

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Microvascularis anastomosisok morfológiai, biomechanikai és áramlástanai változásai

Dr. Szabó Balázs

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert



**Debreceni Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
Debrecen, 2022**

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1. Éregyesítési technikák és vizsgáló módszerek	7
2.1.1. Varrattechnikák.....	7
2.1.2. Varratnélküli technikák.....	10
2.1.3. Érpótló módszerek	12
2.1.4. Biomechanikai vizsgáló módszerek.....	15
2.2. A véráramlás biofizikája.....	17
2.2.1. A vér áramlási komponensei és hatásuk az érfalra	18
2.2.2. Áramlási szimulációk.....	22
2.2.3. Haemorheológiai paraméterek és befolyásoló tényezők	22
CÉLKITŰZÉSEK	24
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	25
3.1. Anastomosisok biomechanikai vizsgálatai	25
3.1.1. Biomodellek és kísérleti állatok, csoportok	25
3.1.2. Műtési protokoll a nyomástűrő képesség méréséhez	25
3.1.3. Nyomástűrő képesség mérése	30
3.1.4. Műtési protokoll a szakítószilárdság méréséhez	30
3.1.5. Szakítószilárdság mérése	31
3.2. Hurok alakú vénagraft és az arterio-venosus fistula vizsgálatai.....	33
3.2.1. Műtési protokoll	34
3.2.2. Képalkotó vizsgálatok: MRI, SPECT-CT.....	40
3.2.3. Öntvénykészítési protokoll és 3D szimuláció	41
3.2.4. Elektronmikroszkópos vizsgálatok	44
3.2.5. Szövettani vizsgálatok	45
3.2.6. Vervételi technikák és időpontok.....	47
3.2.7. Haematológiai mérések.....	47
3.2.8. Vércél analízis	47
3.2.9. Haemorheológiai mérések: vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio	48
3.2.10. Hemodinamikai és mikrokeringési mérések	49
3.3. Adatgyűjtési és tárolási módszerek	51
3.4. Statisztikai módszerek	51
4. EREDMÉNYEK	52
4.1. Művi ér-anastomosisok biomechanikai vizsgálatai	52
4.1.1. Műtéttechnikai tapasztalatok	52

4.1.2. Kiemelt esetek.....	54
4.1.3. Nyomástűrő képesség	55
4.2. Hurok alakú véna graft és az arterio-venosus fistula.....	60
4.2.1. Általános megfigyelések.....	60
4.2.2. Makroszkópos morfológiai vizsgálatok	61
4.2.3. Szöveti eredmények	65
4.2.4. Pásztázó elektron mikroszkópos vizsgálatok.....	69
4.2.5. A 3D áramlási szimulációk eredményei	69
4.2.6. A szöveti és a 3D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása	73
4.2.7. Haematológiai paraméterek	76
4.2.8. Vérgáz analízis eredményei	77
4.2.9. Haemorheológiai eredmények	78
4.2.10. Haemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatok	80
5. MEGBESZÉLÉS.....	82
5.1. Művi ér-anastomosisok biomechanikai vizsgálatai.....	82
5.2. Arterio-venosus fistula és „loop” graft áramlási vizsgálatai	85
6. FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK.....	92
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	93
Summary.....	94
8. IRODALOMJEGYZÉK.....	95
8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke.....	95
8.2. Hitelesített publikációs lista.....	106
9. TÁRGYSZAVAK.....	108
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	109
11. FÜGGELÉK.....	110

Gyakrabban használt rövidítések:

AVF - arterio-venosus fistula

Htc - haematocrit

Hgb - haemoglobin

IH - intima hyperplasia

MCV - mean corpuscular volume (átlagos vörösvértest térfogat)

Thr - vérlemezke

PO - posztoperatív

Vvs- vörösvérsejt

Fvs - fehérvérsejt

EI - elongációs index

EI_{max} - maximális elongációs index

SS_{1/2} - maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség

1. BEVEZETÉS

Napjainkban számalan 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 ruptúrájához is vezethet, valamint előfordulhat még az ér rendellenes kitágulása, vagy a graft érési rendellenessége.^{1,2} 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 szivároghat a vér, vagy akár az egész varratsor megnyílhat.^{3,4} A helytelen sebészi technika, amely a szöveteket károsítja, vérrög-képződéshez vezethet.⁵ Késői komplikációk az ér beszűkülése vagy az úgynevezett aneurysma képződé, ami az ér kóros kitágulását jelenti.^{6,7} 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.⁸ Ezek elkerülése napjainkban is még jelentős problémát okoz. Az ultrastrukturális, immunhisztokémiai, áramlástani és még sok egyéb vizsgáló módszerek megjelenésével eddig ismeretlen, nem vizsgálható mechanizmusok és kórokok váltak megfigyelhetővé.⁹⁻¹²

Az egyik gyorsan fejlődő módszertani terület az áramlástani szimulációk alkalmazása a cardiovascularis rendszerben. Ezen szimulációk egyik alapja a Navier–Stokes-egyenlet, amely a viszkózus folyadék áramlását írja le.¹³ 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.¹⁴⁻¹⁶ Ezeknek a módszereknek a segítségével akár egy operáció előre megtervezhető a legmegfelelőbb áramlási körülmények megteremtéséhez.^{17,18}

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.¹⁹

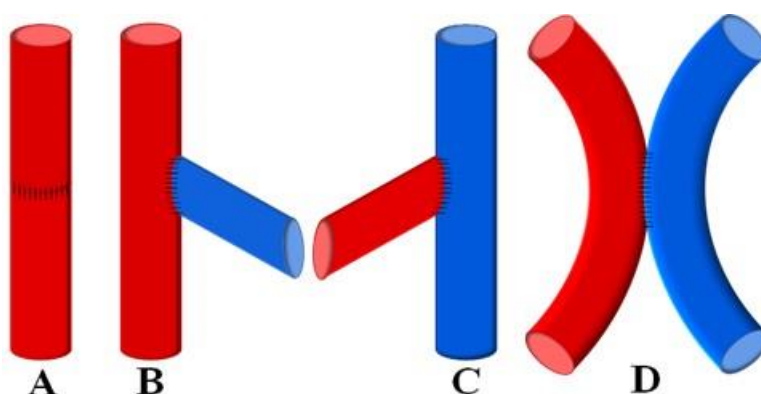
Mindezek az előbb említett tényezők miatt fontos kutatási téma az erek várható alkalmazási területnek megfelelő biomechanikai tesztelése, hogy tisztában legyünk az adott varratípus szerkezeti stabilitásával. Ilyen például a varróanyagok és az erek szakítószilárdság vagy nyomástűrő vizsgálatai. Manapság ezeket kevésbé vizsgálják. E disszertáció írásakor a közismert 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.

Ezen mérőmódszerek a mikrosebészeti oktatás során is hasznos információval szolgálhatnak a résztvevők számára.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Éregyesítési technikák és vizsgáló módszerek

Az erek egyesítésére számos technikát dolgoztak ki. Alapvetően négy különböző típust különítünk el, ha az érvégek egymáshoz viszonyított helyzetét vesszük figyelembe.²⁰ Az első a vég a véghez azaz „end-to-end” típusú (1. ábra, A). A következő kettő típus látszólag ugyanaz, de a vér áramlási irányának függvényében elkülönítjük őket. Az egyik az oldal a véghez, azaz „side-to-end”, itt a vér az egyenesen haladó ér felől folyik az oldalág irányába (1. ábra, B). A vég az oldalhoz azaz „end-to-side” esetén az oldalágból áramlik a vér a fő törzsbe (1. ábra, C). A negyedik típus pedig az oldal az oldalhoz. Ebben az esetben az erek párhuzamosan fekszenek egymás mellett és az oldalukon ejtett metszések összevarráásával jön létre az anastomosis (1. ábra, D). Az alkalmazandó módszert sok tényező befolyásolja: az érsérülés fajtája, a műtét típusa, az anatómiai szituáció, a rendelkezésre álló idő és az erek átmérője és geometriája.^{21–25} Ahhoz, hogy az adott műtéti szituációban melyiket alkalmazza a sebész, elengedhetetlen az alapos elméleti tudás és gyakorlat.²⁰ Hiszen a rossz technika esetén különböző szövődmények fordulhatnak elő, mint thrombosis, aneurysma, varrat ruptura, feszülés, szűkület.^{8,26,27}



1. ábra

Éregyesítési típusok az érvégek egymáshoz viszonyított helyzete szerint

piros: artéria; kék: véna; **A:** vég a véghez (end-to-end); **B:** oldal a véghez (side-to-end);

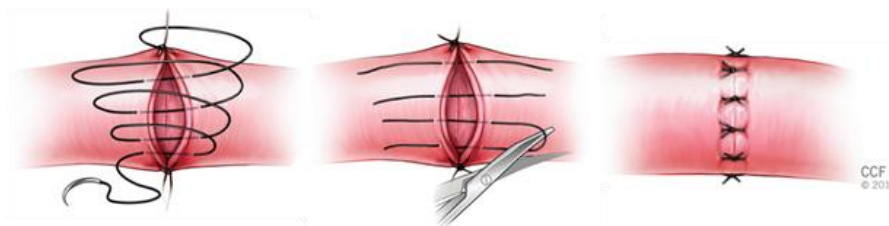
C: vég az oldalhoz (end-to-side); **D:** oldal az oldalhoz (side-to-side)

2.1.1. Varrattechnikák

Ahhoz, hogy a szövetek azok szétválasztása után képesek legyenek regenerálódni, gyógyulni, elengedhetetlen, hogy megfelelően újra egymás mellé kerüljenek. A sebészetben különféle módszereket alkalmaznak a szövetek pozicionálására és rögzítésére. Ehhez leggyakrabban öltéseket használnak. Nincs ez másként az érsebészetben sem, ugyanis ezek a módszerek jelenleg könnyen elérhetőek, és költséghatékonyak. Viszont nagyban befolyásolja az érvarrat sikerességét a sebész ügyessége és gyakorlata, így ezek a technikák változó eredményeket mutatnak.^{28,29} Az érvarratok esetén úgynevezett kifelé fordító öltésekre van

szükség, hogy a megfelelő gyógyulás érdekében az ér belső felülete, a tunica intima érintkezzen (intima az intimához).

A varrattechnikák egyik legrégebbi típusa a hagyományos csomós varrat. Ekkor az eret úgy varrjuk össze, hogy minden egyes öltést külön-külön megcsomózunk (2. ábra). Előnye, hogy a különálló öltések miatt a varrat kevésbé sérülékeny. Az öltések között ez ér tágulni tud, így a gyermek érsebészetben a növekvő erek esetén ez a technika alkalmazható. Hátránya azonban az, hogy jóval lassabban készíthető el a többi varrathoz képest.³⁰



2. ábra

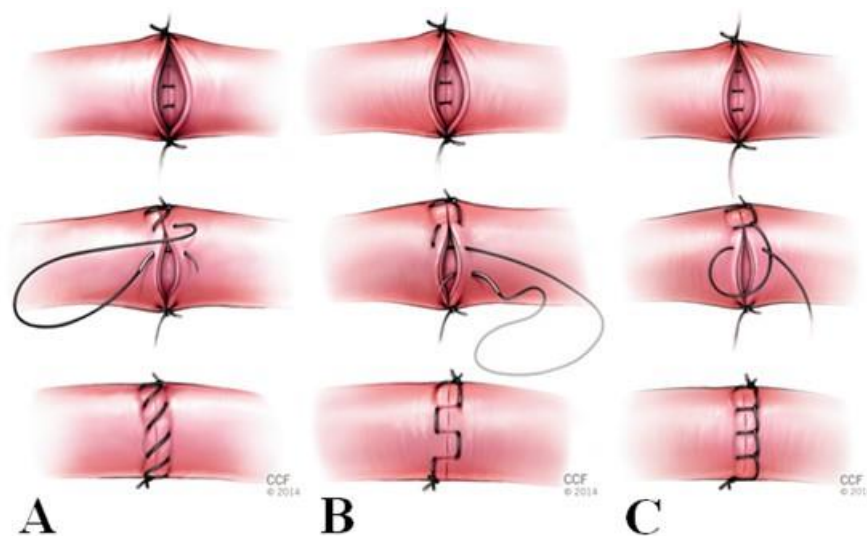
Hagyományos csomós varrat

[Siemionow MZ, Kwiecien GJ, Uygur S, Bobkiewicz A. Arterial and Venous Microanastomosis Models. In: Siemionow MZ, ed. Plastic and Reconstructive Surgery: Experimental Models and Research Designs. Springer]

A másik gyakori technika a tova futó varrat, amikor az egyenkénti csomók helyett egy öltéssorral varrjuk össze az eret. A csomókat az ér két átellenes pontján kötjük meg, így felosztva az eret egy elülső, illetve egy hátulsó falra (3. ábra, A). Ennek a technikának több fonalvezetési variációja is ismert. Például horizontális matracvarrat, amikor a fonal, mint egy kígyózó mozgással van az érvégekre öltve (3. ábra, B). Ismert a tova futó megakasztott varrat is, ennél az varratnál az öltéseket a hagyományos tova futó varrattechnika szerint végezzük, ám minden öltés után a fonalat az előző öltés hurkán átfűzzük (3. ábra, C). Ennek köszönhetően a fonal megakad és túlfeszítés esetén megakadályozza az ér beszűkítését.³¹ A tova futó technika jobban elősegíti az intima felületek érintkezését, ám az ér torzításához is könnyebben vezethet.³² Hátránya még, hogy gyors kivitelezhetősége ellenére, ha akár csak egy ponton is megsérül a fonal, az az egész varrat felnyílásával járhat. Ez a csomós varratok esetén szinte lehetetlen. Hátrány továbbá, hogy 1 mm-nél kisebb erek esetén maga az öltéssor annyira merev lehet, hogy képes torzítani az ér alakját és ezáltal okozhat áramlási rendellenességet.

Léteznek még olyan módszerek, ahol az érvégeket szituáló öltéseket kiegészítik egyéb eljárásokkal és ezáltal próbálják csökkenteni a vérzést, műtéti időt vagy egyéb faktorokat. Az egyik legfőbb tényező az idő, ami kifejezetten fontos transzplantációs műtétek során, hiszen ez jelentősen befolyásolja a műtét sikerét.³³ Az egyik igen gyorsan végrehajtható anastomosis technika az úgynevezett „Sleeve” technika.³⁴ Ezt úgy hajtják végre, hogy az ér distalis végét feltágítják, majd teleszkópszerűen a proximális érvéget belecsúsztatják a distalis érvégbe. Majd pár felületes öltéssel rögzítik, hogy a nyomás alatt az érvégek ne csússzanak szét (4. ábra, A).

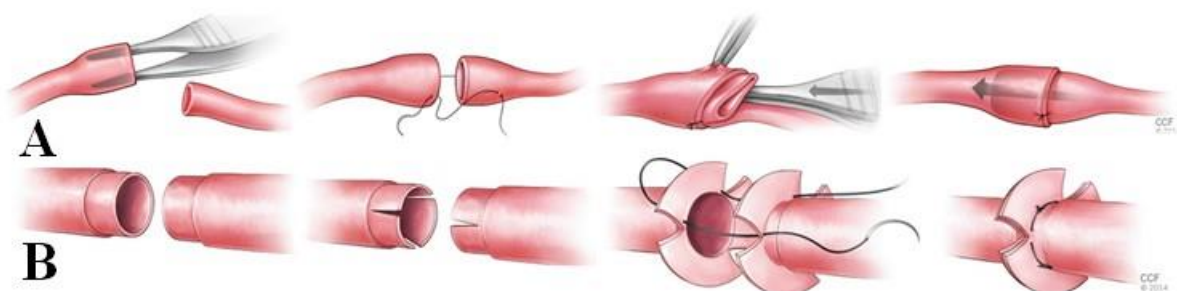
A gyorsaság mellett előnye, hogy kevesebb vérzés alakul ki az érszorító klippek felengedése után, ám szövethiány esetén, vagy eredendően feszülő ereknél nem kivitelezhető.³⁵



3. ábra
Tovafutó érvarratípusok

A: Hagyományos tofafutó varrat; **B:** Horizontális tofafutó matracvarrat;
C: Megakasztott tofafutó varrat; [Siemionow MZ, Kwiecien GJ, Uygur S, Bobkiewicz A. Arterial and Venous Microanastomosis Models. In: Siemionow MZ, ed. Plastic and Reconstructive Surgery: Experimental Models and Research Designs. Springer]

Ahhoz, hogy maximalizálni tudjuk az érintkező intima felületeket, több technikát is kidolgoztak. Ebből az egyik a három lebenyes halszáj varrat. Ennek a kivitelezése során az egyesítendő ereket 60°-onként bemetsszük, és az így kialakuló lebenyeket horizontális matrac öltésekkel egyesítjük (4. ábra, B). Előnye, hogy nagy kaliber különbségnél is jól egyesíti az ereket, valamint a nagyobb intima érintkezés miatt kevésbé szivárog.³⁶



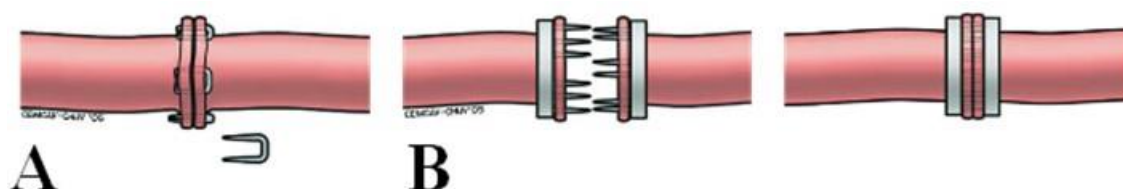
4. ábra
Rendhagyó varratípusok

A: "Sleeve" technika; **B:** Három lebenyes halszáj varrat horizontális matrac öltésekkel; [Siemionow MZ, Kwiecien GJ, Uygur S, Bobkiewicz A. Arterial and Venous Microanastomosis Models. In: Siemionow MZ, ed. Plastic and Reconstructive Surgery: Experimental Models and Research Designs. Springer]

2.1.2. Varratnélküli technikák

A varratnélküli technikák azzal kecsegtetnek, hogy az öltések nélkülözésével jelentősen gyorsabban kivitelezhetővé válik egy anastomosis.^{37–39} Ez a tulajdonság, ahogy korábban említettem, szervátültetés és egyéb érműtétek esetén fontos amikor az ér elzárásával egy szerv vagy szöveti terület teljes vérellátását megszüntetjük. De a műtét önmagában is terheli a szervezetet, amit műtéti stressznek nevezünk.^{40,41} Ezért már annak jótékony hatása lehet, ha a műtét össz-időtartamát rövidíteni tudjuk, hiszen ezek a technikák akár 30 perccel is megrövidíthetik a műtéti időt.⁴²

A vascularis kapocs a varratok és varratnélküli technikák mezsgyéjén található, mert alapjaiban ugyanazon az elven működik, mint egy öltés, csak ezt egy gyorsan behelyezhető fém kapoccsal érjük el (5. ábra, A). Gyorsan kivitelezhető és a sebésztől kevesebb gyakorlatot vár el a technika. Ismert olyan módszer, ahol a kapcsok -mint ahogy az öltések- teljesen áthatolnak az ér falán, és ismert olyan is, ahol csak felszínesen kapaszkodnak az ér szövetébe.^{43–45} Az utóbbi esetén vérzés a kapcsok helyéből nem lehetséges, ezzel is mutatva a technika előnyét.



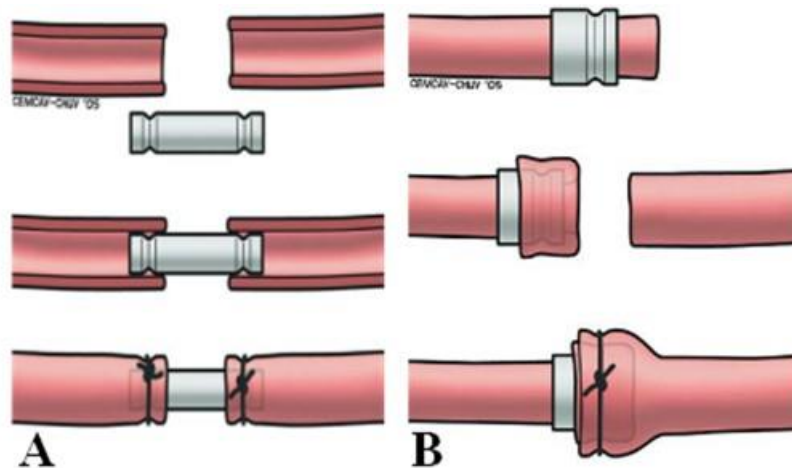
5. ábra

Varratnélküli éregyesítési technikák

A: Androsov-féle kapocs; B: Nakayama-féle gyűrű konnektor

[Tozzi P. Sutureless Anastomoses: Secrets for Success. Steinkopff-Verlag Heidelberg; 2007.]

Azok a technikák, ahol nem használunk semmiféle öltéshez hasonló rögzítést, több különböző típusra oszthatók. Az egyik a vascularis konnektorok, ahol az ereket különféle rögzítő eszközökkel tartjuk össze, mint például: csövek, gyűrűk, adapterek.^{39,46–48} A csövek esetén az érvégeket egy olyan csőre húzzuk rá, aminek a két végén egy-egy horony van. A ráhúzott érvégeket úgy rögzítjük, hogy egy-egy ligatúrát helyezünk a hornyok fölé (6. ábra, A). A "cuff" technika esetén egy gyűrű alakú csövön átfűzzük az eret, és mint ahogy az ing ujját visszahajtjuk, ráfektetjük az eret. Erre húzzuk rá az ér distalis végét, és egy ligatúrával rögzítjük (6. ábra, B). Vannak még olyan módszerek, ahol a kapcsokat egyesítik a konnektorokkal, erre példa az összekapcsolódó gyűrűk, amik egymásba szorítva tartós kapcsolatot hoznak létre az érvégek között (5. ábra, B). Az előzőhöz hasonló módszert Vokri és munkatársai 2014-ben fejlesztettek ki, ami az éren áthatoló tűk nélkül is stabilan képes összekapcsolódni és rögzíteni az eret (7. ábra).⁴⁸ Habár elmondható, hogy ezek a technikák gyorsan végrehajthatók és viszonylag kevesebb képzettséggel is alkalmazhatóak, ám az ér átmérőjét fixen rögzítik, így növekvő szervezetben nem használhatóak. Valamint a nagyobb mennyiségű idegen anyag miatt a nemkívánatos szöveti reakciók valószínűsége is nagyobb.

