelelően t-próbát, kétirányú ANOVA tesztet, Wilcoxon vagy Mann-Whitney tesztet végeztünk. Az adatok korrelációjának vizsgálatához a Pearson-féle korrelációs koefficiens ( $r$ ) számoltuk ki.

## EREDMÉNYEK

### Művi ér-anastomosisok biomechanikai vizsgálatai

#### *Műtéttechnikai tapasztalatok*

Szivárgás: Ahogy a módszertan fejezetben leírásra került, minden nyomáspróbáról készült fotó- és videó felvétel. Az egyszerű csomós és a tova futó varratok elemzése közben megfigyeltük, hogy a szivárgás sohasem az öltések közötti területről, hanem a szűracsatornákból származott: onnan, ahol a tű áthatolt az erek falán. Az esetek többségében az első szűracsatornából szivárgott fokozotabban, ez az amelyiket kintről befele a lumen felé öltöttük. A szivárgás kifejezettebb volt a saroköltéseknél.

Erek torzulása: Míg az egyszerű csomós varratok esetén szűkületet nem figyeltünk meg, addig a tova futó varratok készítése során feltűnő volt, hogy a tova futó varrattal igen könnyen beszűkíthető az ér lumene. Ha az öltések során túlfeszítjük a fonalat, az egész varratsor szorosabbra húzódik. Ennek hatása azonban csak nyomás alatt látszódik, így csak az anastomosis elkészülte után derül fény a hibára. Meg kell említeni, hogy ha a varratot túlfeszítettük, akkor az átlagos nyomáseséshez képest jelentősen kedvezőbb értéket mutatott a varrat.

A „sleeve” technika határai: A technika fő gyenge pontját éppen a módszer lényege okozza, ugyanis az erek egymásba csúsztatása során az ér megrövidül. Ahhoz, hogy az anastomosis jól működjön, az eret legalább az ér átmérőjének másfélszeresével kell egymásba csúsztatni. Ezért ez a technika főleg az 1 mm-t megközelítő átmérőjű ereknél használható a gyakorlatban. A mi kutatásunkban 3 mm-es ereket alkalmaztunk, tehát közel 5 mm-t kell egymásba csúsztatni. Ennyi szabad ér hossz ritkán áll rendelkezésre. A rögzítő öltéseket, melyeket a distalis érvégbe és a proximális érvég adventitiájába helyeztünk, különös odafigyeléssel kellett behelyezni. Nem volt elég a distalis érvéget egyszerűen a proximális ér falához hozzáöltetni, mert így nem húztuk rá a proximális érre kellően a distalis eret. Ezáltal az egymásba csúsztatott érfalak nem feküdtek össze és ez jelentős szivárgást okozott.

Erek szakadása: A szakítószilárdság mérései során megvizsgáltuk az elszakadt ereket is, hogy esetleges újabb összefüggéseket figyelhessünk meg. Az egyszerű csomós anastomosisoknál két fő csoportot figyeltünk meg szakadási mintázat tekintetében. Az elsőben az összes öltés az egyik érvégben maradt, a másodikban pedig mindkét érvégben voltak öltések. A szakításról készül videókon megfigyelhető volt, hogy akkor maradt az öltés egy érvégben, ha az összes öltés egyszerre feszült meg, tehát az öltések egyenletesen voltak behelyezve. Így az ér nem az anastomosisnál szakadt el, hanem a varratsor közvetlen közelében. Ezzel szemben, ha egy öltés

a többihez képest több szövetet fogott össze, akkor annál az öltésnél indult meg a szakadás és az anastomosis szabálytalanul szakadt el. A tova futó varrat esetén pedig jellegzetesen gyűrűszerű szakadást találtunk a varratsor mentén.

**Fonalak szakadása:** A szakirodalomban is ismert tény, hogy egy fonal leggyengébb pontja a csomó. Ez a mi kísérleteinkben sem volt másként, a sértetlen fonal ugyanis mindig a csomó mellett szakadt el. A csipesszel meggyengített fonal pedig minden alkalommal a lapított szakasznál szakadt el.

### ***Nyomástűrő képesség***

A csoportok között az érátmérő tekintetében nem volt szignifikáns eltérés (egyszerű csomós vs. tova futó vs. „sleeve”:  $3,25 \pm 0,35$  mm vs.  $2,95 \pm 0,28$  mm vs.  $3,15 \pm 0,47$  mm). Az egyszerű csomós és a tova futó varrat között nem volt jelentős különbség a nyomástűrőképesség tekintetében. A legnagyobb szivárgást a „sleeve” technika eredményezte, amely  $40,2 \pm 12,8$  Hgmm volt, ez szignifikánsan magasabb a többi csoporthoz képest ( $p=0,029$  vs. egyszerű csomós, és  $p=0,016$  vs. tova futó). A módszerből fakadóan a legkevesebb öltésre a „sleeve” technikához volt szükség ( $6,4 \pm 1,1$  öltés). A többi csoport esetén jelentősen több öltést használtunk ( $p<0,0001$  vs. egyszerű csomós, és  $p=0,0001$  vs. tova futó). Szignifikánsan több öltés került behelyezésre a tova futó csoportban az egyszerű csomós csoporthoz képest. Az öltésszám az egyszerű csomós csoportban  $13,1 \pm 2,4$ , a tova futó csoportban pedig  $15,1 \pm 1,4$  volt. Összhangban az öltésszámmal, a „sleeve” technika bizonyult a leggyorsabbnak. Annak ellenére, hogy a tova futó varrat során több öltés került behelyezésre, mégis szignifikánsan gyorsabban elkészíthető volt az egyszerű csomós varrathoz képest.