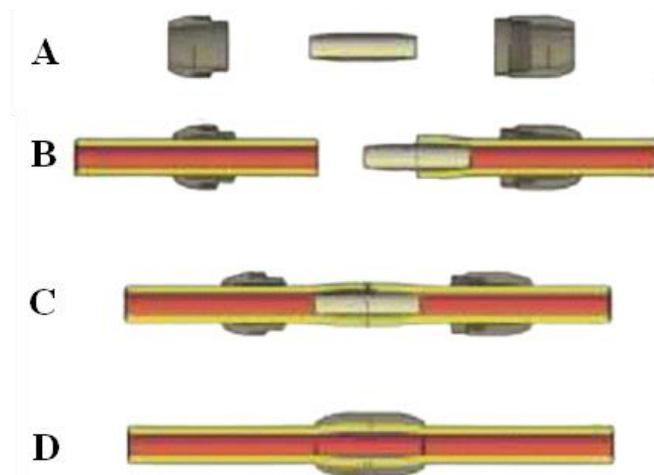


6. ábra

Varratnélküli éregyesítési technikák

A: Műanyag cső konnektor; B: "Cuff" technika

[Tozzi P. Sutureless Anastomoses: Secrets for Success. Steinkopff-Verlag Heidelberg; 2007.]



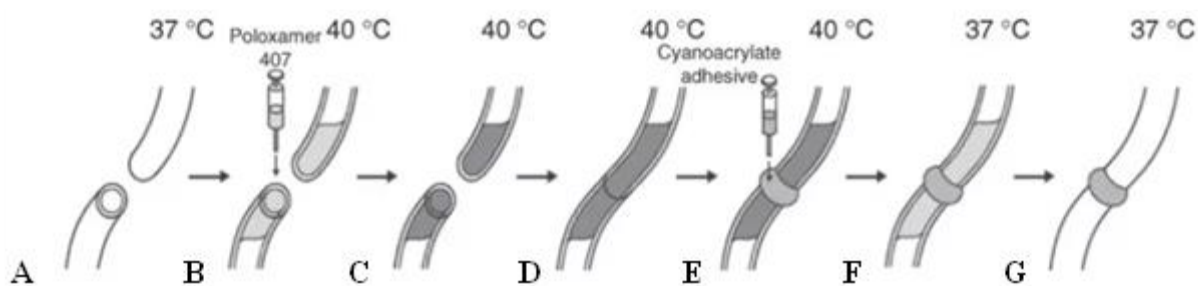
7. ábra

Vokri-féle éradapter és alkalmazása

A: Az adapter részei; B: Az érre felhelyezett adapter; C: Az adapter összekapcsolás előtt; D: Az egyesített ér
[Vokri L, Krasniqi X, Qavdarbasha A, et al. The vascular connector, design of a new device for sutureless vascular anastomosis. Ann Surg Innov Res. 2014;8:8.]

Különböző ragasztóanyagokat is alkalmaznak az erek egyesítéséhez.⁴⁹⁻⁵³ Az egyik erre használt ragasztóanyag a cianoakrilát alapanyagú ragasztók csoportja. Rendkívül erős kötést tudnak létrehozni, ám nedves felülethez nehezen tapadnak és az alkalmazott szakaszon egy rigid struktúrát hoznak létre. Biológiai alapúak a fibrin ragasztók, előnyük, hogy felszívódnak így hosszútávon nem befolyásolják az eret. De gyorsan kötnek, így az alkalmazásuk nehézkes és nagy erőbehatásnak nem állnak ellen. Ezeket a problémákat próbálták megoldani Lang és munkatársai, 2014-ben publikált cikkükben egy úgynevezett "hydrophobic light-activated adhesive"-et mutattak be. A többi ragasztóval szemben nedves felülethez is jól tapad, nehezen mosódik le, és képes a dobogó szíven rögzíteni egy graftot.⁵² A ragasztóanyagok filmszerűen bevonják az ereket, így a vérzést jelentősen képesek csillapítani, gyorsan alkalmazhatók ami szintén előnyös a műtét szempontjából. De a legtöbb esetben valamiféle előzetes rögzítés

szükséges, például pár öltés vagy kapocs, hogy az ereket úgy össze lehessen ragasztani, hogy az erek lumenébe a ragasztó ne folyjon be és ne zárja azt el. A poloxamer gélek ezt hivatottak orvosolni, szobahőmérsékleten gél állagúak, de testhőmérsékleten elfolyósodnak. Tehát ha az ereket feltöltjük ezzel, akkor az érvégeket összeérintve összetapadnak, majd kívülről valamilyen típusú ragasztóval bevonjuk. Ahogy felmelegedik meglágyul és a véráramlás a gél továbbá, és a keringésben lebomlik (8. ábra).^{50,53,54} A ragasztók hátrányai, hogy egyes anyagok mérgezőek a szövetekre, tapadóhatásuk jelenleg még nem elégséges nagy erek esetén, és igen költségesek. De igen ígéretes eredményeket mutatnak, ami a jövőben kulcsfontosságú technikává teheti ezeket.



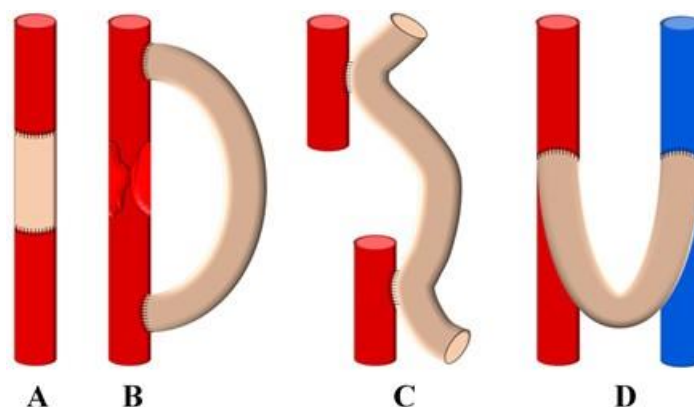
8. ábra

Poloxamer géllal készült anastomosis elkészítésének lépései:

A: szabad érvégek; B: az érvégek feltöltése poloxamer géllal; C: a gél megszilárdulása; D: az érvégek egyesítése; E: rögzítés cianoakrilát ragasztóval; F: elfolyósodás; G: elkészült anastomosis
[Chang EI, Galvez MG, Glotzbach JP, et al. Vascular anastomosis using controlled phase transitions in poloxamer gels. Nat Med. 2011;17(9):1147-1152.]

2.1.3. Érpótló módszerek

Gyakran előfordul, hogy az ereket nem lehet csak úgy, a korábban már leírt módszerekkel egyesíteni. Sérülés esetén akkora szövethiány is képződhet, hogy azt csak az ér pótlásával lehet helyettesíteni (9. ábra, A). De érelmeszesedés vagy aneurysma is képezheti az ér pótló beavatkozások indikációját. Az ér pótlás mellett lehet még úgynevezett "bypass" beavatkozásokat is végezni. Ebben az esetben a kóros érszakasztól proximálisan csatlakoztatunk egy ér pótlást, vagy más néven graftot, és azt beszájazzatjuk a kóros érszakasztól distálisan a már ép érbe (9. ábra, B). Emellett még azt is el lehet érni, hogy egy graft akár több különálló eret is ellásson vérrel (9. ábra, C). Egy artéria és egy véna között az összeköttetést fistulának nevezzük, az ilyen összeköttetéseket is létre lehet hozni graftok segítségével (9. ábra, D). Az ereket belülről is ki lehet bélelni graftokkal, ezt főleg aneurysma műtétek során alkalmazzák. A graftokat négy fő csoportra oszthatjuk fel alapanyaguk szerint: autograft, allograft, xenograft, és mesterséges graft.^{55,56} Ezek felhasználása, az anastomosisokhoz hasonlóan, több különböző szemponttól függ.



9. ábra

Ér-graftok alkalmazási típusai

piros: artéria; kék: véna; bézs: graft; A: interpozitum; B: "bypass"; C: "jumping-bypass"; D: fistula

Az autograftok az jelentik, hogy a graft ugyanabból a személyből származik, akibe az ér pótlást beültetik. Leggyakrabban ezek a test egy másik tájékáról származó vénaszakaszt jelentik. Ritkábban artériát is kiemelnek, az egyik ilyen az arteria thoracica interna.^{57–59} Vénák esetén a leggyakoribb vénaszakasz a vena saphena magna. Igen hosszú és nagy átmérőjű, így olyan műtétekre is használható, ahol nagy távolságokat kell áthidalni.⁶⁰ Ilyen eset a femoropoplitealis bypass műtét, ahol a lágyéktól egészen a térdhajlatig kell az eret elvezetni.⁶¹ Emellett a vena cephalica is alkalmazható hasonló műtétekre.⁶² Elmondható, hogy igen előnyös tulajdonsággal rendelkeznek, mivel saját testből származnak, immunreakció nem lehetséges, és a graft befertőződése is igen csekély. Az elzáródás lehetősége ennél a típusnál a legalacsonyabb, ezért hosszútávon ezek mutatják a legjobb eredményeket.^{61,63} Azonban a graftelzáródás sajnos itt is előfordul, ennek oka lehet: thrombosis, szűkület, IH, rendellenes remodeláció.^{64,65} Ezeknek a pontos mechanizmusai nem ismertek, de feltételezhető, hogy a véráramlás jellege is nagyban befolyásolhatja a szövettani változásokat.^{16,66} Amikor a vénákat az artériás környezetbe helyezzük, a szövettani szerkezetük megváltozik, hogy alkalmazkodjanak az emelkedett nyomáshoz és áramlási viszonyokhoz. Ezt arterializációnak nevezzük, amely során az ér átmérő jelentősen ugyan nem változik, de a falvastagság szignifikánsan nő.^{67–69} A tunica media az a réteg, ami a legnagyobb változáson megy keresztül, de a folyamat pontos mechanizmusa még nem ismert. A véna graftok hátránya, hogy a számuk véges, így előfordul, hogy egy adott idő után a betegből több graft már nem nyerhető. Emellett nagy erek pótlására alkalmatlanok, mivel akkora kaliberű véna, amivel az aorta valamelyik szakaszát pótolni lehet, önmagában is létfontosságú. Ezért ezek a vénák nem feláldozhatók egy ilyen műtét során.

Az allograftok abban különböznek az autograftoktól, hogy egy másik emberből származnak, pontosabban minden graft ami ugyanolyan fajból származik mint amilyenbe beültetik, az allograft. Az úgynevezett krioprezervált erek cadaverből származnak. Ezek a kiemelés követően, a megfelelő előkészítés után beültethetők, vagy akár újszülöttek

köldökszinórjában található véna is kivehető és felhasználható.^{70,71} A fagyasztva tárolás miatt sokáig eltarthatók és előnyük, hogy az adott anatómiai szituációnak megfelelő érszakasz választható, így pontos illeszkedés érhető el.⁷⁰ Az allograftok ugyan nem olyan hatékonyak mint az autograftok, de a mesterséges erekhez képest jobb eredményeket mutatnak elzáródás és graft-elégtelenség terén, és sokkal alacsonyabb a hajlamuk a befertőződésre.⁷² Valamint képesek a recipiens sejtjei úgymond kolonizálni az eret és ezáltal részlegesen autografttá alakítani azt.⁷³ Graftkilökődéssel azonban számolnunk kell, valamint mivel a vércsoportot is figyelembe kell venni, ezért nehézkes lehet a donor választás.

A másik fajból származó graftok a xenograftok. Egész ereket, de akár csak foltokat ("patch") is használnak. A graft lehet natív, azaz változtatás nélküli, leggyakrabban ez marhából származik, de esetenként sertésből is előfordulhat.^{74,75} Ennek a két állatfajnak a szívbillentyűje is kiválóan alkalmas humán felhasználásra, jelenleg is az egyik legmegfelelőbb megoldás szívbillentyű esetén.^{76,77} A sejteket eltávolíthatják a szöveti mátrixról (decellularizálás), így egy olyan kollagénvázat kapnak, ami graftként alkalmazható és a beültetést követően a recipiens sejtjeivel teljesen remodellálódik.^{78,79} Ezek nem csak érből, de gyakran bélből is származnak. Decellularizált sertés bélgraftokat már sikerrel alkalmaztak kísérleti modellekben ígéretes eredményekkel.^{80,81} A módszert úgy fejlesztették tovább, hogy a sejtektől megfosztott graftokon humán vagy a recipiensből származó sejteket tenyésztettek, ezeket már sikerrel alkalmazták emberben is.⁸²⁻⁸⁴ Jelenleg a szívbillentyűkön kívül a többi lehetőséget csak ritkán használják, mivel nagy a kilökődés veszélye és a thrombosis-hajlama is ennek a legnagyobb a biológiai graftok közül.^{85,86} Abban az esetben ha viszont egy fertőzött műeret sürgősen cserélni kell, vagy a betegnek saját felhasználható vénája nincsen, jó alternatívát kínálnak ezek a lehetőségek.

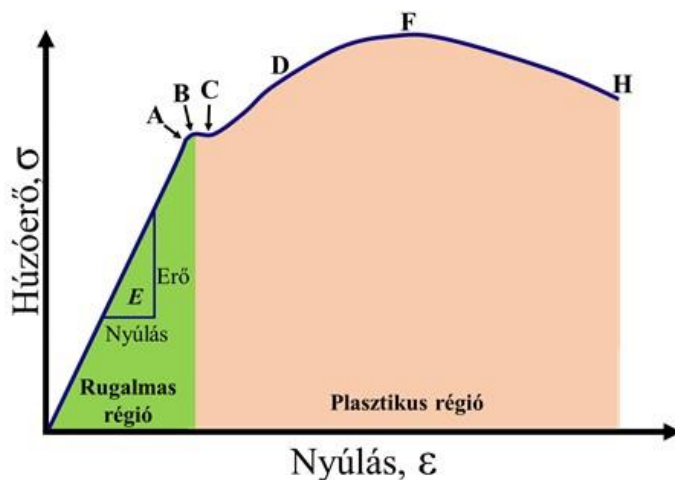
A negyedik csoportba tartoznak a műerek. Ezek mesterséges úton előállított graftok, tulajdonképpen csövek.⁸⁷ Alapanyaguk lehet politetrafluoretilén (PTFE), amely kémiaiilag rendkívül stabil, ezért a kilökődés veszélye igen alacsony. A felületi simasága miatt azonban nehezen tapadnak hozzá a sejtek, így az intima kifejlődése nehézkes. Ezt úgy oldották meg, hogy különböző anyagokkal vonták be, vagy akár simaizom sejteket növesztettek a belső felületükre.⁸⁸⁻⁹⁰ A PTFE graft szerkezetének változtatása is segíthet, erre példa az úgynevezett expandált, azaz ePTFE. Ennek mikroporózus szerkezete teszi lehetővé a sejtek könnyebb megtapadását. Polietiléntereftalát a másik gyakran használt alapanyag (a hétköznapi műanyag palackok alapanyaga). Jelentős különbséget eddig nem sikerült kimutatni ez és az előbb említett között.⁹¹ A sejtek felszíni kötődése valamivel jobb az utóbbinak.⁸⁹ Egy harmadik alapanyagot is megemlítenék, ez a poliuretán alapanyagú graft. Szintén hasonló eredményeket produkál mint a többi alapanyagból készült graft.^{92,93} A mesterséges graftok azok, amiket nagy erek, mint például az aorta, pótlására használhatunk. Széles körben elterjedtek, és szinte bármilyen

méretben és formában készíthetőek. Az ér pótlás mellett még másik nagy szerepük a Cimino-fistulák kialakításában van.^{92–94} Mivel nem élő szövetből vannak, ezért baktérium film könnyebben alakul ki a felületükön. Az egyik legkomolyabb szövődmény a graftok befertőződése, ami a graftok cseréjével jár, ilyen esetben valamilyen biológiai graft az alkalmazandó. Emellett a thrombosis-hajlama is ezeknek a típusoknak a legnagyobb.

2.1.4. Biomechanikai vizsgáló módszerek

Minden szilárd anyag rendelkezik olyan mérőszámokkal, melyek segítségével a fizikai tulajdonságait le lehet írni. Ezek lehetnek az olvadáspont, sűrűség, keménység, rugalmasság, szakítószilárdság, elaszticitás.⁹⁵ A lágyszövet biológiai szövet szempontjából a két legrelevánsabb érték a szakítószilárdság és elaszticitás.⁹⁶

A szakítószilárdság az anyagok azon tulajdonságát írja le, hogy milyen húzóerőnek képes ellenállni. Úgy mérjük, hogy folyamatos húzás mellett rögzítjük a szakadás pillanatában jelenlévő feszülést. Ezt az erőt mérhetjük adott területre lebontva, ami leggyakrabban az egy négyzetméterre jutó erő Newton-ban [N] megadva [N/m^2], vagy Pascal-ban [Pa]. Egy négyzetcentiméterre jutó erőt kilogrammban [kg] kifejezve is szokták használni [kg/cm^2]. Standardizált minták esetén megadható a maximális húzóerő is Newton-ban [N] vagy akár grammban [g] is.⁹⁷



10. ábra

Idealizált feszültség-megnyúlás görbe

A: arányossági határ; B: rugalmassági határ; C: folyáshatár; D: felkeményedési szakasz;
E: a görbe meredeksége (Young-modulus); F: maximális feszülési pont; H: szakadási pont

Az anyagok jelentős része egyenletesen nyúlik a Hook törvényét betartva, de ez csak egy bizonyos határig van így. A törvény kimondja, hogy egységnyi erő hatására egységnyi nyúlás következik be az anyagon, tehát az összefüggés lineáris, a görbén, ahol ez a szakasz véget ér, arányossági határnak nevezzük (10. ábra, A pont). Ezt követi egy rövid szakasz, ahol a görbe elveszíti egyenes alakját, ez a rugalmassági határnál ér véget (10. ábra, B pont). A rugalmassági

határ azt a pontot jelenti, ahol még az anyag visszanyeri az eredeti alakját, ha nem feszítjük tovább, ezért a kiindulási ponttól idáig e szakaszt rugalmas régiónak nevezzük. Innentől az anyag úgy mond megfolyik, azaz egy rövid ideig nyúlni kezd, majd ettől felkeményedik és újra elkezd emelkedni a húzóerő. Azt a pontot, ahol a görbe átfordul, folyási határnak nevezzük (10. ábra, C pont). Ezt követi a felkeményedési szakasz, ahol az anyag keményedik és így a feszülés nő (10. ábra, D pont). Ez a szakasz ott ér véget ahol a görbe átfordul és a feszülés csökkenni kezd, az átfordulási pont jelzi a maximális feszülést, ezt nevezzük a szakítószilárdságnak (10. ábra, F pont). Innentől az anyag keresztmetszete hirtelen keskenyedni kezd, ez a kontrakciós szakasz, ami végül az anyag szakadásával jár (10. ábra, H pont). A görbe alakja az anyagoknak megfelelően változik, a rideg anyagok esetén a rugalmassági határ után a minta egyből eltörik.

A görbéről leolvasható az anyagok nyújthatósága, azaz, hogy mekkora alakváltozásra képes az anyag az elszakadás pillanatáig. Valamint kiszámolható a Young-modulus is, ami az anyag egységnyi erőre mutatott alakváltozását jelenti, jele: E . Ezt a görbe meredeksége mutatja, amit a kiindulási pont és az arányossági határ között számolhatunk ki, ahol az anyag még követi Hook törvényét. A képlet igen egyszerű, a húzóerőt (σ) osztjuk a megnyúlással (ϵ):

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon}$$

A szövetek természetesen nem követik az idealizált görbe mintáját, de a szakítószilárdság mérése gyakran vizsgált mérőszám például bőr hegeinek, ínszalagok varratainak, bármilyen üreges szerv anastomosisainak vizsgálatára.^{96,98–103} Mivel az erek nem követik pontosan Hook törvényét, ezért a jobb alkalmazhatóság érdekében többen próbálták már a törvényt erekre idealizálni.^{104,105} Az erek mérései során a görbe egyenetlensége miatt a Young-modulust sem lehet elegendő pontossággal alkalmazni, ezért az egész görbe átlagára rávetített úgynevezett effektív Young-modulust használhatunk.¹⁰⁶

Annak ellenére, hogy sok szerv varratait vizsgálták már, az ér-anastomosisok varratai kevésbé vizsgált terület. Emellett a nyomástűrő képesség is ritkán vizsgált paraméter, ami nagynyomású folyadéknak kitett varratok esetén mérvadó tényező lehet. Bél-anastomosisokat gyakran vizsgálnak ilyen szempontból. Néhány kutatás erekre is kiterjed, ezekben azt a nyomást vizsgálják, ahol a varrat már kihasad a nyomás hatására.^{98,107–110} Főleg ereknél nem csak az a fontos, hogy a varrat kibírja-e az artériás nyomást, hanem az is, hogy mennyi vér szivárog ki belőle az elkészítés után. Hiszen ameddig a vér el nem zárja az öltések helyeit, addig valamilyen fokú vérzés kialakul. Ez szintén könnyen vizsgálható a nyomástűrő mérőszámával, ahol az egységnyi idő alatt kiszivárgó nyomásból következtetünk az érvarratok minőségére.