Korreláció analízist végeztünk az öltésszámok és a nyomásesés összefüggésének megvizsgálásához. Egyik csoportban sem volt érdemi korreláció a két vizsgált paraméter között.

### ***Szakítószilárdság***

A szakítószilárdság mérések során erő-nyúlás görbéket elemeztünk. Számos értékes információ derült ki a görbékből az anastomosisok elkészítése közben vétett hibákról. Az ér helytelen rögzítése is megfigyelhető volt, mert ilyen esetben a rögzítő fonál megcsúszott az éren és lenyúlta az adventitiát, ezáltal egy plato-szerű szakaszt létrehozva a görbében. Ha egy öltés helytelenül helyeztünk be és a többi öltéshez képest nagyobb szövetmennyiséget fogott közre, akkor ez az öltés pattant el először vagy itt indult meg az ér szakadása. Ez jól látszódott a görbe lefutásában.

A tova futó varratok esetén időnként egy jelentős bemélyedést láttunk. Ez akkor fordult elő, amikor az varratsor vagy egy csomó megsérült az anastomosis elkészítése során. Így az elülső és a hátsó fali varratsor nem egyszerre, hanem két lépcsőben szakadt el. Lépcsőzetes mintázat volt megfigyelhető, ha az öltéseket szabálytalanul, egyenetlen távolságokra öltöttük be, ekkor az anastomosis öltésenként szakadt el.

Az erek szakítószilárdsága jelentősen csökkent az éregyesítések hatására. A 12 öltéses csomós és a 12 öltéses tova futó csoportok között nem volt szignifikáns különbség. Azonban a 8 öltéses csomós anastomosis jelentősen gyengébbnek bizonyult a másik két csoporthoz képest (12-öltéses csomós vs. 8-öltéses csomós:  $4,55 \pm 0,7$  N vs.  $3,47 \pm 0,32$  N,  $p=0,003$ ). A 12 öltéses csomós és tova futó varratok a fonalmoddellen jóval erősebbnek bizonyultak, mint az intakt erek.

Ezzel ellentétben a 8 öltéses csomós varrat nem mutatott érdemi különbséget a fonalmoddell és az intakt ér között. Minden anastomosis megvizsgáltunk a szakítás után és azt találtuk, hogy a 8 öltéses csomós csoportban nem csak az ér szövete hanem az öltések is elszakadtak. Ez azt sugallja, hogy egy közel 3 milliméteres éren ennyi öltés nem elég, mivel az ér helyett az öltések bizonyultak a gyengébb pontnak.

A legkevesbé megnyúló anastomosis a 8 öltéses csomós varrat volt ( $6,82 \pm 2,02$  mm). Az intakt erek szignifikánsan nagyobb nyúlást mutattak az anastomosisokhoz képest. A fonalmoddellen a 8 öltéses csomós csoportot leszámítva az anastomosis analógok kevesebb megnyúlást mutattak az anastomosisokhoz képest, de a különbség nem volt szignifikáns. Az intakt erekhez képest azonban jelentősen csökkent nyúlóképességet mértünk a fonalmoddellen, a 8 öltéses csomós csoport kivételével,

A rugalmasságot az erő és nyúlás hányadosaként (Young-modulus) adtuk meg, melyet a szakítási erő/nyúlás görbéken az arányossági határig tartó szakaszon határoztunk meg. Minél magasabb az érték, annál kevesebb alakváltozás következik be egységnyi erő hatására, tehát rigidebb a vizsgált minta. Az intakt ért esetében a rugalmasságot szignifikánsan csökkentette az anastomosis jelenléte az összes csoportban. Mindegyik anastomosis típus az eret rugalmasabbá tette. A fonalmoddell jóval rigideb az erekhez képest.

Az intakt erek és az azokon készült anastomosisok szakítószilárdságát megvizsgálva azt figyeltük meg, hogy egyedül a 12 öltéses csomós varrat esetén volt erős a korreláció. Ez azt sugallja, hogy ez a varrat típus őrzi meg leginkább az ér eredeti szakítószilárdságát.

A patkány aorta hasonló módon viselkedett, mint a csirke biomoddell femoralis artéria. Az intakt erek szakító szilárdsága szignifikánsan alacsonyabb volt, mivel az ezek az erek jelentősen vékonyabbak patkányban (patkány vs. csirke;  $2,21 \pm 0,26$  mm vs.  $3,25 \pm 0,38$  mm;  $p < 0,0001$ ).