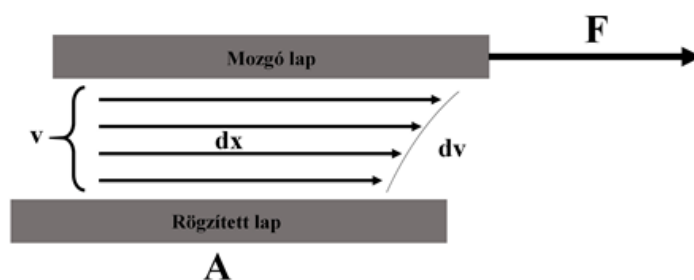
A biomechanikai vizsgálatok mellett mérhető még a végrehajtáshoz szükséges idő. Az is fontos tényező, hogy a technika mennyire sajátítható el könnyen, mennyire megbízhatóan kivitelezhető. A szükséges eszközök mennyisége, költsége sem utolsó szempont. Mindezek együttes összevetése szükséges ahhoz, hogy egy adott technikáról teljes képet kapjunk.

2.2. A véráramlás biofizikája

Mint minden folyadék a magasabb nyomás felől áramlik az alacsonyabb nyomás felé, a két érték különbsége adja meg a perfúziós nyomást (Δp). Ezen felül, ami még befolyásolja az áramlást (Q) az az ér átmérője (r) és hossza (l), valamint a folyadék, ebben az esetben vér, viszkozitása (η). Az előző értékek általános összefüggését (lamináris áramlás, newtoni folyadék, merev, egyenes falú cső esetén) a Poiseuille-törvény mondja meg:

$$Q = \Delta p \frac{r^4 \pi}{8 l \eta}$$

A folyadékok viszkozitásán, a folyadék belső súrlódását értjük. Először ezt úgy mérték, hogy két fémlap közé töltötték a folyadékot és a felső lap elhúzásához szükséges erőből számították ki a folyadék viszkozitását (11. ábra). Ezt úgy tudjuk szemléletesen levezetni, ha elképzeljük, hogy a fémlapok közötti folyadék vízszintes rétegekből áll és a rétegek közötti folyadék részecskék párhuzamosan mozognak el egymáshoz képest (lamináris áramlás). A folyadékban ható nyíróerőfeszültség (τ) a felső fémlapok területének (A) és az azt húzó erőnek (F) a hányadosa: $\tau = F/A$.



11. ábra

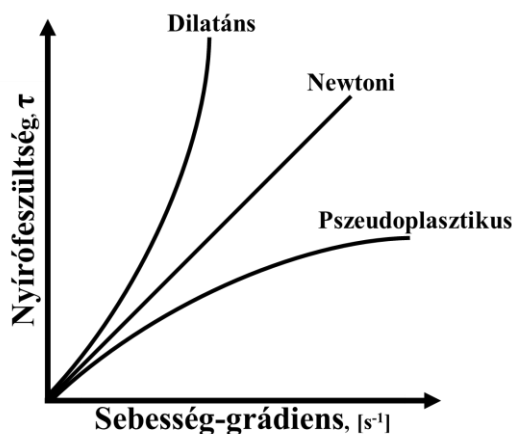
A folyadékok viszkozitásának sematikus értelmezése

v : a folyadék sebessége; dx : a folyadék rétegek távolsága; dv : a folyadék rétegek közötti sebességkülönbség;
 A : a fémlap területe; F : húzóerő

A fémlap által kifejtett nyíróerő áttevődik az alatta levő folyadék rétegre, és így tovább a következő és következő folyadék rétegre, ezáltal az áramló rétegek között sebességkülönbség alakul ki (dv). Az sebességkülönbség és a rétegek közötti távolság (dx) hányadosa adja meg a sebesség-grádiens (D): $D = dv/dx$, [s^{-1}]. A viszkozitás hőmérséklet függő, ezért ezt minden esetben adott hőmérsékletre kell megadni. Így adott hőmérsékleten a viszkozitást a sebesség-grádiens és nyírófeszültség hányadosa adja meg, mértékegysége Pascal-secundum [Pas].

Érdekes tulajdonsága a folyadékoknak, hogy nem ugyanúgy reagálnak a nyíróerőre. Azokat a folyadékokat, amikben a sebesség-grádiens és a belső nyírófeszültség kapcsolata lineáris, newtoni folyadékoknak nevezzük (víz, alkohol, glicerin, vérplazma) (12. ábra). Egyéb folyadékok, főleg a kolloid oldatok (pl. dextran oldat) vagy a vér, nem lineáris összefüggést mutatnak (12. ábra). Ezeket nem-newtoni folyadékoknak nevezzük. Két alcsoportjukat különböztetjük meg, mert egyes folyadékok a növekvő erő hatására viszkózusabbak lesznek (dilatáns folyadékok), míg más folyadékoknak csökken a viszkozitása (pszeudoplasztikus

anyagok). Az elsőre példa a keményítő oldat vagy a szilikon olaj, az utóbbira pedig a motorolaj, de a vér is ide tartozik. Ez igen fontos tulajdonság, hiszen az érrendszerben a vér sok különböző nyomás és áramlási sebesség értékek mellett áramlik, így a lokális viselkedése az adott környezeti tényezőktől függ és ezért ezeket feltétlenül szükséges figyelembe venni.¹¹¹



12. ábra

Különböző folyadékok nyírófeszültség, sebesség-grádiens összefüggése

A vér viszkozitását több tényező is befolyásolja. Mivel a plazma önmagában newtoni folyadékként viselkedik, így kimondható, hogy a pszéudoplasztikus tulajdonságaiért a vér alakos elemei felelnek. Tekintettel arra, hogy a vér nagyságrendekkel több vörösvérsejtet tartalmaz, mint más alakos elemet, ezért a haematocrit változásai felelnek nagyrészt a vér viszkozitás eltéréseiért. Emellett meghatározó jelentősége van a vörösvérsejtek micro-rheológiai paramétereinek, mint a deformabilitásnak és az aggregációnak.

2.2.1. A vér áramlási komponensei és hatásuk az érfalra

A vér az erekben normális, ideális helyzetben nagyrészt laminárisan áramlik. Ez több szempontból is előnyös. Az egyik, hogy így a folyadék mozgatásához jóval kevesebb energia kell. Ebből az következik, hogy az adott perfúziós nyomáson a laminárisan áramló vér gyorsabban tud folyni. Egy adott pont felett a folyadék áramlásban megjelennek turbulens elemek, a rétegek összekeverednek és egymáshoz képest különböző irányokba mozognak el. Mindennek mértékét a Reynolds-szám [Re] mondja meg. Ez a mutató függ a folyadék sűrűségétől (ρ), sebességétől (v), az ér átmérőjétől (D) és a folyadék viszkozitásától (μ):

$$Re = \frac{\rho v D}{\mu}$$

A szám nem pontosan mondja meg, hogy mikor válik az áramlás turbulenssé, hanem tartományokat ad meg. A vér nagyjából 2000 Re alatt laminárisan áramlik, majd turbulenssé 4000 Re felett válik, a két érték között úgynevezett semi-turbulens áramlásról beszélünk.¹¹²

Az áramló vér folyamatos kapcsolatban van az ér falával, áramlás közben állandó nyíróerőt fejt ki az endothel sejtekre. Ez a nyíróerő befolyásolja azt a vér réteget, ami az érfal mellett van,

és ahogy korábban említettük mivel pszeudoplasztikus folyadékról van szó, így a vér ezen régiójának viszkozitása lecsökken. Eközben a haladó véroszlop belsejében más nyírófeszültség értékeket detektálhatunk. Ez azt mutatja, hogy el kell különítenünk a fali nyírófeszültséget a folyadékban lévőttől és külön kell vizsgálnunk. Az ér falánál tapasztalható értékek szövettani elváltozásokat okozhatnak, míg az áramló vér a vörösvérsejtekben idézhet elő változásokat.

A vér áramlási mintázatát több paraméterrel írhatjuk le. Ezek lehetnek a már említett nyírófeszültség és Reynolds-számok, valamint a nyomás [Hgmm], az áramlási sebesség [ml/min], a vorticitás (ω), a helicitás (h).

A vorticitás (ω) a véráramlásban azt a jelenséget írja le, ahogy a folyadék részecskék egy síkban nézve egy pont körül mozognak. Ez a jelenség a turbulens áramlásnál kifejezetten jelen van. Önmagában a vorticitás nem jár emelkedett nyírófeszültséggel, hiszen ha egy pont körül a részecskék koncentrikusan haladnak azonos szögsebességgel, akkor az áramló rétegek között nyíróhatás nem alakul ki. Ezt az állapotot cirkuláris lamináris áramlásnak nevezzük.

A vorticitásból származtatjuk a helicitást (h) is. Ezt a vorticitásból és annak a haladási irányából következik. Ha a vortex központjára merőleges a haladási irány, akkor ha egy pontot követünk a vortexben, a térben ahogy elmozdul, a részecske leírt pályája egy dugóhúzóra fog emlékeztetni (helicitás). Ennek a spirálnak a menetsűrűsége a helicitás mértéke.

A folyadékokban a nyírófeszültség is igen jelentős tényező. A nyírófeszültséget elkülöníthetjük két külön komponensre: az egyik a folyadék részecskéi között fellépő súrlódásból származó, a másik pedig a folyadék és egy felület kötött fellépő súrlódás eredményeként fellépő nyírófeszültség. A keringésben az előbbi a vörösvérsejtek között jelenik meg, a másik az érfal és a vér között. A vérben lévő súrlódás a haemorheológiai paraméterek szempontjából fontos vizsgálendő érték, míg a fali nyírófeszültség a szöveti remodelációt tekintetében számottevő tényező. A viszkozitás, turbulens áramlás, vorticitás, helicitás az erek szempontjából nyírófeszültség formájában nyilvánulnak meg. Ezért ebből az következik, hogy az áramlási mintázat elemeinek összessége hozza létre az ér falán az egy adott helyen és időben mérhető nyírófeszültséget. A folyadékok belső súrlódását gyakran Pa-lal jelölik, ám az érfalak esetén jobban értelmezhető az egy területre vetített nyíróerő amit Dyne/cm²-ben fejezünk ki. A Dyne egy származtatott érték. Egy Dyne azzal az erővel egyezik meg, ami egy másodperc alatt egy gramm súlyt egy centiméternyire mozdít el. Ez 10⁻⁵ N-nal vagy 10⁻¹ Pa-lal egyenlő.

Az erek belső felszínét borító endotel sejtek különböző mechanizmusokon keresztül érzékelik a nyírófeszültség által okozott stresszt. Az endotel sejtek felszínén találhatók úgynevezett elsődleges csillók. Több kutatás igazolta már, hogy ezekkel a sejtek képesek a mechanikai stresszt és így a nyírófeszültséget érzékelni.^{113,114} Az ezeken található receptorok képesek továbbítani a sejt felé a detektált ingert. Ezek különböző jelátviteli útvonalakon keresztül szöveti változásokat okoznak. Azt már többen kimutatták, hogy bizonyos molekulák

szintje nyírófeszültség hatására megemelkedik például: nitrogén-oxid, prosztaciklin, thrombomodulin.^{115–117} Ezek befolyásolhatják, hogy milyen szövettani változások jönnek létre, amikor az érben megváltoznak az áramlási viszonyok. Az áramlás hirtelen megváltozása graft műtétek esetén fordul elő vagy arterio-venosus fistulákban (AVF). A szöveti remodeláció, arterializáció és graft érés folyamatát ez előbb említett molekulák befolyásolhatják, s azt is, hogy végül milyen szöveti elváltozások jelennek meg, stenosis vagy intima hyperplasia (IH).¹¹⁸ Jelenleg azonban ezek a mechanizmusok nem pontosan ismertek. Az AVF rendelleniségek és elzáródások hátterében az egyik leggyakoribb ok az IH.^{64,65,119,120} Ennek vizsgálatáról széles a szakirodalom: az egyik kulcs szereplő ami a kialakulásában jelentős befolyásoló tényező az a fal nyírófeszültség.^{15,16,118,121} Több elmélet létezik a nyírófeszültség és az IH kapcsolatára.

Az egyik elmélet szerint az IH kialakulásának a magas nyírófeszültség az oka különböző jelátviteli rendszereken keresztül. Carrol és mtsai kutatásukban az MVP-1 és az MCP-2 receptorok aktiválódását figyelték meg IH-ban magas nyírófeszültség mellett.^{122,123} Ezzel szemben a másik elmélet éppen az alacsony nyírófeszültséget teszi felelőssé az IH kialakulásában.^{124–126,126} Több transzkripció faktor aktiválódását figyelték meg emelkedett nyírófeszültség mellett: pl. NFκB, c-fos, c-jun SP-1, ICAM-1, PDGF-B.¹²⁷ Egyéb szöveti mediátorok összefüggését is bebizonyították az IH kapcsán: thromboxane, IGF-1, TGF-, VEGFR-2, integrine.^{126,128–131}

A nyírófeszültség nem csak a fistulák tekintetében fontos, bypass esetén a véna graftok teljesen artériás környezetbe kerülnek, és az ezáltal létrejövő arterializációban is fontos szerephez juthatnak a különböző molekuláris mechanizmusok. A VEGF, TN-C, ERK összefüggését már kimutatták az arterializáció folyamatával.^{69,132,133} Az artériákban megfigyelték, hogy fiziológiásan az átmérő növekszik nagyobb áramlási sebesség és nyírófeszültség esetén, növelve ezáltal az adott terület megnövekedett vér igényét. Ezzel ellentétesen a csökkenő áramlás az ér zsugorodásához vezet és így a véráramlás felgyorsul.^{66,134–136} Ezekből úgy tűnhet, hogy létezik egy „optimális” nyírófeszültség, és az az alatti vagy feletti értékeket a szervezet kompenzálni szeretné az érátérő növelésével vagy az intima vastagság növelésével. Főleg az intima hyperplasia megjelenésekor az ér beszűkülhet, így csökken a nyírófeszültség és az áramlási sebesség és kialakul egy ördögi kör ami az ér elzáródásához vezet.¹³⁷ Ám a szervezetben ritkán fordul elő, hogy egy jelenség okát egy tényezőben találjuk. Mivel a test összetett komplex szervezett és bonyolult összefüggések hálójára irányítja a benne zajló folyamatokat, így felmerül, hogy a nyírófeszültség önmagában nem lehet felelős az összes elváltozásért.¹³⁸

Az áramló vér szerves része a vérnyomás, az artériás és vénás rendszerben a fő különbséget is ez hozza létre. Az érrendszerbe a szívtől eltekintve, lassan folyamatosan csökken az aortától a jobb pitvarig. Mivel az áramló vér sebessége a perfúziós nyomástól és az érátérőtől függ

ezért, hasonló kaliberű artériákban és vénákban az áramlási viszonyok közel azonosak.^{139–142} Az hogy a nyomás az ér falát milyen mértékben feszíti (T) az függ az ér átmérőjétől (r) a nyomástól (P), ezeknek az összefüggését Laplace-törvénye mondja ki:

$$P = \frac{2T}{r}$$

Az egyenletből következik, hogy egy hengerbe a nyomás és az átmérő között fordított arányosság van. A nyírófeszültség mellett a nyomás is jelentős szereppel bír a graft érés során. Hiszen a tunica media megvastagodását jelentősen befolyásolni tudja a nyomás egy véna graft arterializálódásakor.^{67,69,143} Ebben különböző gének és mediátorok játszanak szerepet például: endothelin-1, interleukin-6, mátrix-metalloproteináz 2-9, MMP, TIMP-2.^{68,144,145}

Egy AVF kialakításánál azonban jelentősen eltér a helyzet. Mivel a vénás rendszernek csekély az ellenállása, és a nyomás is jelentősen alacsonyabb az artériához képest, ezért a fistulában egy igen magas nyomásgrádiens alakul ki és enne következtében emelkedett áramlási sebesség fog kialakulni.^{139,146} Ebből kifolyólag turbulens áramlásnak és emelkedett nyírófeszültségnek lesz kitéve a véna.¹⁴⁷ Mind a graftok mind pedig a fistulák esetén tehát az áramlási mintázat jelentős szerepet fog betölteni a szöveti változásokban. Mivel az áramlási mintázatok függenek az ér alakjától, ezért a graft vagy fistula alakja befolyásolhatja a turbulens áramlás és a nyírófeszültség mértékét.^{148,149}

Elképzelhető egy olyan graft forma, ami fokozatosan görbül, mint egy hurok („loop”). Ennek egy fistulával való összehasonlítása tanulságos lehet, hiszen a vénák drasztikusan eltérő környezetben vannak egy loop és egy fistula esetén. A loopban magas nyomáson alacsony nyomásgrádiens mellett vizsgálható az ér. A hurok továbbá van egy jól elkülöníthető belső és külső íve, ami feltehetően egy magas és egy alacsony nyírófeszültségű területre osztja az eret. Tehát ilyen körülmények között a fő eltérés a nyírófeszültség. Ezzel szemben egy fistulában a magas nyomásgrádiens miatt a fő változó a nyomás lesz.

A két modell lehetővé teszi a nyomás és a nyírófeszültség összefüggésének alapos vizsgálatát, hiszen mindegyikben több különböző jól elhatárolható áramlási mintázat kombináció található. Ezeket fontos összehasonlítani, mert ugyanolyan szöveti eltérés, mint például az IH, bypass és fistula esetén is előfordul.^{16,129} Ilyen esetekben az előbb említett két jellegzetes áramlási viszony fordul elő. Ha ilyen különböző körülmények között is létrejönnek ugyanazok a szövettani elváltozások, felmerül a kérdés, hogy lehetséges-e különböző áramlási mintázatok egyedi kombinációi segítségével ugyanazon patológias folyamatokat indukálni?

A hurok alakú arterio-arteriális graftokat a klinikumban már alkalmazták, viszont csak PTFE vagy egyéb mesterséges graftok segítségével, így a pontos szövettani változások nem figyelhetők meg.^{150–152} A vénából készített hurok graft vizsgálata még kevésbé vizsgált terület.

2.2.2. Áramlási szimulációk

Ahhoz, hogy az erekben folyó vér áramlásáról pontos képet kapjunk, a számítógépes áramlási szimulációkat is használhatjuk. Ezek nélkül ugyanis csak következtetni tudunk a megfigyelt szöveti változások és az erek alapján készült üvegcső modellekben tapasztalt áramlási viszonyok kapcsolatára. Különböző technikák teszik lehetővé, hogy nanométeres pontossággal feltérképezzük az erek lumenét és azoknak magas pontossággal szimuláljuk az áramlási viszonyait.

Az ehhez használt alapvető szoftver a CAD (computer added design), ezzel egyszerűen létre lehet hozni különböző vascularis struktúrákat, amikben utána könnyen szimulálható az áramlás. Azonban a CAD modellek gyakran idealizált eseteket vesznek alapul, így a valóságot nem tükrözik tökéletesen.

Angio-MRI és -CT segítségével rögzített felvételekből is lehet 3D-s érstruktúrákat rekonstruálni. Ezek jóval pontosabban tükrözik a valóságot, és lehetővé teszik, hogy a beteg aktuális vascularis státuszát mérjék fel. Ezért a klinikumban is gyakran használják ezeket kutatáshoz.^{148,153–155} Hátrányuk, hogy 2D szeletekből rekonstruálják a térbeli modellt, így adatvesztés lép fel és akár fontos részletek maradhatnak ki.

A harmadik lehetőség az úgynevezett korróziós készítmények alkalmazása. Ezeket úgy készítik, hogy az ereket valamilyen műanyaggal feltöltik és a műanyag megszilárdulása után a szöveteket leoldják.^{156–158} A műanyagot CT, vagy 3D scanner segítségével digitalizálják és az így kapott virtuális modellt használják fel az áramlási szimulációkhoz. Rendkívül pontos, és nanométeres felbontású struktúrák készíthetők így. A hátrányuk az, hogy ezt élő szervezetben nem lehet kivitelezni, és a korróziós technika miatt az eltávolított ér nem hasonlítható össze a szimuláció által mutatott áramlási mintázatokkal.

Ezért szükség van egy jobb összehasonlíthatóságot biztosító technikára. Erre megoldás lehet, ha az ereket a műanyag megszilárdulása után mikrosebészeti technikák segítségével távolítjuk el és ezáltal a szövetek nem sérülnek, s lehetővé válik a párhuzamos szövettani elemzés az áramlási szimulációkkal. Így beazonosíthatóvá válnának azok a szöveti területek az erekben, ahol a szimuláció jellegzetes áramlási mintázatokat mutat, azaz a szövettani változások és az áramlási mintázatok szorosabb korrelációi felismerhetőbbé válnának.

2.2.3. Haemorheológiai paraméterek és befolyásoló tényezők

A vörösvérsejteknek több olyan paramétere van, amit a haemorheologia tárgykörében vizsgálunk. Az egyik ilyen tulajdonság a vörösvérsejt (vvs) aggregatio, ami a vvs-ek reverzibilis összetapadását jelenti alacsony sebesség-gradiens vagy stasis mellett. A biconkáv discocytá alakú vvs-ek lapjuknál fogva kapcsolódnak, mint a „pénztekercs”, majd ezek nagyobb aggregátumokká állnak össze. Ez a jelenség spontán létrejön az álló vérmintában

néhány perc alatt, majd a sejtek szeparálódnak a vérplazmától és szedimentálódnak. Ehhez 1-3 óra szükséges, a plazma összetétele és a haematocrit befolyásolja ezt a jelenséget.¹⁵⁹ *In vivo* jellegzetesen a postcapillaris venulák területén figyelhető meg, de kóros esetben az arteriás oldalon is előfordul, így megnehezítve a szöveti perfúziót. Az vörösvérsejt aggregatio fokozódása az áramlási ellenállás növekedésével jár.¹⁵⁹

Másik fontos micro-rheologiai paraméter a vörösvérsejtek deformabilitása, ami a sejtek alakváltozó képességét írja le adott nyíróerő hatására. Ez a tulajdonság azért fontos mert a vvs-ek 7,5-8,7 μm szélesek és 1,7-2,2 μm vastagok, azonban vannak capillarisok, amelyek belső átmérője csak 3-4 μm .¹⁶⁰⁻¹⁶² A vvs deformabilitás a capillarisokon, micro-capillarisokon való áthaladáshoz elengedhetetlen tulajdonság, mértéke így a mikrokeringést, a szöveti perfúziót befolyásolja. A mikrokeringés közvetetten is mérhető különböző paraméterekkel mint a szövetek felszíni hőmérséklete vagy a felületi oxigenizáció.¹⁶³ Közvetlenül a kapillárisokban elhaladó vvs-ek is vizsgálhatóak különböző noninvazív módszerekkel melyek igen hasznosak állatkísérletek során.