A fő különbség abban nyilvánult meg, hogy az anastomosis által okozott szakítószilárdság-változód, valamint a megnyúlás és rugalmasság csökkenés jelentősebb volt a patkány ereken. Ezek közül a megnyúlás és a rugalmasság szignifikánsan nagyobb mértékben csökkent a patkányban a csirke erekhez képest.

Amikor magát a fonalat vizsgáltuk, az eredmények gyakorlatilag nem mutattak szórást, a 10/0 polyamid fonal  $0,71 \pm 0$  N erőnél szakadt el. Ez is mutatja, hogy a fonalak milyen pontosan lettek gyártva, s hogy a mérőműszerünk precíz. A csomó átlagosan 0,23 N-nal csökkentette a fonal szakítószilárdságát. Egy öltés átlagosan nem volt képes  $1,29 \pm 0,03$  N erőnek ellenállni, de a lapított szakasz  $1,06 \pm 0,06$  N-t gyengített az öltéseken. A csomó nem változtatta meg érdemlegesen a fonal megnyúló képességét, s ugyanezt tapasztaltuk a lapított szakasz vizsgálatánál is. Ezzel szemben a rugalmasságot a csomó közel 30%-kal csökkentette (fonal vs. csomós fonal:  $0,68 \pm 0,11$  vs.  $0,42 \pm 0,06$ ;  $p=0,0006$ ), a lapított fonal szintén szignifikáns hatást fejtett ki (öltés vs. lapított öltés;  $3,00 \pm 0,49$  vs.  $2,1 \pm 0,10$ ;  $p=0,0317$ ).

A legalacsonyabb szakítószilárdság és rugalmasság értékeket a szabálytalanul megcsomózott öltések mutatták. Ezek szignifikánsan alacsonyabbak voltak mind az öltéshez, mind pedig a lapított öltéshez képest is ( $2,18 \pm 0,1$  N vs.  $0,33 \pm 0,09$  N,  $p=0,0007$ ).

## **Hurok alakú véna graft és az arterio-venosus fistula**

### ***Általános megfigyelések***

Az állatokat kétnaponta ellenőriztük és a ketrecből kiemelve, fizikálisan megvizsgáltuk a műtési sebeket és az operált végtagokat. Az áloperált csoportban nem találtunk érdemi eltérést a vizsgálatok során.

Minden állatot megvizsgáltunk a második posztoperatív héten SPECT-CT és kontrasztanyag MRI segítségével. Összesen két esetben találtunk elzáródást, egyet a „loop” és egyet a fistula csoportban. Ezeket az állatokat kizártuk a kutatásból és pótoltuk őket.

A vizsgálati időszak során elzáródást nem mutató erek mindegyike sikeresen maturálódott, arterializálódott. A fistula fala megvastagodott és átmérője megnövekedett. A „loop” graftok is sikeresen arterializálódtak, faluk megvastagodott és kellő vérellátást biztosítottak a végtagok számára. Így az összes operált végtag alakilag és funkcionálisan épp maradt. Az állatoknál nem találtunk eltérést az ellenoldali nem operált végtag és az operált végtag között.

## ***Makroszkópos morphologiai vizsgálatok***

Az állatokat az 5. posztoperatív héten altatásban megvizsgáltuk és exploratív laparotomiát is végeztünk rajtuk. Feljegyeztük az érintett erek külső átmérőjét és a jobb oldali arteria iliaca communis, amely az operált végtaghoz futott. Ez szignifikánsan vastagabb volt az ellenoldalihoz képest ( $1,46 \pm 0,1$  mm vs.  $2,00 \pm 0,29$  mm,  $p=0,0041$ ). A fistula csoportban az operált oldalon az arteria és vena femoralis szintén jelentősen megvastagodtak az ellenoldali párjaikhoz képest). Ilyen eltéréseket a „loop” csoportban nem találtunk.

Jól látható volt a vena cava caudalis nem homogén vénás vér színű, hanem egy vonalban pirosabb áttetsző módon, az artériás vérből származó áramvonalak mentén. Visszaköveztük az éren a vékony vonalat és kiderült, hogy a fistula szájadékból származik. Tehát a vér szinte azonnal lamináriássá változott az SIEV beszájadásától és a két vér sokáig szinte alig keveredett. Ebből a vérből mintát is vettünk, melynek részleteit a *vérgáz analízis* fejezetben részleteztek.

A fistula csoportban az ereken mért külső átmérők mindegyike szignifikánsan megvastagodott. A SIEV az arterio-venosus anastomosistól számítva a SIEV és a femoralis véna beszájadásáig jelentősen megvastagodott (proximalis szakasz vs. distalis szakasz,  $1,40 \pm 0,22$  mm vs.  $2,67 \pm 0,55$  mm,  $p<0.0001$ ). A fistula alakja is jelentősen megváltozott mivel a horizontális átmérő szignifikánsan nőtt, de a vertikális átmérő nem mutatott érdemi eltérést. Emellett a graft hossz is szignifikánsan megnövekedett az 5 hét érés következtében.