A szöveti perfúzió nagyban függ tehát a vörösvérsejtek micro-rheologiai paramétereitől is.¹⁶⁴⁻¹⁶⁷ Ezeket számos hatás képes befolyásolni: hőmérséklet, a vér pH értéke, metabolikus változások, gyulladásos folyamatok, szepszis, szabadgyökös reakciók, mechanikus trauma, sok mástényező mellett.¹⁶⁸⁻¹⁷⁹ A korábbi hatásoktól elkülönítjük a vvs-re ható mechanikai stresszt melynek két forrása lehet: külső vagy belső. A külső forrás származhat rezgéstől, futástól, kemény útburkolaton történő meneteléstől. Ez a stressz olyan mértékű lehet, hogy akár haemolysist is okozhat.^{180,181} A belső eredetű mechanikai stressz forrása a már korábban többször is említett kóros áramlási viszonyok. Ez a gyakorlatban például stenosis esetén fordul elő. Érműtétek után az ér geometriája megváltozik, így szinte minden esetben számolnunk kell kóros áramlási mintázatokkal. Hogy ezek mekkora károsodást hoznak létre a sejtekben, azt nagyban befolyásolja a turbulencia és nyírófeszültség mértéke, s hogy a vvs-ek a mechanikus stressznek mennyi ideig vannak kitéve.^{182,183} Mindezek optimalizálása műtéttechnikai szempontból is kiemelt fontosságú lehet.

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 szakítószilárdasot.
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 paramétereiket.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anastomosisok biomechanikai vizsgálatai

3.1.1. 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, tovaftató és a módosított "Lauritzen"-féle varratokon végeztük. A szakító szilárdság vizsgálatai során 8 illetve 12 öltéssel készített egyszerű csomós varrat és 12 öltéssel készített tovaftató varrat csoportokat alakítottunk ki.

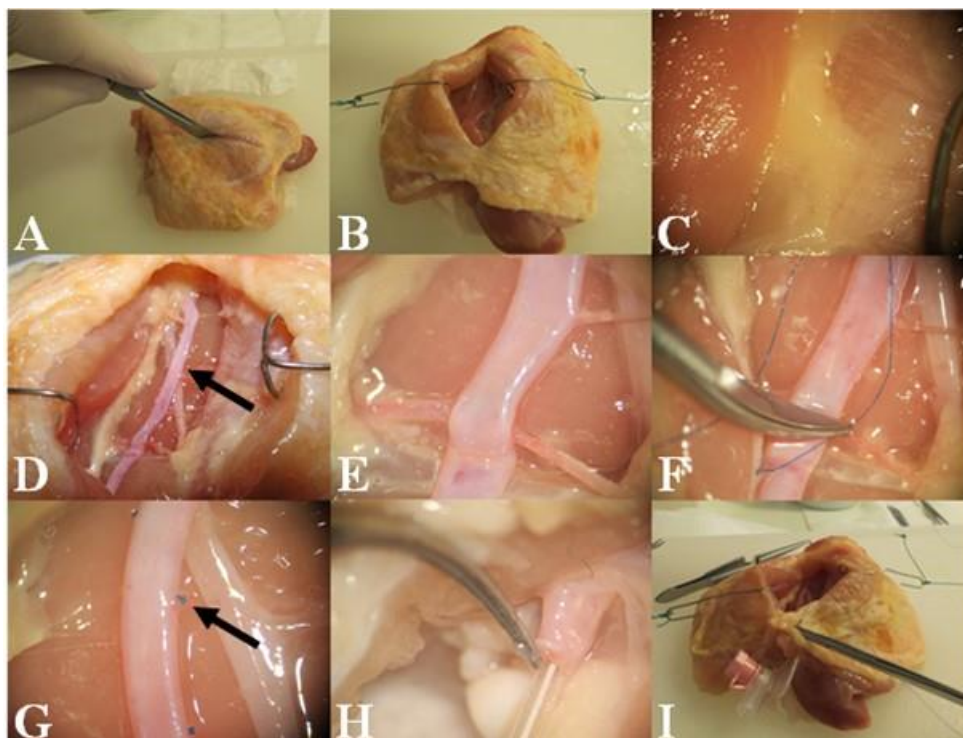
A 8 öltéssel készített anastomosisokat patkányból származó aorta abdominalis-on is megvizsgáltuk ($n=10$). Az állatkísérletek az 1998. évi XXVIII. Törvényben foglaltaknak megfelelően történtek (engedély nyilvántartási szám: 25/2016/DEMÁB, Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság). A műtétek során standard mikrosebészeti műszereket használtunk. Mindegyik varrat 8/0-s monofil poliamid fonállal készült serosa tűvel (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.

3.1.2. Műtéti protokoll a nyomástűrő képesség méréséhez

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

Erek előkészítése: A combcsonttól egy harántujjnyira ventrálisan ejtettünk egy körülbelül 5 centiméter hosszú a csontal párhuzamos bemetszést (13. ábra, A). Az izmok átvágása után a műtéti területet feltártuk és a kötőszövettel burkolt érköteget felkerestük (13. ábra, B, C). A kötőszövetet atraumatikus technika segítségével eltávolítottuk és az artaria femoralis-t elkülönítettük a mellette levő vénától és idegtől (13. ábra, D). Ebben a csoportban az erek átmérője $3,25 \pm 0,38$ mm volt. Az oldalágak így láthatóvá váltak, amiket egyesével lekötöttünk, ligatúrák segítségével (13. ábra, E,F,G). A technika az érsebészeti gyakorlatban használt módszerekkel történ, hogy minél jobban szimuláljuk a valós környezetet. Két ligatúra került felhelyezésre egy közvetlenül az oldalág eredésénél a másik pedig 2 mm-re distalisán, majd az oldalágat a ligatúrák között átvágtuk. Ennek köszönhetően az ér izoláltá vált, majd a proximális

vége felől egy 20 G-s kanül került bevezetésre (13. ábra, H). A kanül szárnyait egy-egy öltéssel az izomhoz rögzítettük a kicsúszás elkerülése érdekében (13. ábra, I).

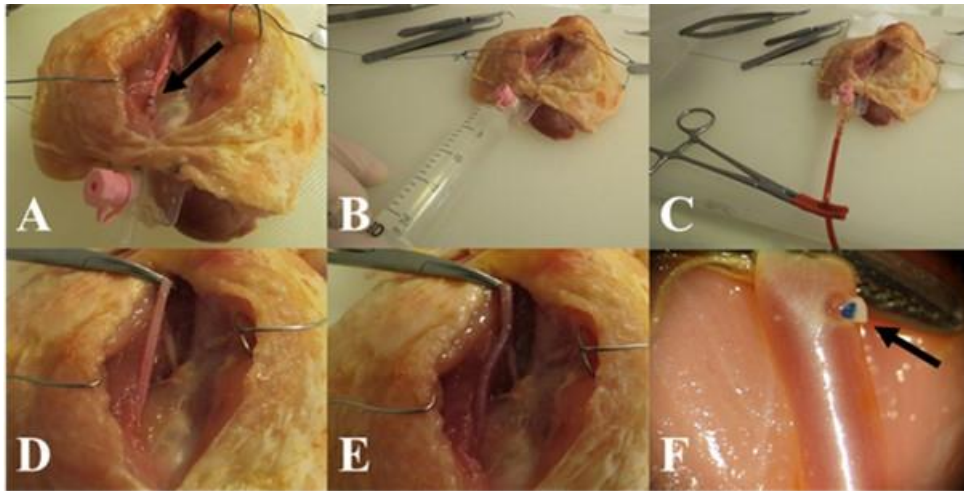


13. ábra

Biomodell előkészítése a biomechanikai vizsgálatokhoz I

- A:** metszés; **B:** műtéti terület feltárása; **C:** kötőszövettel fedett érköteg; **D:** a kipreparált ér, nyíl: arteria femoralis;
E: Az arteria femoralis és oldalágai; **F:** az oldalágak lekötése ligatura segítségével;
G: izolált arteria femoralis, nyíl: ligatura; **H:** 22 G-s kanül felvezetése az arteria femoralis proximalis végébe;
I: Kanül kirögzítése öltésekkel

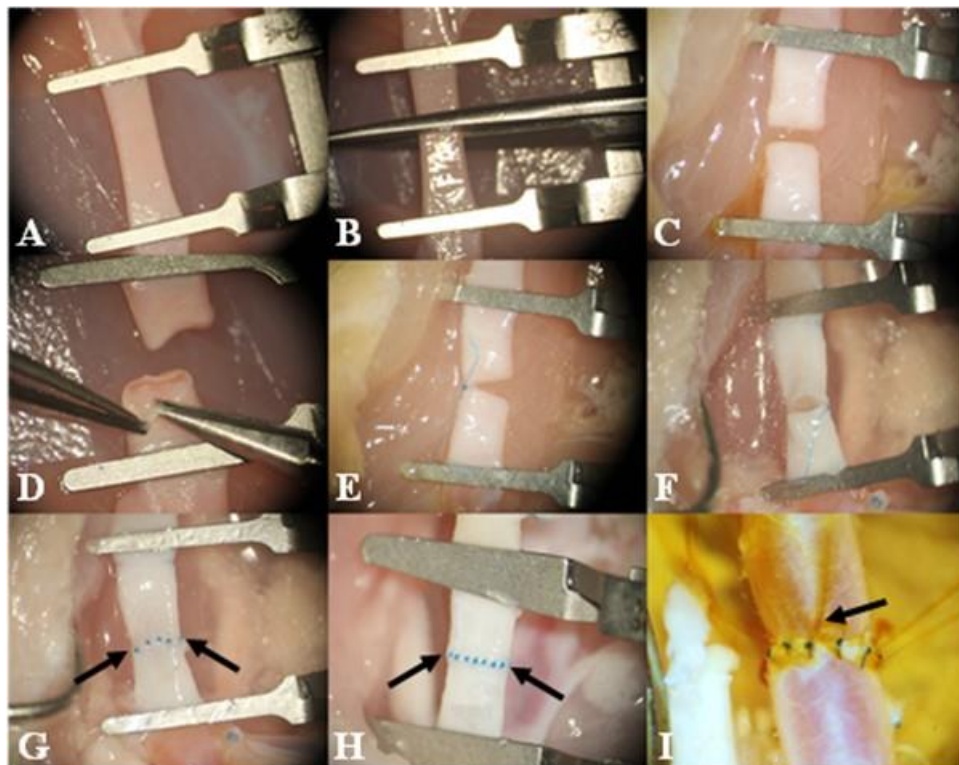
Az artériát három ligatúra segítségével a kanülre szorítottuk, hogy légmentesen lezárja a proximális érvéget (14. ábra, A). Ezt követően az eret fiziológiás sóoldattal átmostuk, és csatlakoztattuk a kanülhöz a nyomásmérő berendezést, majd a distalis érvégre pedig egy moszkítót helyeztünk (14. ábra, B, C, D). 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 (14. ábra, E, F). 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.



14. ábra

Biomodell előkészítése a biomechanikai vizsgálatokhoz II

A: az ér rögzítése a kanülre, nyíl: szorító öltések; B: az ér átmosása; C: az infúziós szerelék csatlakoztatása;
D: az arteria distalis végének lezárása egy moszkító segítségével; E: nyomáspróba;
F: szivárgás ellenőrzése, nyíl: ligatura. Nagyítás: 16x, 25x



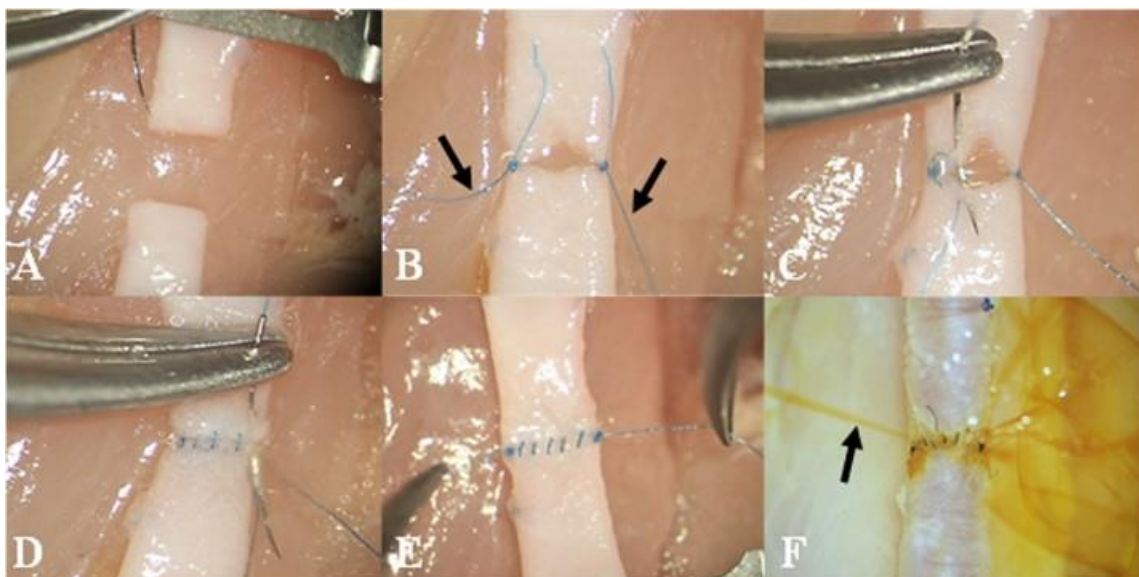
15. ábra

8 és 12 öltéses egyszerűcsomós varrat

A: az approximator által kirekesztett érszakasz; B: az ér átvágása; C: az érvégek közelítése az approximátorral;
D: laza adventitia eltávolítása; E: behelyezett saroköltés 9 óránál; F: behelyezett saroköltés 3 óránál;
G: 8 öltéses anastomosis, nyíl: saroköltések; H: 12 öltéses anastomosis, nyíl: sarok öltések;
I: az ér nyomáspróbája, nyíl: a szivárgást mutató Betadin-nyaláb. Nagyítás: 16x, 25x

Csomós varrat: Az ér közepére felhelyezésre került egy approximátor, mely stabilan rögzíti az érvégeket és feszülés mentesen környezetet biztosít (15. ábra, A). Ezután az eret átvágtuk, látható ahogy az ér rugalmasságánál fogva széturrik (15. ábra, A, B). és az érvégről

óvatosan eltávolítottuk a laza adventitiát 1-2 milliméternyire (15. ábra, D). Ezt követte a két saroköltés behelyezése, melyeket az ér átellenes pontjaira helyeztünk (15. ábra, E, F). Ezt úgy lehet elképzelni, mint ha az ér keresztmetszetét egy órának megfelelően számoznánk körbe, és a két tartóöltést 3 és 9 óránál helyeztük be. Épp ezért ezt a technikát „3 és 9 óra technikának” is nevezik.¹⁸⁴ 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 (15. ábra, G, H). A hátulsó falat az approximátor 180°-os elforgatásával hoztuk látó térbe, és az előbbiekkben részletezett módon varrtuk össze. Az anastomosist 120 Hgmm-es nyomáson teszteltük az aproximátor proximális klippjének megnyitásával (15. ábra, I). Amennyiben jelentős szivárgást tapasztaltunk póttöltések behelyezésével korrigáltuk azt. Maximálisan plusz 2 öltést helyeztünk be, amennyiben többre lett volna szükség az eret kizártuk a kutatásból.



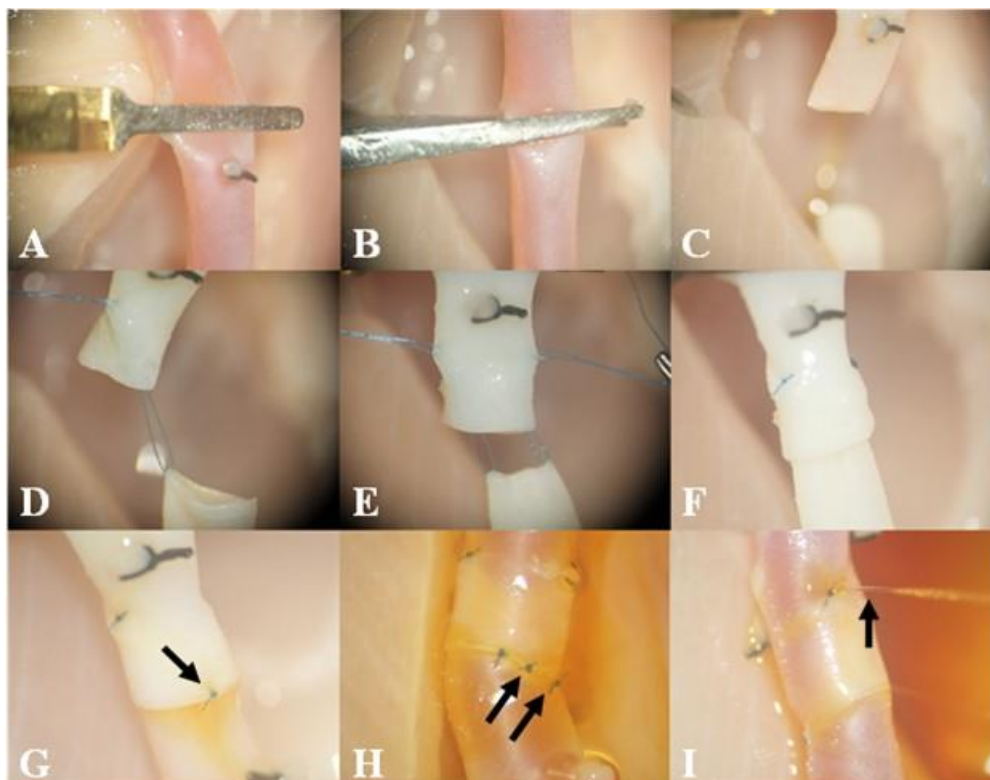
16. ábra

12 öltéses tova futó varrat

A: az első saroköltés behelyezés 9 óránál; B: mindkét behelyezett sarok öltés, nyíl: az öltés hosszú fonalvége, amely tüben végződik; C: elülső fali öltéssor kezdete; D: elülsőfali öltéssor utolsó öltés; E: 12 öltéses tova futó varrat, F: az anastomosis nyomáspróbája, nyíl: a szivárgást mutató Betadin-nyaláb. Nagyítás: 16x, 25x

Tovafutó varra: A lépések az érátvágásáig és 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 (16. ábra, A, B). Az elülső falat a bal oldalra behelyezett saroköltés tűs fonalával vartuk végig és a másik sarok öltést elérve annak a rövid szárával kötöttük el (16. ábra, C, D). Az approximátor 180°-os elforgatásával elértük a hátsó falat és a még fel nem használt saroköltés fonalával egyesítettük a hátsó falat, ez elülső fal esetén leírt módon, így elkészítve a 12 öltéses tpvafutó varratot (16 ábra, E). Itt is elvégeztük a nyomáspróbát jól látható volt a szivárgások forrása (16. ábra, F). 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.



17. ábra

Módosított Lauritzen-féle "Sleeve" technika

A: individuális klipek felhelyezése; B: ér átvágása; C: az átvágott ér; D: húzó öltés 9 óránál;
E: mindkét húzó öltés beöltés után; F: megcsomózott öltések; G: rögzítő öltések, nyíl: felületes rögzítő öltés;
H: nyomáspróba, nyíl: szivárgás miatti póttöltések;
I: ismételt nyomás próba, nyíl: szivárgást jelző folyadék sugár. Nagyítás: 16x, 25x

Módosított "Lauritzen"-féle varrat: Ezt az öltés technikát ingujj vagy "sleeve" technikának is nevezik. A módszer lényege, hogy a proximális érvéget behúzzuk a distalis érvégbe teleszkópszerűen. Az eredeti technika esetén összesen két öltést alkalmaznak ám az előkészületein során kiderült, hogy ekkora érátmérőknél ez nem elegendő, ezért összesen 4 öltést alkalmaztunk. Két individuális klipet helyeztünk fel a hosszab érszakasz közrefogása érdekében, majd az eret átvágtuk, de az adventitiát nem távolítottuk (17. ábra, A, B, C). 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 kifelé az eredeti beöltéstől fél milliméternyire proximalisan az érvéghez képest (17. ábra, A). Ezt 9 és 3 óra pozícióban végeztük el (17. ábra, E). Ha a két húzóöltés elkészült, azokat megcsomózva a proximális érvéget teleszkópszerűen behúztuk a distalis érvég lumenében (17. ábra, F). Ezt követte két tartóöltés behelyezése, melyeket 12 és 6 óránál öltöttünk be. Ezek az

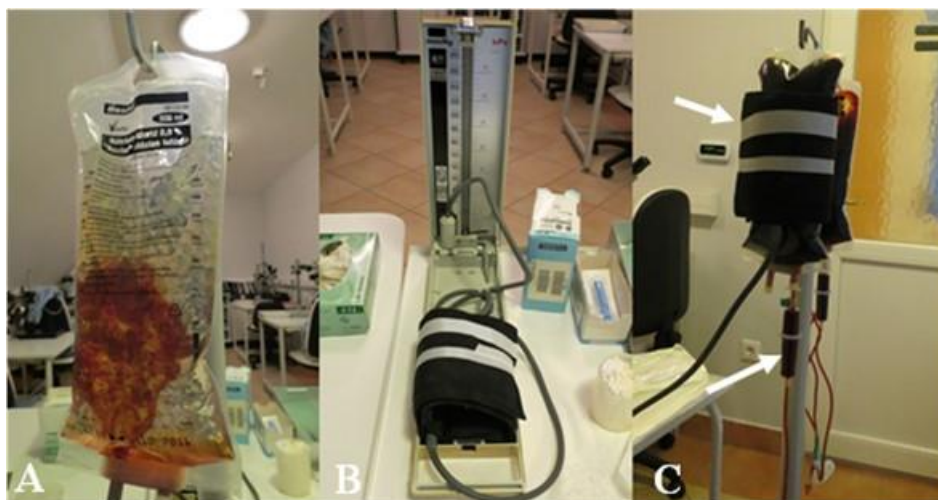
öltések a distalis érvég minden rétegét át öltik, de a proximalis ér falából csak az adventitiát veszik fel (17. ábra, G). Ebben a csoportban is végeztünk 120 Hgmm-s nyomáspróbát és szükség esetén maximum két póttöltés helyeztünk be (17. ábra, I, H).