A „loop” csoportban a fistula csoporttal ellentétben nem figyeltünk meg jelentős érátmérő növekedést a mért pontoknál. Az egyetlen szignifikáns különbséget a distalis anastomosistól distalisán találtuk (műtét előtt vs. PO5 hét:  $1,09 \pm 0,09$  mm vs.  $1,19 \pm 0,09$  mm,  $p=0,0216$ ). Ennek további részleteit a szövettani és áramlási szimulációs csoportban részletezem. Alakváltozás azonban itt is jól megfigyelhető volt, mind a vertikális, mind pedig a horizontális átmérő jelentősen csökkent. A „loop” szárai által bezárt szög is csökkent. Ezekkel összefüggésben a graft interpositum hossza szignifikánsan csökkent (műtét előtt vs. PO5 hét:  $19,03 \pm 1,40$  mm vs.  $16,13 \pm 2,03$  mm,  $p=0,0015$ )

## ***Szövettani eredmények***

A szisztémás vizsgálatok során makroszkópos eltérést nem találtunk az állatok szívéen a csoportok között. Ám a szövettani vizsgálatok megmutatták, hogy a fistula által okozott vénás nyomásemelkedés jelentős lehetett, ugyanis a jobb kamra falvastagsága szignifikánsan megnagyobbodott (kontroll vs. fistula:  $0,81 \pm 0,13$  mm vs.  $0,95 \pm 0,17$  mm,  $p=0,0046$ ). Emellett a fistula jelentős cardialis terhet rótt az állatokra, hiszen a balkamra szignifikánsan megvastagodott

a kontroll csoporthoz képest ( $2,02 \pm 0,22$  mm vs.  $2,47 \pm 0,30$  mm,  $p < 0,0001$ ) (52. ábra). A „loop” csoportban nem találtunk ilyen eltéréseket.

Az álloperált csoportban a szövettani metszeteken nem volt látható érdemi eltérés az utánkövetési időszak végén. Az erek körüli mérsékelt növekedett mennyiségű kötőszövetet a műtétet követő hegesezésnek tudtuk be. A tunica media mindkét műtött csoportban szignifikánsan megvastagodott az álloperált csoporthoz képest, de a tunica intima csak a „loop” csoportban vastagodott meg jelentősen.

A csoporton belül is összehasonlítottunk különböző lokalizációkat. A fistula distalis belső átmérője megnövekedett a proximális szakaszhoz képest ( $0,448 \pm 0,124$  mm vs.  $1,062 \pm 0,191$  mm,  $p = 0,0079$ ). Az anastomosis vénás ágát felosztottuk egy felső és egy alsó fali területre. A felső falon jól megfigyelhető tunica media megvastagodás volt látható, míg az alsó falon kisebb, de szignifikáns mértékű megvastagodást figyeltünk meg az intakt érhez képest ( $178,0 \pm 47,58$   $\mu$ m vs.  $61,82 \pm 16,27$   $\mu$ m,  $p < 0,0001$ ).

A fistula csoportban az arterio-venosus anastomosistól distalisán az artériás ágban találtunk egy foltot tunica intima megvastagodással. Egy másik ilyen területet is találtunk az artériás falon az anastomosis nyílással szemben ott, ahol a vér elhagyja az artériát és belép a vénába. További IH képződést a SIEV és a vena femoralis találkozásának területén is találtunk. A folt a SIEV beszájadásának területén keletkezett a vena femoralis falán ott, ahol a SIEV felől beáramlik a vér. A vizsgált vénás rendszerben máshol nem találtunk IH képződést.

A „loop” csoportban a graft lefutása mentén érdemi belső átmérő különbség nem alakult ki az arterializációt követően. Nem volt érdemi eltérés a tunica media vastagság tekintetében proximális és distalis végeg között. Ezzel szemben folyamatosan vastagodó tunica intima réteget találtunk a hurokban a proximális anastomosistól a distalis anastomosisig. Ez a különbség szignifikáns mértékű volt a végpontok között.

A graft külső és belső lumenis íve között szintén jól látható aszimmetrikus intima megvastagodás volt látható: az érbelhártya jóval vékonyabb volt a külső ív területén. Megvizsgáltuk az anastomosisok területét és jelentős különbség volt látható a proximális és a distalis anastomosis között. A proximális anastomosis területén nem volt IH megfigyelhető, míg a distalis anastomosis területén a külső és a belső íven is szignifikáns intima megvastagodást találtunk. Ez a megvastagodás az anastomosistól distalisán is megjelent az artériában, de ennek ellenére a belső átmérőben nem láttunk érdemi szűkületet. Ez magyarázhatja a morfológiai vizsgálatok során talált külső átmérő növekedést.