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

3.1.3. 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 állt (18. ábra, A, B). Rögzítettük a vérnyomásmérő mandzsettát az infúziós zsákra és ezt felfújva állítottuk vagy mértük a nyomást (18. ábra, C). Az infúziós zsákot és a kanulált ereket egy sztenderd infúziós szereléssel kötöttük össze (14. ábra, C).

Az anastomosis elkészültével az infúziós szerelést elzártuk, majd a nyomást felemeltük 280 Hgmm-re. Felengedtük a szerelést és öt percig figyeltük a nyomásemelkedés mértékét. A sebárat 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.



18. ábra

Nyomásmérő összeállítás

A: Betadine-al festett fiziológiás sóoldat; **B:** hagyományos higanyos vérnyomásmérő; **C:** az összeállított szerelék, felső Nyíl: az infúziós zsákra erősített mandzsetta, alsó Nyíl: csatlakoztatott infúziós szerelék

3.1.4. 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 anastomosis 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. Az elülső illetve a hátulsó falba helyezett felező öltések után a 8 öltéses varratok esetén csak 1-1 öltést helyeztünk az érfal negyedekbe úgy, hogy a középső öltés és a sarok öltés között pontosan félúton helyezkedjenek el (16. ábra, G). Ez elülső és hátulsó falanként 3-3 öltést jelentett a sarok öltéseket leszámítva, összesen pedig 8-at. A 12 öltéses anastomosis csoportban pedig érnegyedenként 2-2 öltést készítettünk a felező és a sarok öltések között (15. ábra, H). Az érnegyedekbe a két öltést úgy helyeztünk be, hogy az öltéseket, az érnegyedeket harmadolják. Ez oldalanként 5-5 öltést jelentett a sarok öltésekkel együtt, az anastomosisba összesen 12-t. A patkány modellben is ugyanígy készültek a varratok.

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 (16. ábra, E). Ha az utolsó öltés után jelentős távolság volt még hátra a sarok öltésig, akkor azt az eret nem használtuk fel a mérések során.

3.1.5. 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 (19. ábra, A). A CNC motort a mikrokontroller vezérelte, melyet egy USB csatlakozón keresztül egy a számítógéphez írt programmal kezeltünk. Két befogó pofa közé rögzítettük a vizsgálandó érszakaszt. Az érszakasz végeire egy-egy 2/0-s fonal hurkot rögzítettünk csúszócsomó segítségével és ezeket rögzítettük a húzópofákban (19. ábra, B), ezzel biztosítva, hogy az erek középen és ne a rögzítési pontoknál szakadjanak el. Az egyik pofa a torziós erőmérőre volt rögzítve, a másik egy csúszó sínre, melyet a CNC léptető motor húz egy keresztbordás szíj segítségével (19. ábra, A). A torziós erőmérő feszültség változásban mutatta a húzóerőt, melyet a program átváltott és így 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 mérés kezdetekor a gép egyenletes, 11 léptetés/másodperces sebességgel kezdte húzni az ereket. Egy léptetés a CNC motor tengelyén $1,8^\circ$ foknak megfelelő szög-elfordulással egyenlő, ami 0,079 mm-nek felelt meg a gépben

léptetésenként. A torziós erőmérőre terhelődő húzást a gép folyamatosan kirajzolta egy erő/nyúlás görbén (19. ábra, C). Ebben az esetben az erő a Newtonban kifejezett 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.



19. ábra

A szakítószilárdság-mérő készülék és használata

A: a készülék, bal oldali nyíl: torziós erőmérő, középső nyíl: csúszósín, jobb oldali nyíl: CNC léptető motor;

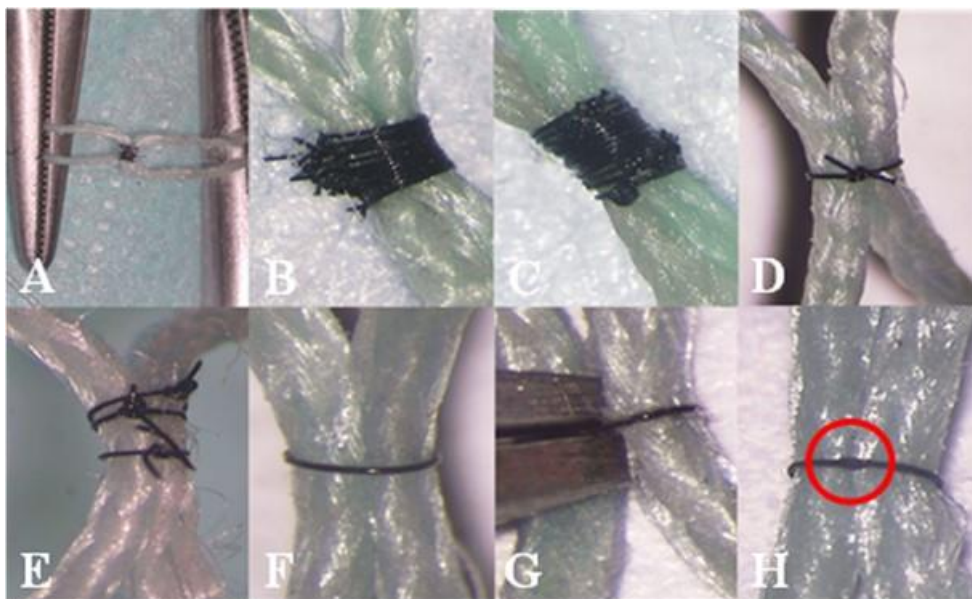
B: a gépbe rögzített ér; **C:** a program által kirajzol erő-nyúlás görbe

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 (25 ábra, A). 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 anastomosiok öltésszámaival (20. ábra, A, B, C). Egy öltést tulajdonképpen a fonalakat összekötő megcsomózott hurkokként kell elképzelni (20. ábra, D). A fonal vizsgálatához egy szál 8/0-s varróanyagot rögzítettünk a két húzópofa közé, külön figyelmet fordítva arra, hogy a fonalak ne a felfogatósi pontoknál szakadjanak el. Ezáltal a valós szakítószilárdságot tudtuk mérni. A csomós fonal ugyanilyen módon volt mérve azzal a különbséggel, hogy a közepére 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 (20. ábra, E). 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 (20. ábra, F, G, H). A méréseket a biomodellek során alkalmazott protokoll szerint hajtottuk végre. Így próbáltuk kizárni az ér által okozott variációkat, hogy a kapott eredmények biztosan csak a különböző technikákból, vagy a művileg kialakított körülményektől függjön. A méréseknél három paramétert vizsgáltunk: a minták nyúlását, a maximális szakítószilárdságát és az elaszticitását effektív Young-modulusban kifejezve.



20. ábra

A fonal modell csoportjai

A: az összekötött 2/0-s fonal hurkok; **B:** 12 öltéses egyszerűcsomós varrat fonal modellen; **C:** 12 öltéses tova futó varrat fonal modellen; **D:** egy öltésnek megfelelő 8/0-s fonalhurok; **E:** helytelenül megcsomózott öltések; **F:** sértetlen öltés; **G:** a fonal ellapítása egy csipesz segítségével; **H:** az ellapított/megsértett öltés
Nagyítás: 16x, 25x

3.2. 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 ± 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 fénciklus mellett tartottuk, szabad víz és táp hozzáférést biztosítva. A műtéteket követően az állatokat elkülönített ketrecekben tartottuk. A kutatás során az anatómiai képletek megnevezéséhez Eunice Chace Greene: Anatomy of the

Rat című könyvét vettük alapul.¹⁸⁵ 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.

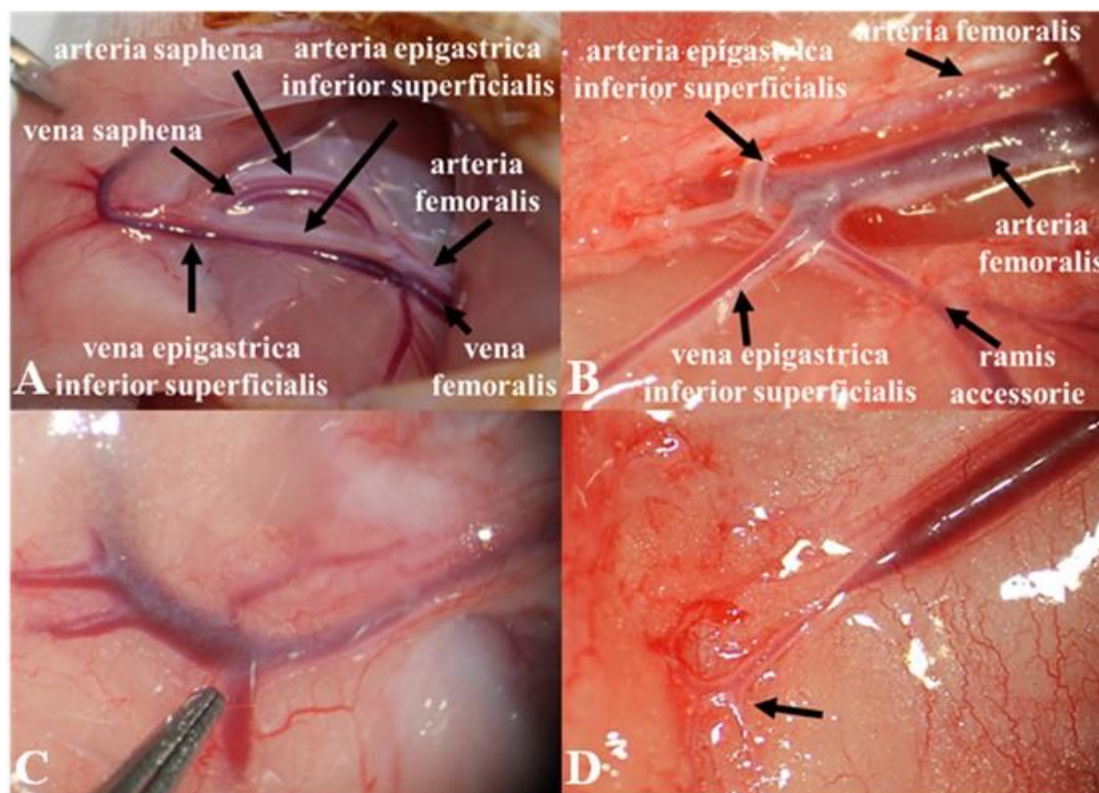
3.2.1. Műtéti protokoll

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.^{186,187} Az altatószer keveréket intraperitonealisan adtuk be az állatoknak. A műtétek során az altatás fenntartását a kezdeti altató dózisban megtalálható ketamin adag harmadával végeztük.

Az altatás mélységét folyamatosan figyeltük, több különböző jeleket megfigyelve: akaratlagos mozdulatok, fájdalomra adott válasz, talp szorítás, végtag visszahúzási reflex.¹⁸⁷ A thrombosis profilaxis érdekében intravénás heparint (80 NE/ttkg) alkalmaztunk. A posztoperatív első hét folyamán pedig analgetikumként subcutan Flunixin (10 mg/tkg) adtuk az állatoknak. A műtéti terület előkészítésének lépései a jobb oldali inguinalis régió borotválása és fertőtlenítése voltak. A műtéti terület fertőtlenítéséhez Betadine-os oldatot, az izoláláshoz steril gézlapokat használtunk.

A beavatkozás első lépése a bőrmetszés volt a ligamentum inguinale felett körülbelül 2 cm hosszan. Ebből a metszésből atraumatikus preparálás segítségével felkerestük az arteria és a vena femoralist (21. ábra, A). Az arteria femoralis-t a ligamentum inguinale-től az arteria saphena oszlásáig preparáltuk ki (21. ábra, A, B; 22. ábra, A).

A köztes szakaszon az oldalágakat lekötöttük, melyek az arteria circumfleca iliaca superficialis és az arteria epigastrica inferior superficialis voltak. Az angol nevezéktan alapján ezt (superficial inferior epigastric artery) SIEA-nek rövidítjük (21. ábra, A, B; 22. ábra, B, C). Ezt követően a vena femoralis ligamentum inguinale felől számított első medialis oldalágát a vena epigastrica inferior superficialis-t preparáltuk ki, ezt az angol nevezéktan alapján (superficial inferior epigastric vein) SIEV-nek rövidítjük (21. ábra, A, B). Úgy sztenderdizáltuk a SIEV hosszát, hogy a vena femoralis-ba való beszájadásától az első oldalágig preparáltuk ki az eret (21. ábra, C, D).



21. ábra

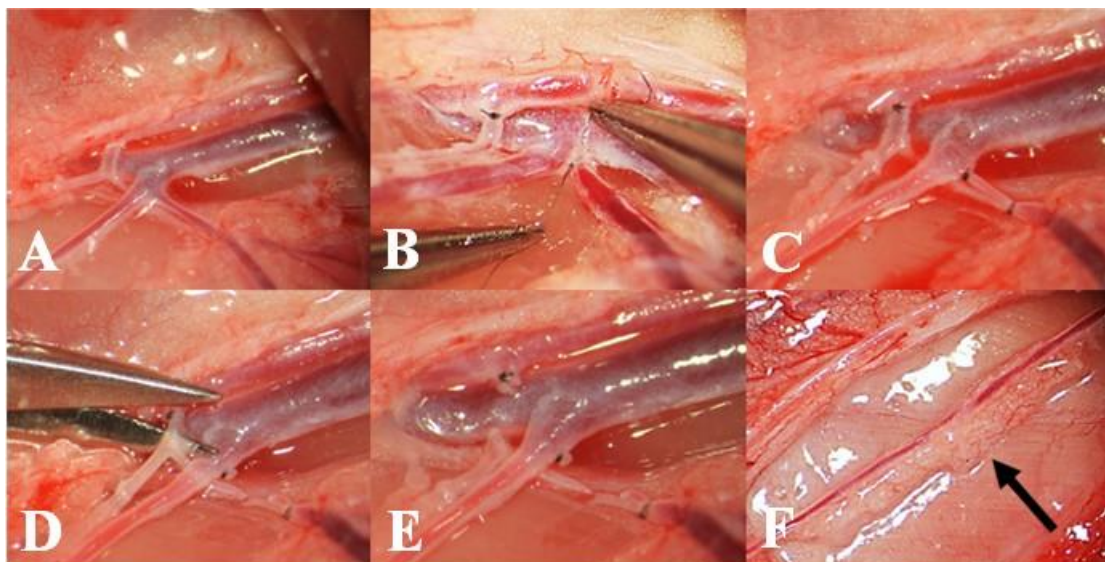
Az inguinalis erek anatómiája kipreparálás előtt és után

A: patkány inguinalis régió erei preparálás előtt; **B:** az inguinalis régió erek preprálás után; **C:** vena epigastrica inferior superficialis (SIEV) első proximalis oldalága; **D:** a SIEV az első proximalis oldalágáig kipreparálva; Nagyítás: 16x, 25x

A kutatást megelőző tapasztalataink alapján ez a vena alacsony fokú anatómiai variabilitást mutatott, ezért választottuk ezeket az anatómiai támpontokat. Azonban az esetek 15 %-ban az epigastricus erek beszájadzásánál járulékos oldalágak is jelen voltak, ilyen esetekben az oldalágak lekötésre kerültek (21. ábra, B; 22. ábra, B, C). A lekötött ereket átvágtuk és ezáltal a szükséges erek izoláltá váltak (22. ábra, D, E).

Figyeltünk arra, hogy a SIEV-t ne csupaszítsuk meg, csak a femoralis beszájadzásnál és az első oldalágánál preparáltuk ki teljesen a vénát. A két említett pont között az éren jelentős mennyiségű zsírt és kötőszövetet hagytunk azért, hogy a további műtétek során az erek alakját megtartani hivatott öltéseket tudjuk mibe helyezni (22. ábra, F).

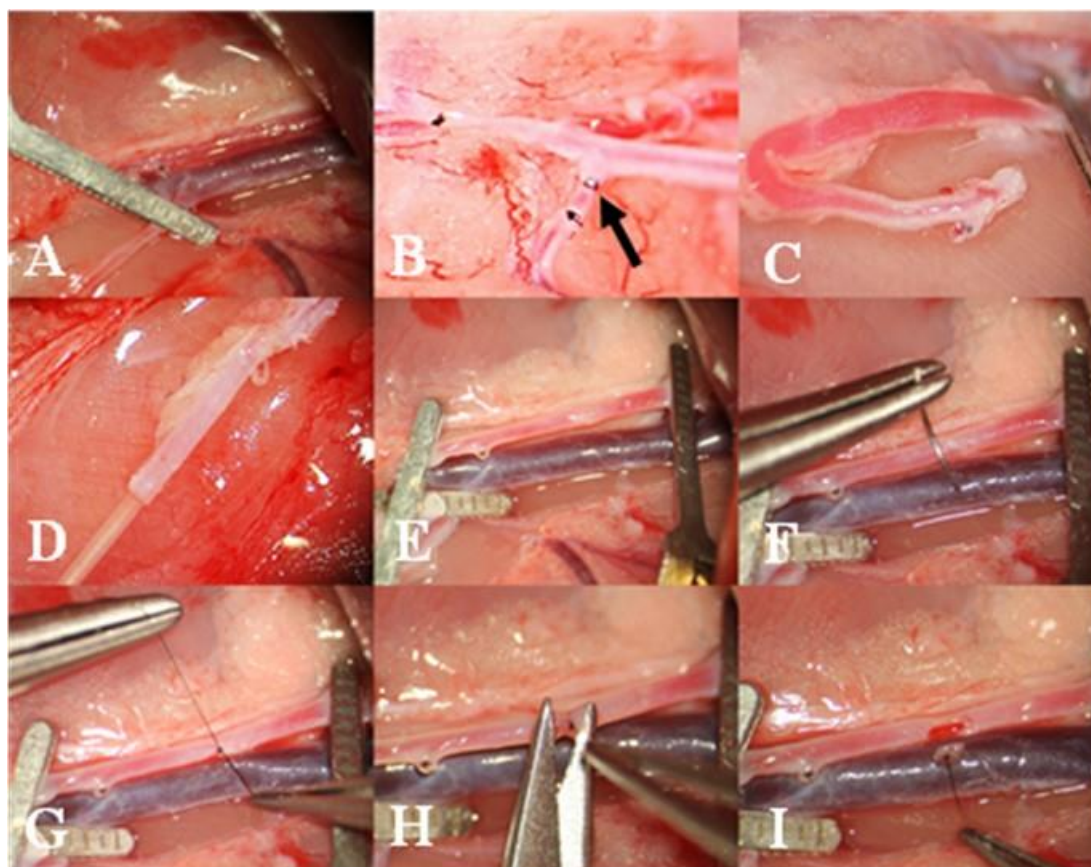
Eddig a pontig minden csoportban megegyeztek a lépések. Az áloperált csoport esetén a műtéti területet egy fiziológiás sóoldattal átitatott gézlappal lefedtük és az állatokat további 90 percre allatásban tartottuk, mely időtartam megegyezett a többi csoport átlagos műtéti idejével. Ennek elteltével a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



22. ábra

Inguinalis erek kipreparálása és izolálása

A: kipreparált femoralis erek; **B:** SIEA proximalis végének és a járulékos oldalágának lekötése; **C:** lekötött erek;
D: SIEV oldalágának levágása és a SIEA levágása; **E:** átvágott erek; **F:** a kipreparált SIEV,
 nyíl: a SIEV-n hagyott kötőszövet. Nagyítás: 16x, 25x



23. ábra

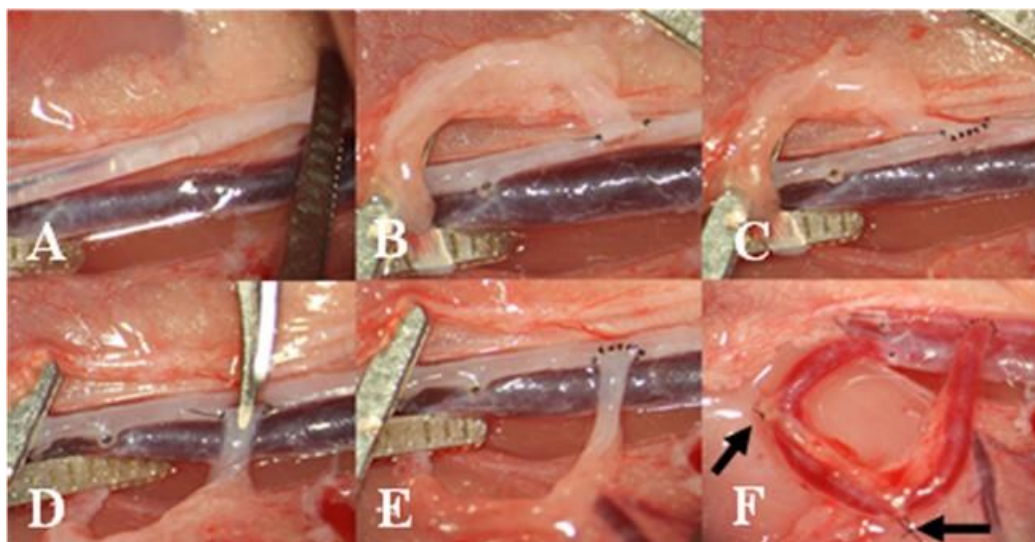
Fistula elkészítésének lépései I

A: SIEV proximalis végének lezárása; **B:** SIEV distalis végének ligatúrája, nyíl: első proximalis oldalág;
C: az átvágott SIEV; **D:** SIEV heparinos mosása; **E:** az arteria femoralis kirekesztése;
F: "sátor" öltés behelyezése; **G:** "sátor" öltés megcsomózása; **H:** anastomosis nyílás kialakítása;
I: a kivágott érfal; Nagyítás: 16x,

Fistula: Az erek kipreparálását követően a SIEV-t a femoralis beszájadzásánál egy microvascularis klip segítségével lezártuk és lekötöttük az első distalis oldalága szintjében (23. ábra, A, B). Majd az eret átterszettük és felvezettünk rajra egy 26 G-s kanült, aminek a segítségével átmostuk az ér lumenét (23. ábra, C, D). A mosáshoz 50 NE/ml töménységű Heparin oldatot használtunk. Ezután a kipreparált arteria femoralis szakaszának proximalis és distalis végét egy-egy klippel lezártuk (23. ábra, E). Majd a közepén egy öltést helyeztünk be úgy, hogy csak az tunica media rétegéig hatoljon be (23. ábra, F). Az öltést megcsomóztuk és ezt megemelve az érfal sáttortetőszerűen kiemelkedett (23. ábra, G, H). Egy hajlított olló segítségével a kiemelkedő érfalat lemetsztük úgy, hogy a kialakított nyílás a SIEV átmérőjével megegyezzen (23. ábra, H, I).

Az artériát is átmostuk heparinnal a kialakított nyíláson keresztül (24. ábra, A). A SIEV distalis végét ráfordítottuk a femoralis artéria nyílására és két saroköltéssel rögzítettük a szájadékokat az egyszerű csomós varrattechnikának megfelelően 3 illetve 9 óránál (24. ábra, B). A két saroköltés közé az alsó, illetve a felső falon 5-5 öltést helyeztünk be (24. ábra, B, C). Az alsó fali öltéssor elkészítése után a csipesz egyik szárát bevezettük a SIEV lumenébe, így ellenőrizve, hogy a véna falakat nem öltöttük össze (24. ábra, D). Ha nem találtunk hibás öltéseket, akkor befejeztük az elülső fali varratsort (24. ábra, E). Ezt követően eltávolítottuk a klipet a SIEV-ről és az arteria femoralis distalis végéről, így a retrográd, azaz a visszaáramló vér feltöltötte az anastomosist. Ezzel ellenőrizni tudtuk alacsony nyomáson a varrat minőségét és ha szükséges volt, póttöltéseket helyeztünk be. Erre 10 állatból összesen kétszer volt szükség. Ha a szívgási pontok elzáródtak, akkor a proximális klipet is eltávolítottuk (24. ábra, F).

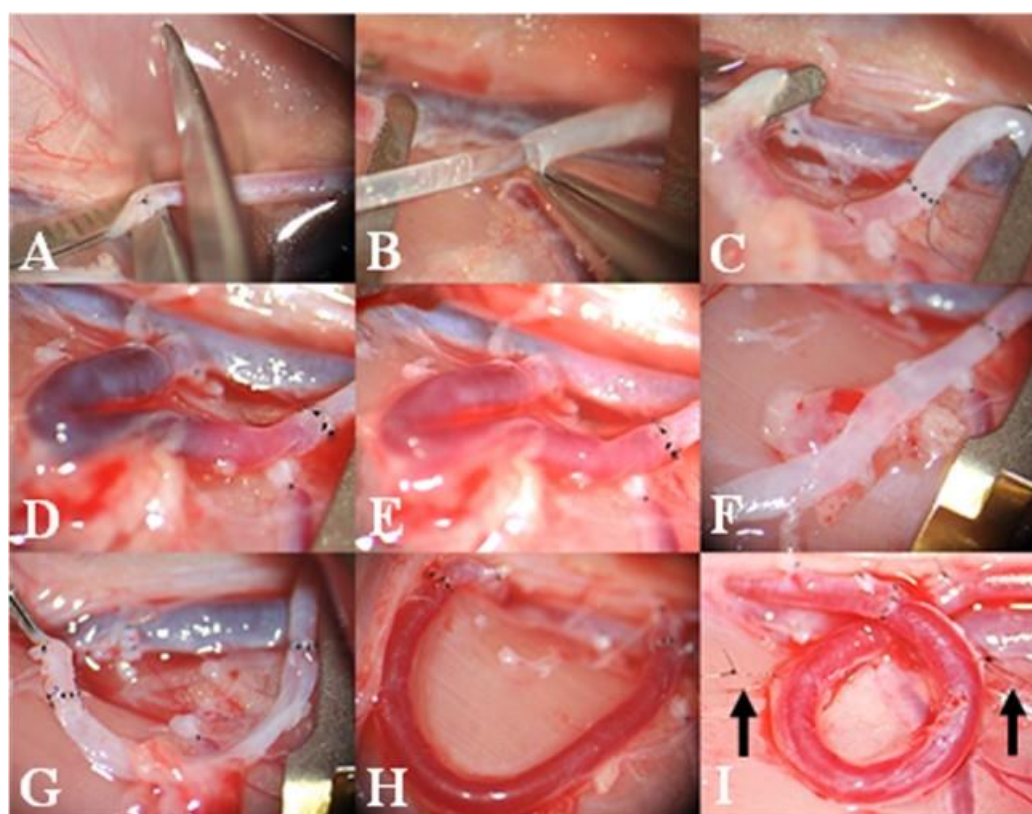
A vena femoralisban megjelenő élénk piros vér jelezte a fistula működését (25. ábra, D, E). Az anastomosis átjárhatóságát több módon is ellenőriztük. Egyrészt az SIEV lezárásával az arteria femoralis-ba visszatért a sötétebb vénás vér, valamint a vénán elvégeztük az úgynevezett dupla occlusió tesztet, avagy a „milking” tesztet.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰ Ezt két csipesszel hajtottuk végre. Az eret az anastomosistól distalisan lezártuk az egyik csipesszel, majd emellett közvetlenül ráfogtunk az érre a másik csipesszel is. A második csipeszt az anastomosistól elfele húzva kipréseltük a vért az ér lumenéből, majd az első csipeszt, ami a varrathoz közelebb helyezkedett el felengedtük, így a két csipesz között lévő üres érszakasz hirtelen megtelt újra vérrel. Ezt tapasztalva megállapíthattuk, hogy az anastomosis megfelelően áramlik. Ha a telődés lassan vagy egyáltalán nem történt meg, akkor az éregyesítés elzáródott és azt az állatot kizártuk a kísérletből. 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 (24. ábra, F). Ismét ellenőriztük az erek átjárhatóságát, és ha nem találtunk problémát, bőrvarrattal fejeztük be a műtétet.



24. ábra

Fistula elkészítésének lépései II

A: az arteria femoralis heparinos mosása; **B:** SIEV distalis végének rögzítése két sarok öltéssel; **C:** hátsó fal varrat; **D:** a lumen átjárhatóságának ellenőrzése; **E:** elülső fal varrat; **F:** a fistula nyomáspróbája és kirögzítése két tartóöltéssel a gracillis izomzathoz, nyilak: tartóöltések. Nagyítás: 16x, 25x



25. ábra

Loop elkészítés lépései

A: az arteria femoralis átvágása; **B:** heparinos átmosás; **C:** a SIEV distalis és a femoralis arteria proximalis érvégeinek egyesítése; **D:** a proximalis anastomosis átjárhatósági vizsgálata a klip felengedése előtt; **E:** a proximalis anastomosis átjárhatósági vizsgálata a klip felengedése után; **F:** a femoralis beszájadásnál lemetezett és kimosot SIEV; **G:** az elkészített distalis anastomosis; **H:** a vénás interpositum nyomáspróbája; **I:** hurok alakban rögzített vénás interpositum. Nagyítás: 16x, 25x

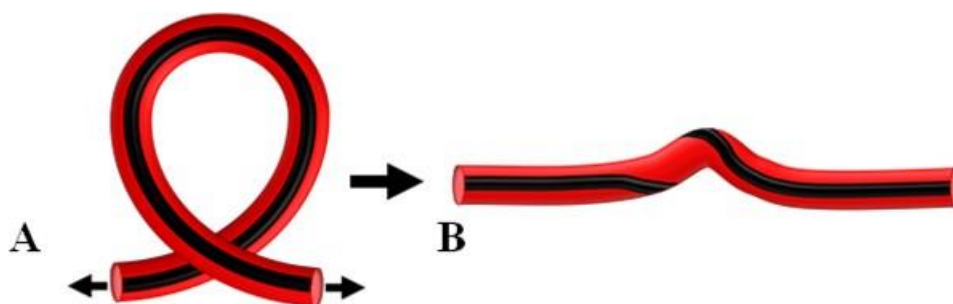
Loop: Ebben a csoportban a kipreparált arteria femoralis szakasz kirekesztéséig megegyeztek a lépések. Oldalöltés helyett azonban az eret egyenes ollóval átmetszettük a

szakasz közepén, a ligamentum inguinale felől haladó érvéget proximalis az izom alá bújó érvéget distalis érvégnek neveztük (25. ábra, A). Az érvégekről a laza adventitiát eltávolítottuk és a lumeneiket heparinos oldattal kimostuk (25. ábra, B). Először a proximalis anastomosissal kezdtük, melyet a SIEV distalis vége és a proximalis érvég között hoztunk létre (25. ábra, C). Ezáltal a vénában fiziológiás irányú maradt a véráramlás, és az esetlegesen jelen lévő vénás billentyűk nem okozhattak áramlási akadály. Bár vizsgálták ezeknek a meglétét ebben a vénában, és nem találtak a jelenlétükre bizonyítékot, mégis az előkísérleteink során fordított áramlás esetén thrombus képződést figyeltünk meg.^{191,192} Ez az anastomosis end-to-end típusú érvarratnak megfelelően készült az előző fejezetben leírt módon. Annak ellenére, hogy az erek megközelítőleg csak 1 mm átmérőjűek voltak, mégis 10 darab öltést helyeztünk be az érvégekbe, amihez 10/0-s fonalat használtunk (25. ábra, C).

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 (25. ábra, D, E). Ebben az állapotban lényegében megegyezett egy fistulával, így ennek megfelelően vizsgáltuk az átjárhatóságot. Addig hagytuk felengedett állapotban, ameddig minden vérzés forrás megszűnt. Ha nem láttunk vérzést, újra lezártuk a proximalis arteriás érvéget és a SIEV beszájadását egy ligatura segítségével elzártuk. A vénát egy egyenes ollóval átmetsztük a ligatura mellett szorosan és a SIEV segmentumot újra kimostuk heparinnal (25. ábra, F). A 26 G-s kanült úgy vezettük fel a SIEV proximalis vége felől, hogy az anastomosison keresztül vezessük a kanül végét, ezzel is ellenőrizve, hogy az érfalakat nem öltöttük-e össze. A kimosást követően egyesítettük a SIEV proximalis végét az arteria femoralis distalis érvégével, szintén egy end-to-end típusú varrattal (25. ábra, G).

Az átjárhatóságot „milking” tesztel ellenőriztük a distalis femoralis érvégen. Ezen kívül figyelniünk kellett arra is, hogy a második anastomosis elkészítése előtt a graftot az óramutató járásával ellenkezően 180°-ban mindig megtekerjük. Erre azért volt szükség, mert a hurok alak kialakítása során az érben egy, az óramutató járásával megegyező 180°-os csavarodás keletkezne, ami a graft oly mértékű torzióját jelenti, hogy akár az ér elzáródását is okozhatja. Ha egy hurkot kiegyenesítünk látható, hogy a graftban természetesen jelen van egy csavar (26. ábra, A, B). Ennek az ellenkezője is igaz, tehát ha a graftot csavarodás mentesen illesztjük be az érbe, akkor a hurok kialakításánál képzünk egy 180°-os torziót. Ez a torzió az előkísérletek során az ér „cukorka csomagolás”-szerű megcsavarodását eredményezte. Az említett jelenség számos egyéb helyzetben is előfordul, ezért kiemelendő a fontossága.^{193–195} A SIEV szegmens beillesztését követően eltávolítottuk a distalis klipet és megvártuk a vérzés megszűnését (25. ábra, H). Ezt követően az interpozitumot az óramutató járásával megegyező módon megtekerve létre hoztuk a hurkot, avagy a „loop”-ot (25. ábra, I). A graft alakját ebben ez esetben is két

rögzítő öltéssel fixáltuk a gracilis izomzathoz (25. ábra, I). Újra ellenőriztük az anastomosisok átjárhatóságát és ha nem találtunk eltérést vagy vérzést, akkor a bőrt zártuk.



26. ábra

A hurok alakú ér-graftokban megfigyelhető torzió

A: hurok alakú ér-graft; B: hurok alakú ér-graft kifeszítve

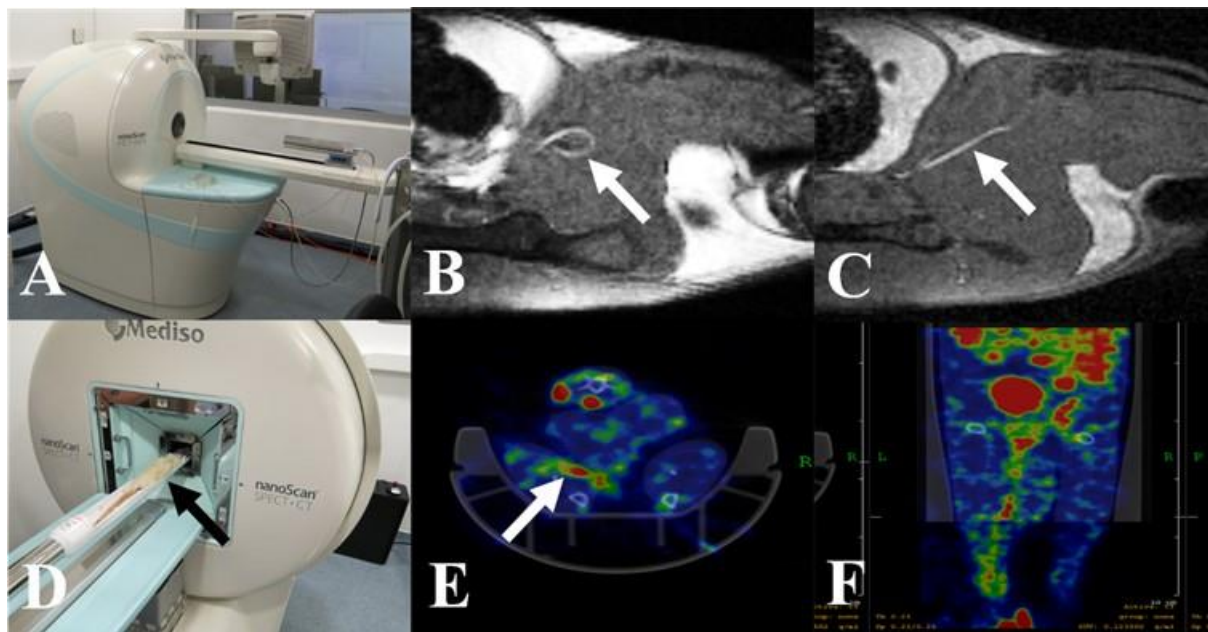
A műtét után és az ötödik posztoperatív héten (PO5) fotókat készítettünk az elkészített graftokról és a képek segítségével lemértük az erek külső átmérőjét meghatározott helyeken. Emellett a fistula ívén belül és a „loop” által bezárt területen megmértük a leghosszabb horizontális és vertikális átmérőt. A két átmérő hányadosából következtettünk az érsből 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 erek átmérőjét és az esetlegesen talált eltéréseket. A vizsgálat során kipreparáltuk és lemértük a 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.

3.2.2. 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 angiográfias vizsgálattal ellenőriztük (nanoScan® PET/MRI, Mediso Kft, Budapest, Magyarország).¹⁹⁶ Az állatokat sevoflurane segítségével altattuk el az erre a célra kialakított kamrában. Az altatást az állatok fejére helyezett altatómaszk segítségével tartottuk fenn. 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 (27. ábra, A, B, C).

A szöveti perfúziót technécium^{99m}-mibi alapú SPECT-CT vizsgálattal mértük (nanoScan® SPECT/CT/PET, Mediso Kft, Budapest, Magyarország).¹⁹⁷ Az állatokat az előbbieken leírt módon elaltattuk, majd a technéciumot szintén egyik laterális farokvénába fecskendeztük, és az

állatokat a gépbe helyeztük (27. ábra, D). 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 (27. ábra, E, F). Ha elzáródást vagy jelentős eltérést tapasztaltunk az állatot kizártuk a kutatásból, és pótoltuk az adott csoportban.



27. ábra

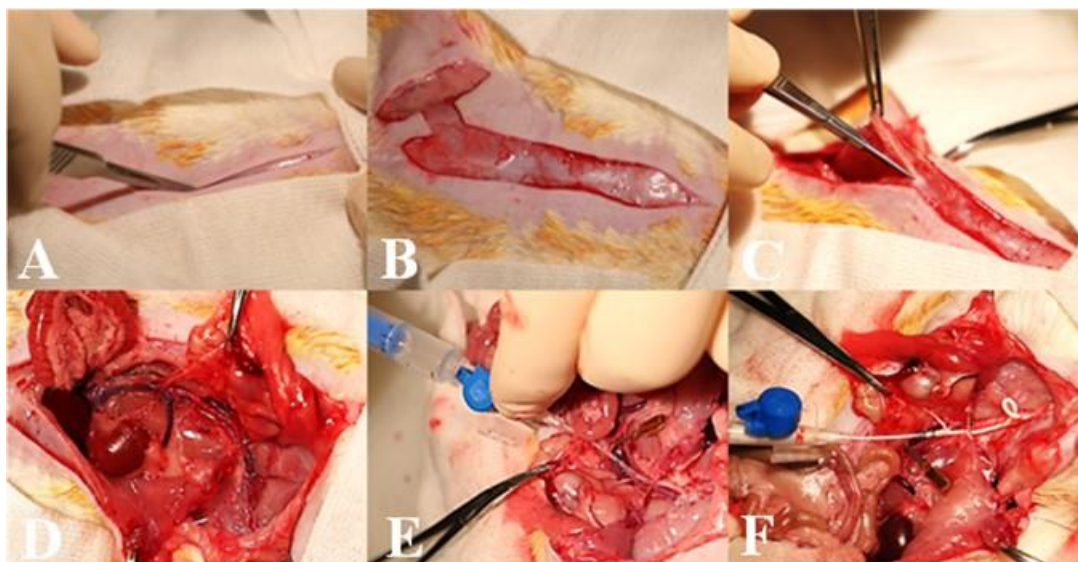
MRI, SPECT-CT vizsgálat lépései

A: az MRI készülék; **B:** sagittális MRI kép a működő „loop”-ról (nyíl); **C:** sagittális MRI kép az intakt érről, nyíl: arteria femoralis; **D:** a SPECT-CT készülék, nyíl: a készülékbe helyezett patkány; **E:** axialis SPECT-CT felvétel, melyen a jobb oldali arteria femoralis lumene elzáródott, nyíl: bal oldali arteria femoralis; **F:** coronalis SPECT-CT felvétel, melyen a jobb oldali arteria femoralis lefutása nem látható

3.2.3. 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 (28. ábra, A-D). 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.

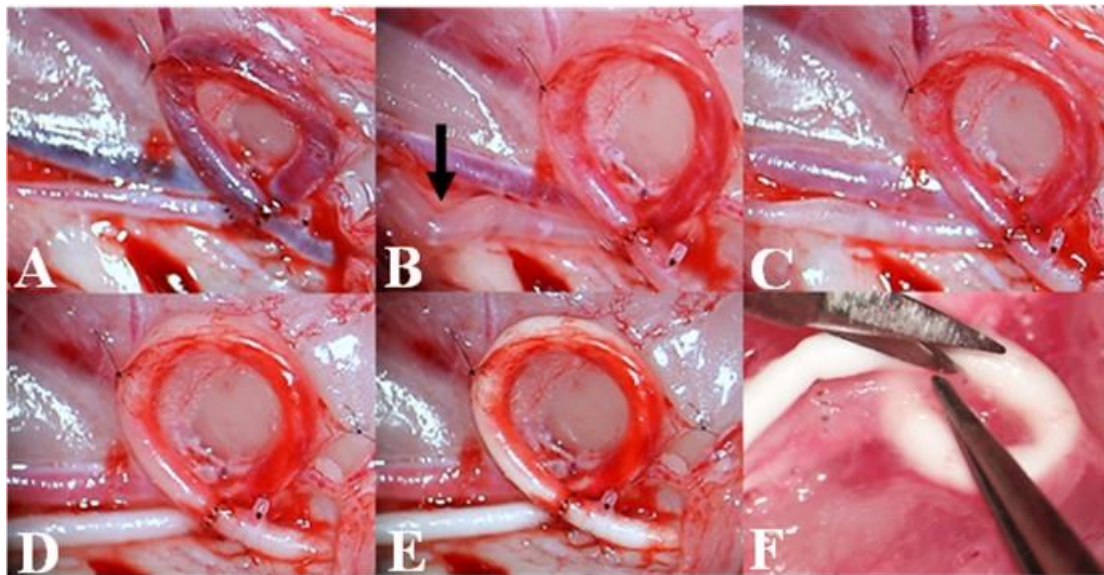
A képek alapján rögzítettük az erek átmérőjét és pontos alakját. Ezt követően proximális irány felől distalis irányba felvezettünk egy 22 G-s kanült az éren úgy, hogy a vége már az arteria iliaca externában legyen (28. ábra, E).