### ***Pásztázó elektron mikroszkópos vizsgálatok***

A pásztázó elektron mikroszkóp segítségével megvizsgáltuk az öntvények felületét. Jól látható különbség volt a műtét után közvetlenül kiöntött és a PO5 héten készült öntvények között. A frissen készített öntvények felülete jóval durvább volt, míg az öt hét regenerációt és remodellációt követően az ér lumene kisimult. Érdekes módon annak ellenére, hogy makroszkóposan az anastomosisok nem mutattak eltérést, az öntvényeken jó látható gyűrűszerű benyomat jelent meg az arterio-venosus találkozásnál. Itt is jól látható a remodellációt követő felszíni kisimulás.

### ***A 3D áramlási szimulációk eredményei***

Az áloperált csoportban nem találtunk eltérést az áramlási szimulációs vizsgálatok során az intakt érhez képest. Míg a fistulában jelentős nyomásgrádienszt láttunk, addig a „loop” csoportban nem volt érdemi eltérés a végpontok között. Az erek érése és artelializációja során a nyomásgrádiens nem mutatott eltérést, egyedül a nyomás eloszlási mintázata változott meg a fistula csoportban. Az egyenletes csökkenés helyett az első pár millimétert követően a nyomás hirtelen csökkent, itt az árátmérő is jelentősen megnövekedett. Ezzel szemben a hurok alakú graftban a mintázat nem mutatott eltérést.

A nyírófeszültség a fistula csoportban a nyomáshoz hasonlóan változott. Az ér teljes lefutásában a műtétet követően a nyírófeszültség körkörösén magas értéket mutatott. Az érést követően a proximalis szakasz első pár millimétere után hirtelen lecsökkent szintén ott, ahol az ér kiszélesedik.

Ezzel ellentétesen viselkedett a véna hurok, mivel kezdetben jó látható volt egy enyhe átmérő növekedés a véna graft természetes alakjából kifolyólag, majd ez az érést követően eltűnt és az belső érátmérő egyenletessé vált. A nyírófeszültség ezzel együtt úgy változott, hogy proximálisan kezdetben magasabb nyírófeszültség értékek voltak láthatóak a distalis véghez képest, majd az artializációt követően a nyírófeszültség jóval homogénebbé vált a „loop” teljes területén.

A fistula részletesebb vizsgálatok megfigyeltük, hogy az anastomosis területén ahogy a vér elhagyja az artériát, megszűnik a körkörös nyírófeszültség. A vénás ág kezdetén és a femoralis artéria anastomosis utáni szakaszán egy alsó alacsony és egy felső magas nyírófeszültségű régióra oszlik, csak 1-2 milliméterrel később válik ismét újra körkörösé az artériában. Ezzel szemben fistulában végig követhető a külső ív mentés magasabb nyíró feszültség. A belső és a külső ív között medialisán a különbség folyamatosan csökkent, de szignifikáns marad. A v. femoralis

területén a beszádazástól proximálisan nem figyeltünk meg érdemi eltérést. Két olyan területet találtunk, ahol a fali nyírófeszültség a környezetétől drasztikusan eltért („hot-spot”). Az egyik az arterio-venosus anastomosis vénás részének a felső falán található. A másik pedig a SIEV femoralis vénába való beömlésével szemben a v. femoralis falán.

A „loop” csoportban szintén szignifikáns eltéréseket találtunk a vizsgált mérési pontokban. A proximalis szakaszon magasabb nyírófeszültség értékeket mértünk a distalis véghez képest, de a külső és a belső ív között is jelentős eltérés mutatkozott. Ez a friss „loop” teljes területén megfigyelhető volt, az érett graftban a különbség a hurok mediális szakaszáig volt csak követhető, a distalis harmadban a két ív között nem láttunk érdemi eltérést. Az arterializációt követően a külső és belső ív között a különbség mértéke a két fal között jelentősen csökkent.

### ***A szövettani és a 3D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása***

A szimuláció egyenletes fali nyírófeszültséget mutatott az áloperált ereken, ezzel egybevégezve szövettani elváltozást sem találtunk. A fistula csoportban megfigyelt aszimmetrikus nyírófeszültség megoszlás az arterio-venosus anastomosis területén a distalis artériás szárban és a vénás ágban megegyezett az szövettani elváltozásokkal. A vénás ágban a felső falon, ahol a szimuláció is magas nyírófeszültséget mutatott, jelentős tunica media megvastagodást láttunk, míg az artériás ágban IH képződést figyeltünk meg az alacsony nyírófeszültségű régióban. Az anastomosis artériás oldalán is az alacsony nyírófeszültségű terület nagyban korrelált az ott talált IH-folt lokalizációjával. Ahol a szimuláció hirtelen nyomásesést mutatott a fistulában, ott a vénán egy jelentős kiszélesedést találtunk. A distalis „hot-spot” területén, amely a SIEV – v. femoralis szájadékánál helyezkedett el, egybevégett a jelentős IH képződés helyével a v. femoralisban.

A „loop” csoportban látott nyírófeszültség-mintázat szintén jól megfelelt a szövettani elváltozásoknak. Az ívek mentén mutatott aszimmetrikus nyírófeszültség eloszlásnak jól megfeleltethetően változott a tunica intima megvastagodás mértéke. Az distalis anastomosis területén, ahol a szimuláció körkörösén alacsony nyírófeszültséget mutatott, a szövettani metszeteken is mindkét oldali egyenletes tunica intima megvastagodást találtunk.