28. ábra
Öntvény készítés lépései I

A: median laparotomia bőrmetszése; **B:** inguinalis kiegészítő metszés; **C:** a hasfal megnyitása; **D:** az iliacalis és inguinalis erek kipreparálása az arteria femoralis-ig; **E:** az arteria iliaca communis kanülálása és a kétkomponensű műanyag befecskendezése, **F:** a megkötött műanyag. Nagyítás: 10x

A kanül köré három ligatúrát helyeztünk, hogy légmentesen lezárja azt ugyanúgy, mint a nyomáspróbáknál a biomodellek esetén. Ezt követően egy ultra-alacsony viszkozitású poliuretán polimert injektáltunk a kanülon keresztül az érbe (28. ábra, E) (Mercox LADD Labsciences, USA). A polimer két komponensből áll, melyek összekeverését és felszívását követően körülbelül 30 másodpercünk volt a beinjektálásra a műanyag megszilárdulásáig (28. ábra, E, F). A mikroszkóp képe élőben kivetítésre került egy monitoron. Az élő képet rávetítve az érről készült korábbi képre pontosan olyan nyomást tudtunk a fecskendővel létrehozni, hogy az ér olyan alakot vegyen fel, mint korábban a fiziológiás körülmények között. A rendellenes nyomás által okozott morfológiai változásokat az élő képen nyomonkövettük (29. ábra, A, B, C). Fiziológiás nyomás esetén a két képen látható „loop-k” fedték egymást. Ezt a nyomás a műanyag megszilárdulásáig fenntartottuk, melyet az átlátszó folyadék elfehéredése jelzett (29. ábra, C, D, E). További 10 percet vártunk a műanyag teljes megkötéséig, majd az ér szövetét óvatosan eltávolítottuk a műanyag felszínéről mikrosebészeti eszközökkel (29. ábra, F). Figyeltünk arra, hogy egyben fejtsük le az eret és ezáltal lehetőséget adva annak, hogy az ereket szövettani vizsgálatokra is fel tudjuk később használni.



29. ábra
Öntvény készítés lépései II

A: az összeesett graft; **B:** graft túlnyomáson, nyíl: a túlnyomás miatt kialakult megtöretés; **C:** a graft fiziológias nyomáson folyékony kétkomponensű műanyaggal feltöltve; **D:** a kötési folyamat kezdete, a folyadék opálósodni kezd; **E:** a teljesen megszilárdult graftra jellemző markáns kifehéredés; **F:** az ér lepreparálása a műanyag területéről. Nagyítás: 16x, 25x

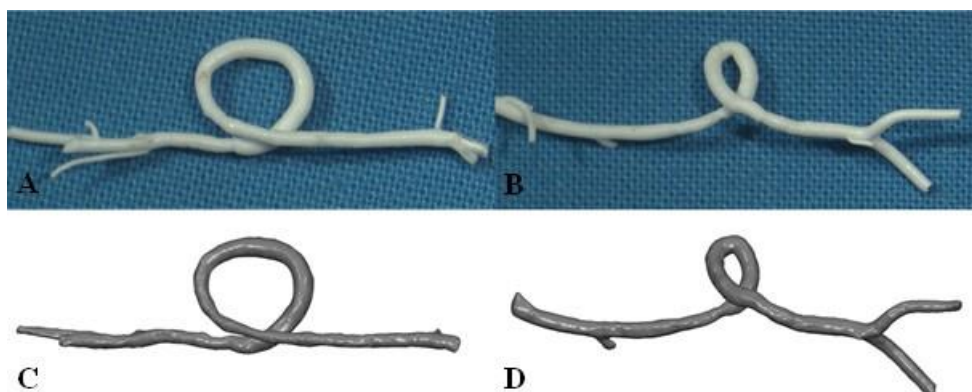
Az így megtisztított öntvényeket egy 3D szkennel segítségével digitalizáltuk (30. ábra) (CARA dental scanner, Kulzer, Japan, ME3D-Graft, Hungary). A szkennel felbontása 10 µm, mely kisebb mint egy endothelialis sej az intima rétegében, ez is mutatja a technika pontosságát.^{198,199} Az így kapott virtuális modell egy pontfelhőből áll, melyre egy stl. formátumú 3D felületet illesztettünk, ezáltal megkapva az ér pontos 3D modelljét. Az stl. file formátumú virtuális modellt átkonvertáltuk igs. formátummá, amely a NRUB (Non-uniform rational B-spline) felület fájl típusa. Ez a formátumú felület magas pontossággal képezi le a szabálytalan alakzatokat is.

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 az erek végeit meghosszabbítottuk az átmérő háromszorosának megfelelő távolsággal. Ezeket a szakaszokat a kiértékelésnél nem vettük figyelembe.

Az áramlási szimulációhoz egy saját fejlesztésű programot használtunk, melyhez az Ansys 20 R1 program nyújtotta a szoftveres háttérrel (Ansys, Inc; Canonsburg, Pennsylvania, USA). Az áramlási szimulációhoz szükségünk volt egy üreges érképletre, ez úgy kaptuk meg a NURBS felületből, hogy egy térhálót illesztettünk a virtuális modell felületére. Ez a térháló legalább 300 000 cellából állt, minden esetben a térháló illesztése ugyanolyan protokoll szerint

történt. Ez biztosította, hogy egy sztenderdizált, jól vizsgálható szimulációt hajtsunk végre. 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 szívciklusonként).

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 megjelentetésére 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 állatot a műtétet követően felhasználtunk öntvény készítésre. Majd az ötödik héten csoportonként 4 állatból készült öntvény, így össze tudtuk hasonlítani az erek geometriai és áramlástanai változásait a szövettani érést követően.



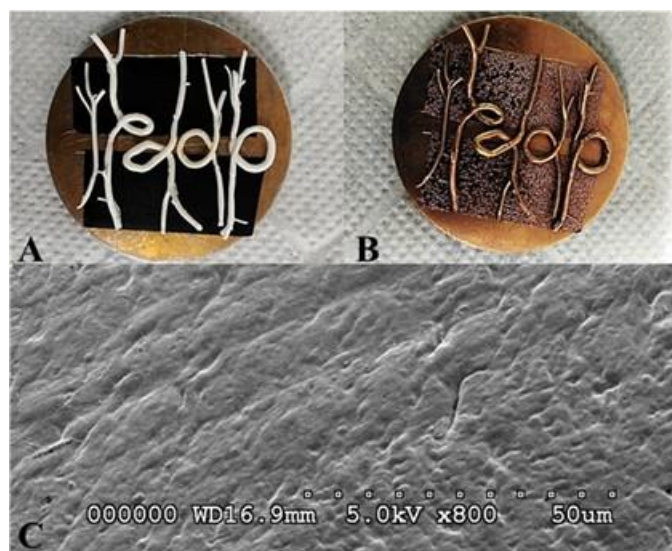
30. ábra

Bescannelt 3D modellek

A: frissen elkészített „loop” öntvény; B: PO5. héten készült arterializálódott „loop” öntvény;
C: frissen elkészített „loop” öntvény beszkenneve; D: PO5. héten készült arterializálódott „loop” öntvény beszkenneve (CARA dental scanner, Kulzer, Japán; ME3D-Graft, Magyarország)

3.2.4. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

A műanyag öntvények felületét pásztázó elektronmikroszkóppal megvizsgáltuk az ultrastruktúrális 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 (31. ábra, A, B).²⁰⁰ A képeket a natív és az érett erekről készült öntvények összehasonlításához használtuk fel.



31. ábra

Elektronmikroszkópia lépése és pásztázó elektronmikroszkópos felvételek natív érről

A: megtisztított öntvények; B: arannyal bevont öntvények;

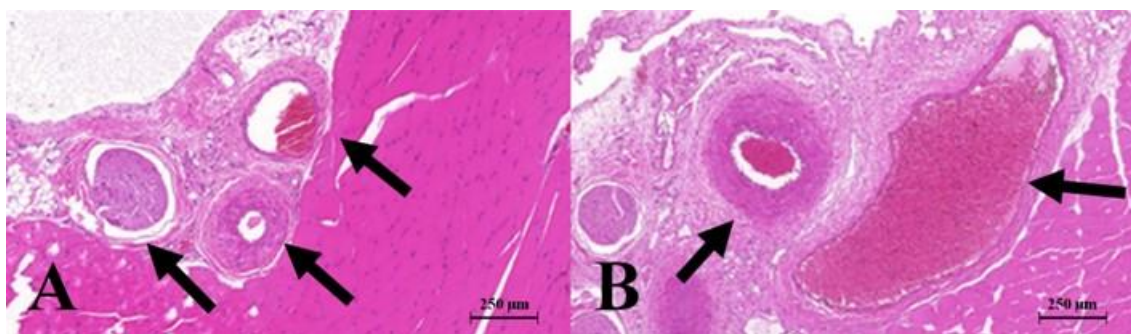
C: pásztázó elektronmikroszkópos felvétel natív érről készült öntvény felületén 50 nm-s felbontáson (JSM-IT500HR, Jeol Ltd, Akashima, Japán) Nagyítás: 800x

3.2.5. Szövettani vizsgálatok

A szövettani mintákat a Debreceni Egyetem Patológiai Intézetében dolgozták fel. Hematoxilin&ezoin festés alkalmaztunk a morfológiai vizsgálatok elvégzéséhez.²⁰¹ 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: tartóölteések, anatómiai struktúrák. A szimuláció és a szövettan 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 (32. ábra, A). 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 hematoxilin&ezoin festéssel jelöltük meg a morfológiai vizsgálatok elvégzéséhez (32. ábra, B). A tárgylemezre 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 (32. ábra, C, D) (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 összesített 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.



32. ábra

Szövettani metszetkészítés reprezentatív képei

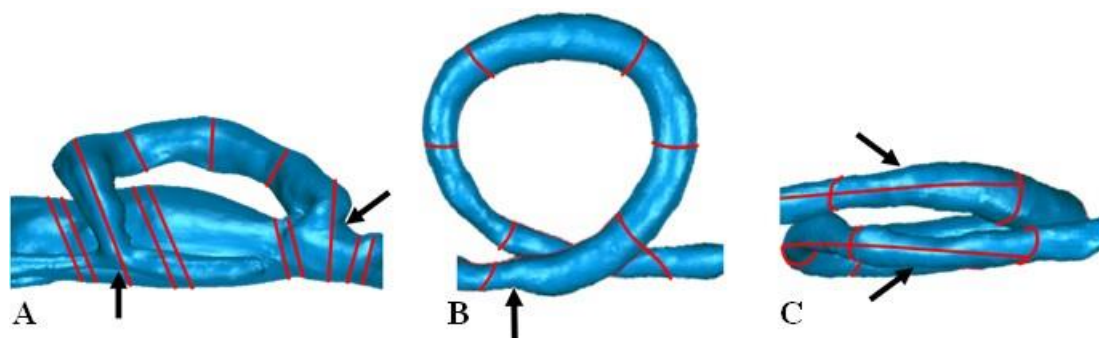
A: epigastriális érköteg, nyilak balról jobbra: nervus epigastricus inferior superior, arteria epigastrica inferior superior, vena epigastrica inferior superior; **B:** femorális érköteg, nyilak balról jobbra: arteria femoralis, vena femoralis; H&E, Nagyítás: x100

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 proximalisan és distalisan is metszettünk egyet-egy az arteria femoralison (33. ábra, A). Ugyanilyen módon készítettük a metszési síkokat a SIEV véna femoralis beszájadásánál (33. ábra, A). A SIEV-t az anastomosistól a beszájadásig 3 helyen metszettük át az érszakaszt egyenletesen felosztva. Az így nyert szövettani blokkokat a metszési síkoknak megfelelően ágyaztuk be (33. ábra, A).

Az anastomosisok közötti hurok szakaszt 3 helyen vágtuk át (33. ábra, B). A „loop” esetén a proximalis és distalis anastomosist az érrel párhuzamosan vágtuk félbe (33. ábra, C). Egy-egy metszési síkot létrehoztunk a proximalis anastomosistól 2 mm-re proximalisan és a distalis anastomosistól 2 mm-re distalisan (33. ábra: C).

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



33. ábra

Szöveti metszési síkok (piros vonalak)

A: arterio-venosus fistula 3D képe, bal oldali nyíl: arterio-venosus anastomosis, jobb oldali nyíl: a SIEV beszájadása a vena femoralisba; B: a „loop” 3D képe, nyíl: distalis anastomosis, C: a „loop” 3D-s képe 90°-ban elforgatva, felső nyíl: distalis anastomosis, alsó nyíl: proximalis anastomosis

3.2.6. Vértvételi 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 K₃-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 cava-ból is, hogy elemezzük a keveredett (arterio-venosus) vér összetételét.

3.2.7. 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 rövidítéseit 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 [$10^9/L$]).

3.2.8. 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 (34. ábra, A) (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 befecskendeztük a vérmintát (34. ábra, C).



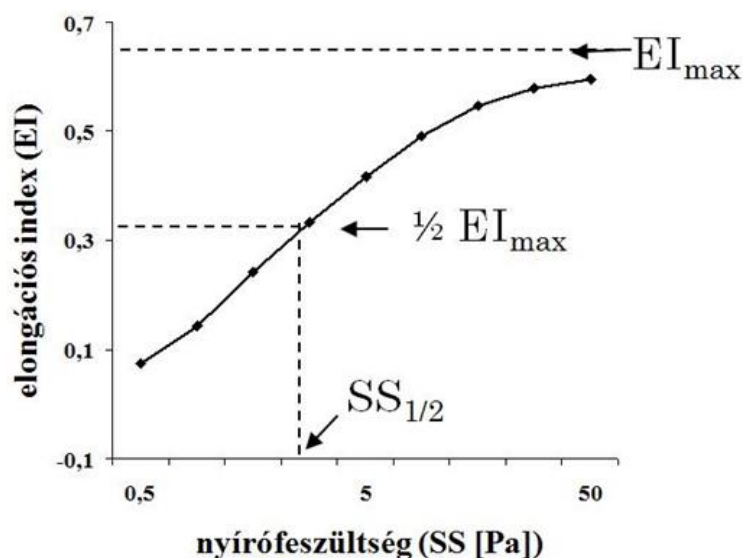
34. ábra
Vérgáz/Elektrolit analízis

A: EPOC[®] Vérgáz Analizátor rendszer (Siemens Healthineers[®], Erlangen, Németország);
B: az EPOC kártya behelyezése; C: 90 µl vér beinjektálása

3.2.9. Haemorheológiai mérések: vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio

LoRRca MaxSis Omoscan 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 üvegcsésze közötti hézagba fecskendeztük a mintát, melyet a gép a lézerrel átvilágítva 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.²⁰² Ahogy a mintán az átvilágító lézer nyaláb 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.²⁰³ Az EI értékek arányosak a vörösvérsejtek deformabilitásával. A Lineweaver-Burke analízis használatával kiszámítható a maximális elongációs index (EI_{max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ($\text{SS}_{1/2}$ [Pa]), és ezek hányadosa ($\text{EI}_{\text{max}}/\text{SS}_{1/2}$) (35. ábra).



35. ábra
Lineweaver-Burke analízis

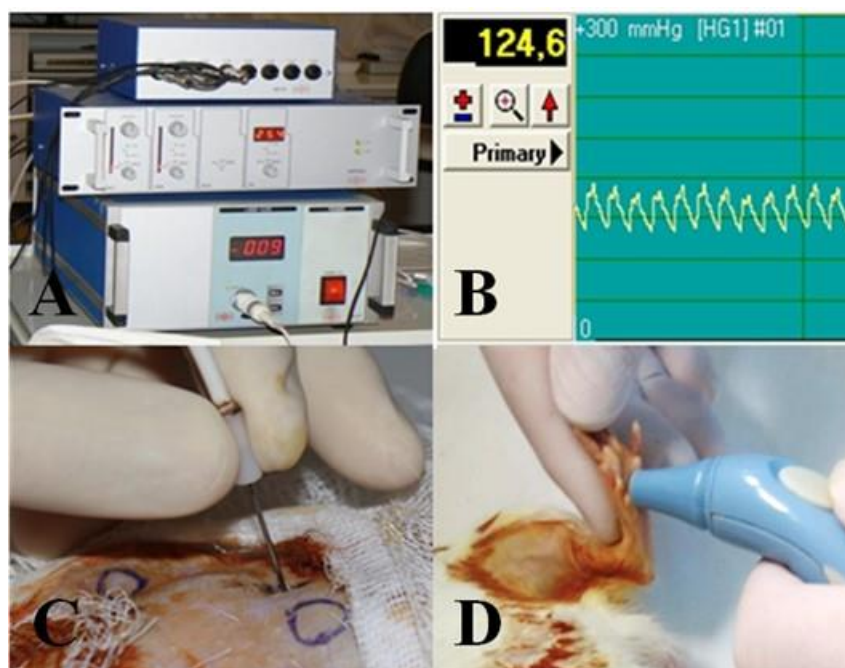
$EI_{\max}$: maximális elongációs index; $SS_{1/2}$: az $EI_{\max}$ feléhez tartozó nyírófeszültség érték

A vörösvérsejtek aggregációját Myrenne MA-1 aggregométerrel vizsgáltuk (Myrenne GmbH, Németország). A műszer fény-transzmissziós elven működik.²⁰³ 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 áthaladó fény intenzitását. A vizsgálathoz 20 μ l anticoagulált vért fecskendeztünk be mérésenként. A mérést elvégezhetjük az aggregációs folyamat 5. illetve 10. másodpercében 0 s^{-1} sebesség-gradiens (M5 sec, M10 sec index paraméterek), vagy 3 s^{-1} sebesség-gradiens mellett (M1 5 sec, M1 10 sec index paraméterek).²⁰³

3.2.10. 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 (36. ábra, A) (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 (36. ábra, A) (LD-01 Laser Dopple flowmeter, Experimetria Kft.). A műszerhez laser Doppler mérőfejet használtunk mely 1 mm³ szövet mikrokeringését képes vizsgálni (NP-100 Standard Pencil Probe, Oxford Optronix Ltd., UK). A gép 780±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).



36. ábra

Invazív vérnyomás, Laser Doppler, Talphőmérséklet mérése

- A: Haemosys rendszer és az LD-01 Laser Doppler szöveti áramlásmérő egysége;
 B: a készülék által rögzített vérnyomás görbe; C: a hasbőr mikrokeringésének mérése;
 D: a talp felszíni hőmérsékletének mérése

A mérési pontok mindkét oldalon a kettes lábujj alatti talp párna, a comb belső oldala és a ligamentum inguinale feletti hasfali bőrterületek voltak (36. ábra, C). 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.²⁰⁴ 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 vizsgálataként. A vizsgálatokat a PO5 héten végeztük, ehhez egy infravörös felületi hőmérőt (Braun IRT 6030 Thermoscan, Braun® Kronberg, Németország) használtunk (36. ábra, D).

3.3. Adatgyűjtési és tárolási módszerek

A kutatás során minden biomodellről és állatról dokumentációt rögzítettünk (műtéti jegyzőkönyv, altatási lap, gondozási jegyzőkönyv). A laboratóriumi mérésekről folyamatos jegyzőkönyvet vezettünk. Ezeket és a mérési eredményeket digitalizáltuk és a Sebészeti Műtéttani Tanszéken külső merevlemezeken eltároltunk. A kép és videó anyagot ugyanilyen módon kezeltük. A kép és videó felvételeket Canon Eos 1100 D fényképezőgép segítségével készítettük.

3.4. 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.

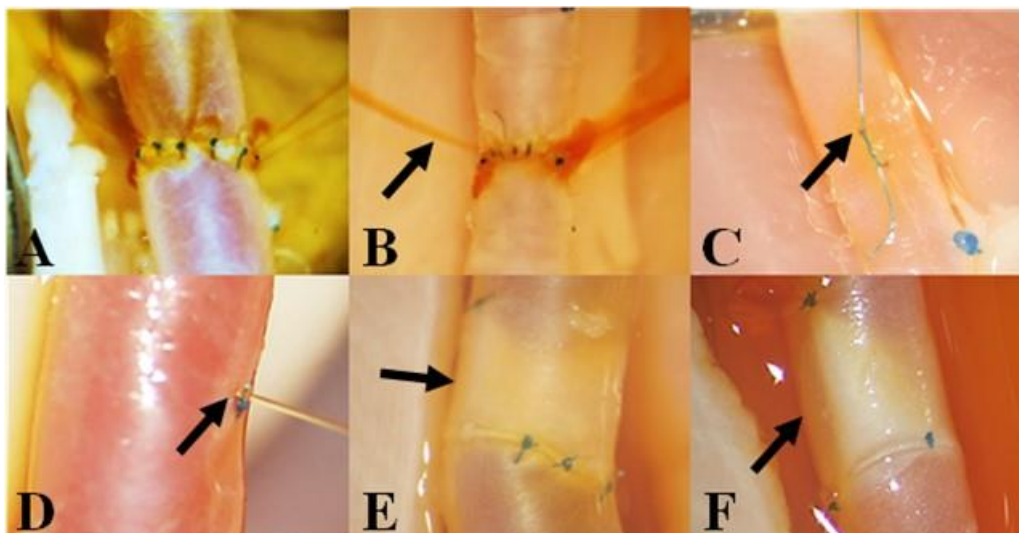
A mért adatokon minden esetben normalitás vizsgálatot végeztünk és ennek megfelelően t-próbát, kétirányú ANOVA tesztet, Wilcoxon vagy Mann-Whitney tesztet végeztünk. Az adatok korrelációjának vizsgálatához a Pearson-féle korrelációs koefficiens (r) számoltuk ki.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Művi ér-anastomosisok biomechanikai vizsgálatai

4.1.1. Műtétechnikai 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 szűr csatornákból származott: onnan, ahol a tű áthatolt az erek falán (37. ábra, A, B). Az esetek többségében az első szűr csatornából szivárgott fokozotabban, ez az amelyiket kintről befele a lumen felé öltöttük (37. ábra, C, D). A szivárgás kifejezettebb volt a saroköltéseknél, mivel ezeket az öltéseket a varrat készítése során tartóöltéseként használtuk, így nagyobb vongáló hatás érte őket a többi öltéshez képest. A tova futó varratok esetén ezeket az öltéseket jobban igénybe vettük, hiszen több csomós öltés nem készült, így ezek az öltések erősebben szivárogtak az egyszerű csomós varrat tartóöltéseihez képest (37. ábra, B).