### ***Haematológiai paraméterek***

A haematológiai értékek a legnagyobb változást az PO1 héten mutatták. Mindegyik csoporton belül szignifikáns csökkenést tapasztalunk a Hgb, Hct és a vörösvérsejtszám értékek tekintetében. A „loop” csoportban láttuk a legnagyobb csökkenést.

Az MCV értékek mindegyik csoportban megemelkedtek, ez követően fokozatosan az PO5 hétig csökkenést mutattak. A „loop” csoportban, az emelkedés egészen az PO1 hétig tartott, ahol szignifikánsan magasabb volt a többi csoporthoz képest és csak ezután kezdett csökkenni. A fistula csoportban a Hct, vvs szám, Hgb értékek a többi csoporttal szemben nem normalizálódtak a PO5 hétre. Az ekkor mért adatok szignifikánsan magasabbak voltak az alap és a többi csoport utolsó méréseivel képest is. Az MCH és MCHC adatok tekintetében érdemi eltérést nem találtunk.

A thrombocyta szám esetén a „loop” csoportban találtunk eltérést, amely az PO1 héten jóval magasabb értéket mutatott a többi csoporthoz képest. A fehérvérsejtszám a műtétet követően megemelkedett, de szignifikánsan lecsökkent a követéses periódus végére az áloperált és a „loop” csoportban, azonban a fistula csoportban végig magasabb értékeken maradt.

### ***Vérgáz analízis eredményei***

Érdemi eltérést csak a parciális oxigén és széndioxid nyomás mutatott. A fistula csoportban a  $p\text{CO}_2$  jelentősen megemelkedett a vizsgált időszak végére (alap vs. PO5 hét:  $35,67 \pm 5,81$  Hgmm vs.  $47,54 \pm 11,22$  Hgmm,  $p=0,0076$ ). Ezzel összhangban a  $p\text{O}_2$  csökkent (alap vs. PO5 hét:  $67,08 \pm 4,93$  Hgmm vs.  $57,08 \pm 3,19$  Hgmm,  $p=0,461$ ). Az 5. posztoperatív héten a fistula csoportban volt mérhető a legmagasabb  $p\text{O}_2$  érték. Ebben a csoportban vérmintát vettünk a v. cava caudalisból is, ahol már kevert vér áramlott. Leglátványosabban a  $p\text{O}_2$  (vénás vs. kevert:  $57,083 \pm 3,20$  Hgmm vs.  $63,12 \pm 11,14$  Hgmm,  $p=0,0099$ ) és a glükóz koncentráció (vénás vs. kevert:  $18,95 \pm 3,61$  mmol/l vs.  $24,93 \pm 2,31$  mmol/l,  $p=0,0109$ ) emelkedett meg. A többi sav-bázis és elektrolit vizsgálatok nem mutattak érdemi eltérést.

### ***Haemorheologiai eredmények***

A fistula csoportban az 5. posztoperatív héten a kiindulási értékekhez képest szignifikáns vörösvérsejt deformabilitás emelkedést találtunk, ám ez csak a  $16,87$  Pa nyírófeszültség felett volt látható. A haematologiai eredményekkel egybevetve a legjelentősebb vörösvérsejt deformabilitás változást az PO1 héten találtunk a „loop” csoportban. Ezek a csökkent értékek a többi mérési időponthoz és a többi csoporthoz képest is szignifikánsak voltak. A legszembetűnőbb különbséget  $1,69$  és  $5,33$  Pa nyírófeszültség között találtunk a „loop” csoportban az PO1 héten. Az PO5 hétre a csoportok között nem volt érdemi eltérés.

A fistula csoportot leszámítva az  $\text{EI}_{\text{max}}$  és az  $\text{EI}_{\text{max}}/\text{SS}_{1/2}$  értékek normalizálódtak a követéses időszak végére, ám a fistula csoportban ismételt jelentős emelkedést tapasztaltunk a

kiindulási értékekhez képest (EImax: alap vs. PO5 hét;  $0,55 \pm 0,023$  vs.  $0,57 \pm 0,015$ ;  $p=0,0015$ ). A többi származtatott paraméter nem mutatott érdemi eltérést.

A vörösvérsejt aggregatio jelentős csökkenést mutatott a műtétet követően a fistula és a „loop” csoportban. Ezt követően a mérési időpontokban rögzített adatok szabálytalan mintázatot mutattak, de az értékek normalizálódtak a PO5 hétre. Ezzel szemben a fistula csoportban a szignifikáns emelkedést figyeltünk meg a vizsgálati időszak végére.

### ***Hemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatok***

A SIEV lezárásakor az artériás középnyomás szignifikánsan megemelkedett, majd a klip levételekor visszacsökkent. Ezzel is mutatva a fistula jelentős szívre gyakorolt jelentős hatását.

A mikrokeringési adatokon látható volt, hogy a hátsó lábak talpi mikrokeringés adatai jelentősen emelkedtek a megfigyelési időszak alatt az áloperált csoportban. A fistula szisztémásan is csökkenthette a mikrokeringést, ugyanis egyik hátsó végtagon sem láttuk az áloperált csoportban megfigyelt emelkedést. Azonban a „loop” csoportban ez a növekedés csak az operált lábon látszott. A fistula csoport adatai a többi csoportéhoz képest is szignifikánsabban alacsonyabb értékeket mutattak az PO5. héten.

Ezeket a megfigyeléseket a tapfelszíni hőmérséklet adatok is alátámasztották. A felszíni hőmérséklet adatai ugyan azon mintázatot mutatták mint a mikrokeringés adatai.

## FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Biopreparátumokon és *ex vivo* ereken végzett biomechanikai vizsgálatok során az egyszerű csomós a tovaftató és a módosított Lauritzen-féle „sleeve” technika összehasonlításával kimutattuk, hogy a „sleeve” technika kivitelezése a leggyorsabb, azonban a nyomás tűró képessége ennek a módszernek a legkisebb. A csomós és a tovaftató varratok között nincs jelentős szakítószilárdság-beli különbség. A csomós varrat képes az ér eredeti állapotát leginkább helyreállítani, a legkevesebb morphologiai eltéréssel. A tű- és fonalkezelés, a csomózási technika azok a tényezők, amelyek a legnagyobb hatással vannak a szakítószilárdságra azonos öltés szám mellett.
2. Patkányban a művi ér-anastomosisok regenerációjára, komplex funkcionális és morphologiai vizsgálataira alkalmas arterio-venosus fistula (AVF) és hurok alakú véna interpozitum graft modellt dolgoztunk ki.
3. A femoralis régióban létrehozott arterio-venosus fistula (AVF) és hurok alakú véna interpozitum graft jelentős morphologiai és szövettani változásokhoz vezetett az érintett érszakaszokon, távoli cardiovascularis eltéréseket azonban csak a fistula eredményezett. A fistula és a „loop” jól elkülöníthető különböző nyomású és nyírófeszültségű régiókat hozott létre, mely területeken az áramlási komponensek és az érfal elváltozásai jól vizsgálhatóak szövettani vizsgálatok és 3D áramlási szimuláció segítségével. A nyomás és a nyírófeszültség fordított arányosságú változása esetén figyeltünk meg a tunica intima megvastagodását. A tunica media csak mindkét érték magas szintje esetén mutatott megvastagodást. A 3D szimuláció által mutatott egyenetlen áramlási mintázatok jól egybevágtak a szövettani metszetek során talált eltérésekkel. Ezzel is mutatva a technika pontosságát és esetleges prediktív képességeit.
4. A haemorheologiai, haematologiai adatok tekintetében a legjelentősebb korai posztoperatív eltéréseket a „loop” csoportban találtunk. Ezek a paraméterek normalizálódtak, azonban a fistula szignifikáns késői eltéréseket eredményezett. A fistula közvetlenül „steal”-effektus révén, közvetve a haemorheologiai paraméterek változásai által csökkentette a mikrokeringési értékeket.



Nyilvántartási szám: DEENK/371/2022.PL  
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Szabó Balázs

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

### A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Szabó, B.**, Gasz, B., Fazekas, L., Varga, Á., Kiss-Pápai, L., Matolay, O., Rezsabek, Z., Al-Smadi, M. W., Németh, N.: Heterogeneous Maturation of Arterio-Venous Fistulas and Loop-Shaped Venous Interposition Grafts: a Histological and 3D Flow Simulation Comparison. *Biomedicines*. 10, 1-14, 2022.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10071508>  
IF: 4.757 (2021)
2. **Szabó, B.**, Fazekas, L., Ghanem, S., Godó, Z., Madar, J., Apró, A., Németh, N.: Biomechanical comparison of microvascular anastomoses prepared by various suturing techniques. *Injury-Int. J. Care Inj.* 51 (12), 2866-2873, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.injury.2020.02.104>  
IF: 2.586
3. **Szabó, B.**, Tanczos, B., Varga, Á., Baráth, B., Ghanem, S., Rezsabek, Z., Al-Smadi, M. W., Németh, N.: Micro-rheological changes of red blood cells in the presence of an arterio-venous fistula or a loop-shaped venous graft in the rat. *Front. Physiol.* 11, 1-12, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.616528>  
IF: 4.566

### További közlemények

4. Körei, C., **Szabó, B.**, Varga, Á., Baráth, B., Deák, Á., Ványolos, E., Hargitai, Z., Kovács, I., Németh, N., Pető, K.: Hematological, Micro-Rheological, and Metabolic Changes Modulated by Local Ischemic Pre- and Post-Conditioning in Rat Limb Ischemia-Reperfusion. *Metabolites*. 11 (11), 776, 2021.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11110776>  
IF: 5.581





5. Ghanem, S., Lesznyák, T., Fazekas, L., Táncczos, B., Baráth, B., Nasser, M., Horváth, L., Bidiga, L., **Szabó, B.**, Deák, Á., Pető, K., Németh, N.: Microrheology, microcirculation and structural compensatory mechanisms of a chronic kidney disease rat model: a preliminary study.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 75 (1), 47-56, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-190763>  
IF: 2.375
6. Varga, G., Ghanem, S., **Szabó, B.**, Nagy, K., Pál, N., Táncczos, B., Somogyi, V., Baráth, B., Deák, Á., Matolay, O., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Which remote ischemic preconditioning protocol is favorable in renal ischemia-reperfusion injury in the rat?  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 76 (3), 439-451, 2020.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-200916>  
IF: 2.375
7. Molnár, Á., Magyar, Z., Nachmias, B. D., Mann, D., **Szabó, B.**, Tóth, L., Németh, N.: Effect of short-term ischemia on microcirculation and wound healing of adipocutaneous flaps in the rat.  
*Acta Cir. Bras.* 34 (12), 1-9, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020190120000003>  
IF: 0.974
8. Ghanem, S., Somogyi, V., Táncczos, B., **Szabó, B.**, Deák, Á., Németh, N.: Modulation of micro-rheological and hematological parameters in the presence of artificial carotid-jugular fistula in rats.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 71 (3), 325-335, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-180411>  
IF: 1.741
9. Varga, G., Ghanem, S., **Szabó, B.**, Nagy, K., Pál, N., Táncczos, B., Somogyi, V., Baráth, B., Deák, Á., Pető, K., Németh, N.: Renal ischemia-reperfusion-induced metabolic and micro-rheological alterations and their modulation by remote organ ischemic preconditioning protocols in the rat.  
*Clin. Hemorheol. Microcirc.* 71 (2), 225-236, 2019.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-189414>  
IF: 1.741

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 26,696

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):  
11,909

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

Debrecen, 2022.07.19.



## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Műtéttani Tanszékén eltöltött nappali tagozatos hallgatói, TDK-s és PhD-s éveim alatt már a kezdetektől lehetőséget kaptam a fejlődésre és támogatást kaptam az önálló munkára és saját elképzeléseim megvalósítására.

Kiemelt köszönet jár témavezetőmnek **Prof. Dr. Németh Norbertnek**, a Tanszék vezetőjének, aki támogatott, utamat egyengette és arról, ha esetlegesen letértem, türelemmel visszairányított. Hozzájárult sebészi tapasztaltom gyarapodásához és számos tudományos elismeréshez segített hozzá.

Megtisztelő számomra, hogy lehetőségem volt **Prof Dr. Furka Istvántól (1935-2021)** és **Prof. Dr. Mikó Iréntől** megannyi értékes tapasztalatot gyűjtenem.

Köszönettel tartozom **Dr. Tóth Enikőnek**, aki hallgató koromban felfigyelt rám és elindított a mikrosebészet kalandos ösvényein.

Köszönöm segítségét **Dr. Deák Ádám**, adjunktus úrnak a segítségéért, s hogy állatorvosi ismereteivel és szakértelmével előrevitte kutatásaimat.

Hálával tartozom **Dr. Gasz Baláznak** és **Dr. Kiss-Pápai Leventének** (Pécsi Tudományegyetem) a 3D áramlási szimulációk elkészítéséért és elemzéséért.

A kutatás során készített képalkotó vizsgálatok kivitelezéséért külön köszönet **Dr. Trencsényi György** tanár úrnak és **Dr. Daróczi Lajos** adjunktus uraknak.

Köszönöm **Dr. Matolay Orsolyának** a Debreceni Egyetem Patológiai Intézetéből a sok segítséget a szövettani metszetek elkészítésében és azok elemzésében.

Megannyi kollegámnak, **Tánczos Bencének**, **Varga Ádámnak**, **Mátrai Ádámnak**, **Baráth Barbarának** köszönöm fáradhatatlan laboratóriumi munkájukat.

TDK hallgatóimnak, akik PhD kutatásomban aktívan részt vettek: **Dr. Rezsabek Zsófia**, **Dr. Fazekas László**, **Dr. Mohammad Walid Al-Smadi**, külön köszönet jár.

Hálával tartozom **Gödény Györgynének**, aki a mikrosebészeti műtőben eltöltött megannyi óra alatt végig kitartóan mellettem állt, fáradhatatlanul segített és jelenlétével színesítette hétköznapijaimat.

E disszertációban és a publikációkban megjelenő kiváló minőségű képanyag elkészítéséért és szerkesztéséért köszönettel tartozom **Füzesi Róbertnek**.

Nem kis köszönet és hála illeti **Feleségemet**, aki a még meg nem született gyermekünk szíve alatt hordása közben is tömérdek támogatást nyújtott és ösztönzött és túllendített a nehézségeket, hogy e munka elkészülhessen.

Végezetül köszönet minden intézeti munkatársnak és mindenkinek, aki támogatott és hozzájárult tudományos munkám elkészítéséhez.