37. ábra

Műtétechnikai megfigyelések

- A: az egyszerű csomós varrat öltéseiből származó szivárgás; B: a tova futó varrat öltéseiből származó szivárgás, nyíl: tartóöltés helye; C: az érfalba helyezett öltés megcsomózás előtt, nyíl: az első szűr csatorna; D: megcsomózott öltés nyomás alatt, nyíl: szivárgó folyadék az első szűr csatornából; E: „sleeve” anastomosis nyomás alatt, nyíl: az összefekő külső és belső érfal; F: hibás „sleeve” anastomosis nyomás alatt, nyíl: a nyomásra kialakuló rés a külső és a belső érfal között. Nagyítás: 16x, 25x

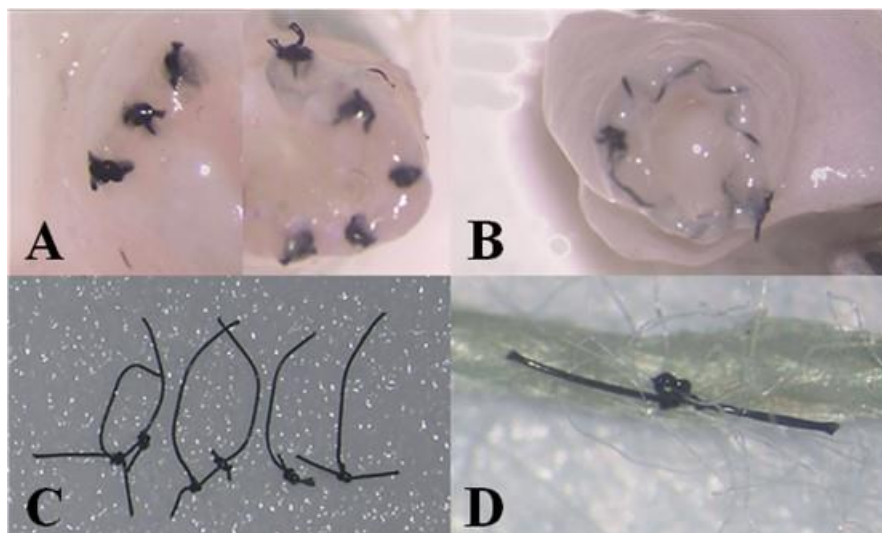
Erek torzulása: Míg az egyszerű csomós varratok esetén szűkületet nem figyeltünk meg, addig a tova futó varratok készítése során feltűnő volt, hogy a tova futó varrattal igen könnyen beszűkíthető az ér lumene (37. ábra, B). Ha az öltések során túlfeszítjük a fonalat, az egész varratsor szorosabbra húzódik. 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. Tehát bizonyos esetekben a szivárgás hiányakor hamisan feltételezhetünk sikeres, a

várnál kielégítőbb anastomosist, hiszen a varrat alaposabb megvizsgálásakor az ér kedvezőtlen torzulását vehetjük észre.

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.³⁵ A mi kutatásunkban 3 mm-es ereket alkalmaztunk, tehát közel 5 mm-t kell egymásba csúsztatni. Ennyi szabad érhossz ritkán áll rendelkezésre. Fontos megemlíteni továbbá, hogy az ér esetén nem a nyugalmi átmérőt kell figyelembe venni, hanem a nyomás alatt álló ér átmérője a lényeges. Hiszen nyomás alatt az ér longitudinálisan és circumferenciálisan is megnagyobbodik. A rögzítő öltéseket, melyeket a distalis érvégbe és a proximalis érvég adventitiájába helyeztünk 6 és 12 óránál, különös odafigyeléssel kellett behelyezni. Nem volt elég a distalis érvéget egyszerűen a proximalis ér falához hozzáölni, mert így nem húztuk rá a proximalis érre kellően a distalis eret. Ezáltal az egymásba csúsztatott érfalak nem feküdtek össze és ez jelentős szivárgást okozott (37. ábra, E, F). Ezt úgy tudtuk elkerülni, hogy amikor a distalis ér végébe beöltöttünk, akkor a proximalis ér adventitiájába 1-2 mm-el proximalisabban öltöttünk, hogy a külső érfalat jobban ráhúzza a belső érre.

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 (38. ábra, A). A tova futó varrat esetén pedig jellegzetesen gyűrűszerű szakadást találtunk a varratsor mentén (38. ábra, B).

Fonalak szakadása: A szakirodalomban is ismert tény, hogy egy fonal leggyengébb pontja a csomó.²⁰⁵ Ez a mi kísérleteinkben sem volt másként, a sértetlen fonal ugyanis mindig a csomó mellett szakadt el (38. ábra, C). A csipesszel meggyengített fonal pedig minden alkalommal a lapított szakasznál szakadt el (38. ábra, D).



38. ábra

Szakítással kapcsolatos technikai megfigyelések

A: szabálytalanul elszakadt egyszerű csomós anastomosis; B: gyűrűszerűen elszakadt tova futó varrat; C: egy öltésnek megfelelő elszakított fonal hurkok; D: a lapított szakasznál elszakadt fonal hurok. Nagyítás: 16x, 25x

4.1.2. Kiemelt esetek

Egyes anastomosisok jelentős eltérést mutattak az átlagos anastomosisokhoz képest. Néhány ilyen esetet szeretnék bemutatni.

A szívgágás tekintetében talákoztunk olyan tova futó varrattal, amely gyakorlatilag nem mutatott szívgágást. Ez a túlfeszítés miatt történt, így az anastomosis jelentős szűkületet okozott az éren. Ezáltal a gyakorlatban súlyos szövődményeket okozhatna. Ami szívgágás volt, az is csak a tartóöltésekből származott, a korábban említett fokozott vongálásból adódóan.

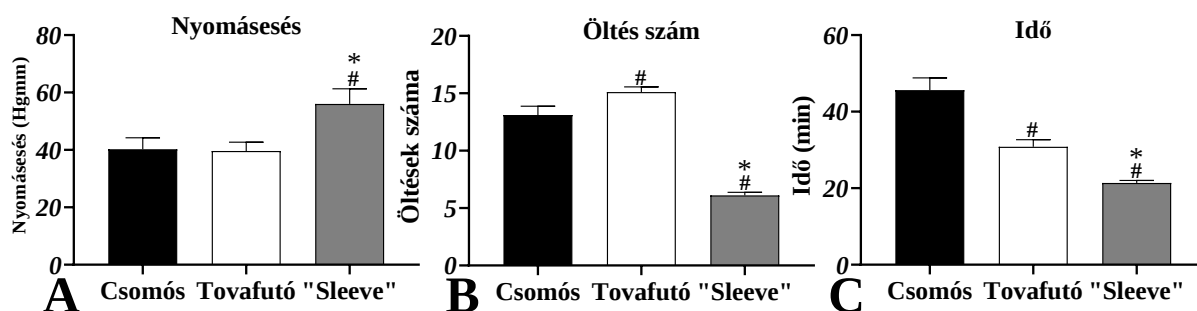
Olyan „sleeve” anastomosis is megvizsgálásra kerül, amely szintén nem szívgágott. Itt fontos megemlíteni, hogy ezt extra rögzítő öltések behelyezése után sikerült csak elérni. Nyomás alá helyezve derült csak ki, hogy az ér egyenes lefutása megváltozott és az anastomosis területén az ér megtört. Hosszútávon ez szintén előidézhetheti a szövődmények megjelenését.

A szakítószilárdság mérése során egyes erek értéke többszöröse volt az átlagéhoz képest. Először a varrattechnikában kerestük az eltérés forrását. A biomodellek megvizsgálását követően azonban kiderült, hogy egyes egyedekből származó preparátumok kötőszövetesebbek voltak, ezáltal az erek körüli kötőszövet és adventitia is kifejezettebb volt.

Egy mérési sorozat alkalmával feltűnt, hogy a kapott szakítási eredmények konzekvensen az átlag alattiak voltak. Egyértelmű okot eleinte nem találtunk, majd a következő sorozat kapcsán újra a korábbiaknak megfelelő magasabb szakítási eredményeket mértük. Annak ellenére, hogy mindig friss biopreparátumokat szereztünk be, mégis előfordulhatott, hogy több napos csirkecomb is eladásra került (pl. hétvége vagy nemzeti ünnep miatt). Ez a többletidő meg is mutatkozott a szövetek integritásának csökkenésében.

4.1.3. 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 (I. táblázat). 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) (I. táblázat és 39. ábra, A). 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 (I. táblázat és 39. ábra, B). Az öltésszám az egyszerű csomós csoportban $13,1 \pm 2,4$, a tova futó csoportban pedig $15,1 \pm 1,4$ volt (39. ábra, B). Összhangban az öltésszámmal, a „sleeve” technika bizonyult a leggyorsabbnak (39. ábra, C).



39. ábra

Nyomásésés, öltésszám és idő

A: 5 perces nyomásésés adatai; B: elkészítéshez szükséges öltés szám; C: elkészítéshez szükséges idő
n=10; átlag $\pm$ SEM; # $p<0,05$ vs. csomós; * $p<0,05$ vs. tova futó

Annak ellenére, hogy a tova futó varrat során több öltés került behelyezésre, mégis szignifikánsan gyorsabban elkészíthető volt az egyszerű csomós varrathoz képest (I. táblázat).

I. táblázat: Érátmérő, nyomásésés, öltésszám és az anastomosisok elkészítéséhez szükséges idő adatok

		Érátmérő				Nyomásésés			
		Átlag	$\pm$ SD	p-érték	Vs.	Átlag	$\pm$ SD	p-érték	Vs.
A	Csomós	3.25	0.35	0.0508	B	40.2	13	0.9078	B
B	Tovafutó	2.95	0.28	0.2675	C	39.6	9.9	0.0155	C
C	"Sleeve"	3.15	0.47	0.5995	A	56	17	0.0289	A

		Öltésszám				Szükséges idő			
		Átlag	$\pm$ SD	p-érték	Vs.	Átlag	$\pm$ SD	p-érték	Vs.
A	Csomós	13.1	2.4	0.0380	B	45.6	10	0.0009	B
B	Tovafutó	15.1	1.4	<0.0001	C	30.8	5.9	0.0001	C
C	"Sleeve"	6.1	0.9	<0.0001	A	21.4	1.9	<0.0001	A

Korreláció analízist végeztünk az öltésszámok és a nyomásesés összefüggésének megvizsgálásához. Egyik csoportban sem volt érdemi korreláció a két vizsgált paraméter között. A csoportokat összehasonlítva sem találtunk szignifikáns eltérést (II. táblázat). A fotó- és videóanyagokat megvizsgálva jól látható volt, hogy a szivárgás jelentős része az esetek nagy részében egy-egy meghatározott lokalizációból származott. Ezek a szivárgás-mintázatok esetenként egyediek voltak, és nem módszerspecifikusak.

II. táblázat: Az öltés számok és nyomásesés, valamint az érintetlen ér és az azon készült anastomosis szakítószilárdságának korrelációi

	Öltésszám vs. Nyomásesés			Intakt ér szakítószilárdság vs. Anastomosis szakítószilárdság		
	Csomós	Tovafutó	“Sleeve”	12 öltéses Csomós	12 öltéses Tovafutó	8 öltéses Tovafutó
P-érték	0.2955	0.3168	0.3130	0.0211	0.8314	0.1851
R-érték	0.3679	0.3532	0.3558	0.7111	0.07753	0.4562
Korreláció	közepes	közepes	közepes	magas	alacsony	közepes

4.1.4. Szakítószilárdság

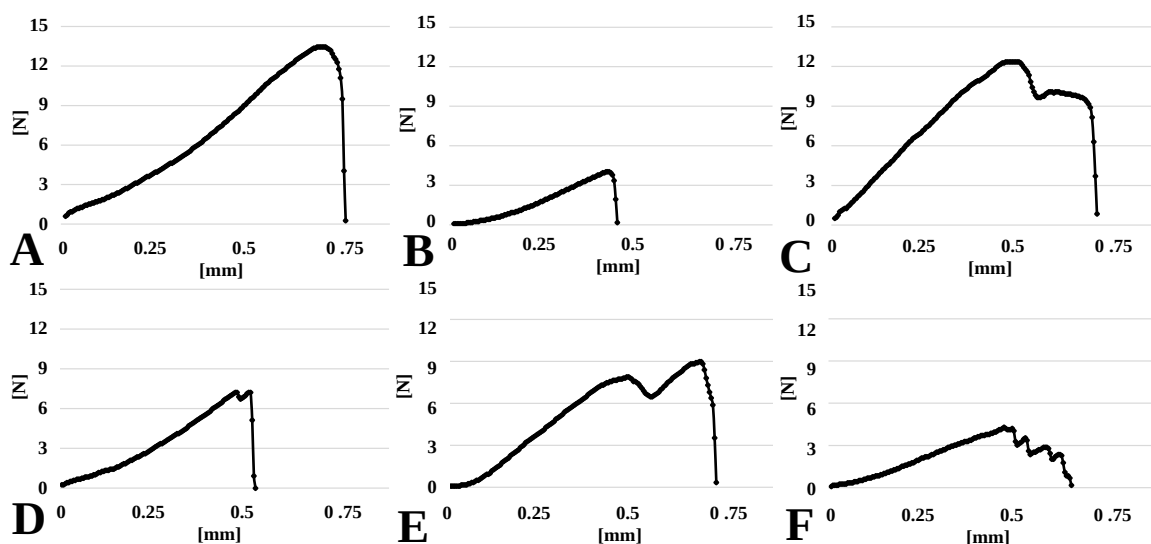
A szakítószilárdság mérések során erő-nyúlás görbéket elemeztünk (40. ábra, A-F). Megfigyeltük, hogy jellegzetes mintázatok mutatkoztak a mérések során. Számos értékes információ derült ki a görbékből az anastomosisok elkészítése közben vétett hibákról. Az ér helytelen rögzítése is megfigyelhető volt, mert ilyen esetben a rögzítő fonál megcsúszott az éren és lenyúzta az adventitiát, ezáltal egy plato-szerű szakaszt létrehozva a görbében (40. ábra, C). 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 (40. ábra, D).

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 hátulsó fali varratsor nem egyszerre, hanem két lépcsőben szakadt el (40. ábra, E). Lépcsőzetes mintázat volt megfigyelhető, ha az öltéseket szabálytalanul, egyenetlen távolságokra öltöttük be, ekkor az anastomosis öltésenként szakadt el (40. ábra, F).

Az erek szakítószilárdsága jelentősen csökkent az éregyesítések hatására (41. ábra, A). 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, $p=0,003$) (41. ábra, A). A 12 öltéses csomós és tova futó varratok a fonalmodellen jóval erősebbnek bizonyultak, mint az intakt erek.

Ezzel ellentétben a 8 öltéses csomós varrat nem mutatott érdemi különbséget a fonalmodell és az intakt ér között (41. ábra, A). Minden anastomosist megvizsgáltunk a szakítás után és azt

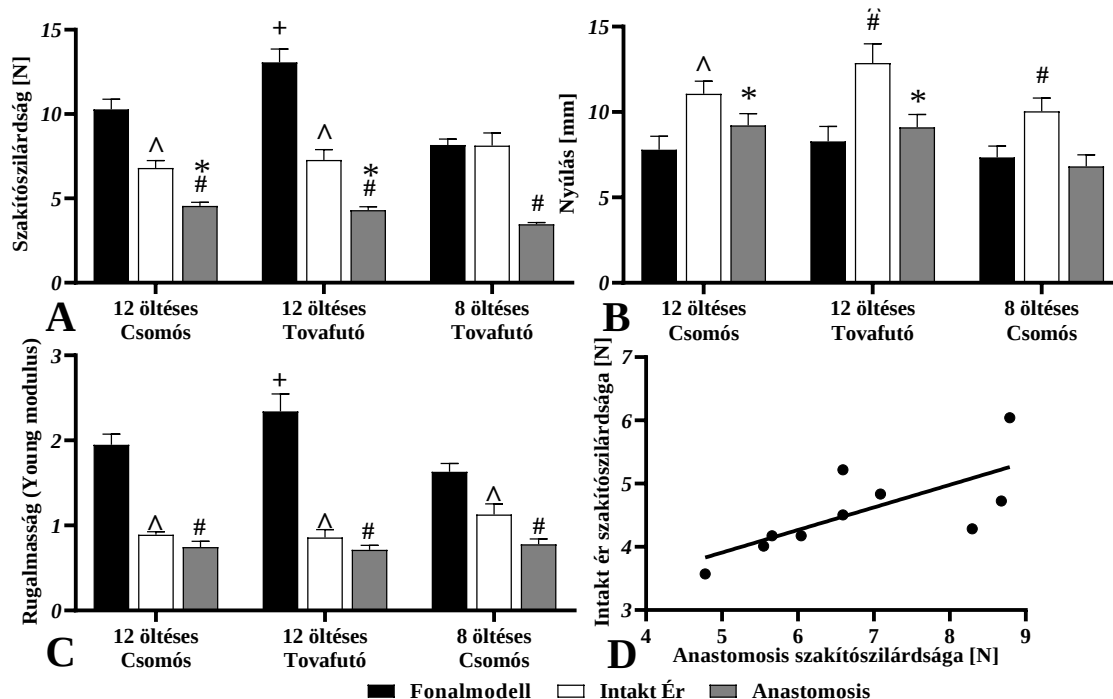
találtuk, hogy a 8 öltéses csomós csoportban nem csak az ér szövete hanem az öltések is elszakadtak. Ez azt sugallja, hogy egy közel 3 milliméteres éren ennyi öltés nem elég, mivel az ér helyett az öltések bizonyultak a gyengébb pontnak.



40. ábra

Válogatott erő-nyúlás görbék

A: intakt ér; B: 8 öltéses csomós varrat; C: helytelen rögzítés által okozott platós szakasz; D: túl mélyen behelyezett csomós öltés; E: két lépcsőben elszakadó tova futó anastomosis a sérült fonal vagy csomó következtében; F: lépcsőzetesen elszakadó csomós varrat egyenetlenül behelyezett öltések miatt



41. ábra

Anastomosisok biomechanikai vizsgálata

A minták szakítószilárdsága (A), nyúlása (B): a minták nyúlása és Young-modulusa (C);

D: 12 öltéses end-to-end anastomosis;

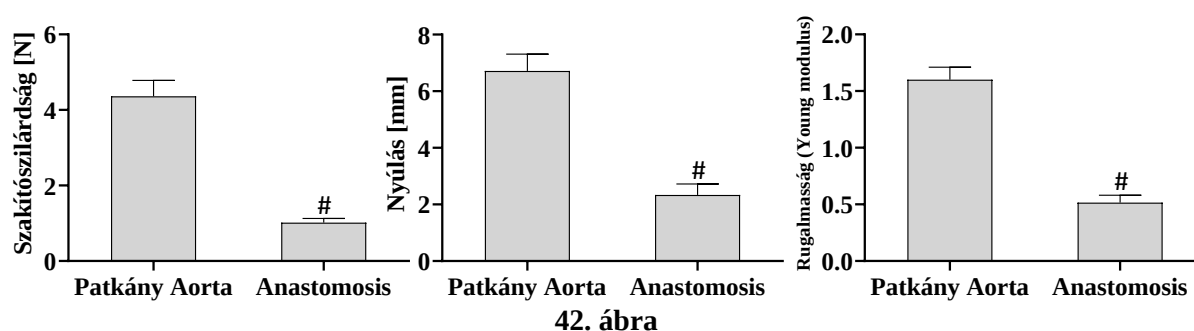
n=10; átlag±SEM; p<0,05 # vs. fonalmodell és intakt ér csoporton belül, * vs. 8 öltéses anastomosis csoport, + vs. 8 öltéses fonalmodellen, ^ vs. fonalmodell csoporton belül

A legkevesbé megnyúló anastomosis a 8 öltéses csomós varrat volt ($6,82 \pm 2,02$ mm) (41. ábra, B). Az intakt erek szignifikánsan nagyobb nyúlást mutattak az anastomosisokhoz képest. A fonalmoddellen a 8 öltéses csomós csoportot leszámítva kevesebb megnyúlást mutatott 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 (41. ábra, B).

A rugalmasságot az erő és nyúlás hányadosaként (Young-modulus) adtuk meg, melyet a szakítási erő/nyúlás görbéken az arányossági határig tartó szakaszon határoztunk meg (10. ábra, A-pont). Minél magasabb az érték, annál kevesebb alakváltozás következik be egységnyi erő hatására, tehát rigidebb a vizsgált minta. Így az alacsonyabb értékek mutatják meg a rugalmasabb anyagokat. Az intakt ért esetében a rugalmasságot szignifikánsan csökkentette az anastomosis jelenléte az összes csoportban. Mindegyik anastomosis típus az eret rugalmasabbá tette (41. ábra, C). A fonalmoddell jóval magasabb értékeket mutatott a többi csoporthoz képest, ezzel is mutatva, hogy az öltések önmagukban jóval rigidebbek az erekhez képest.

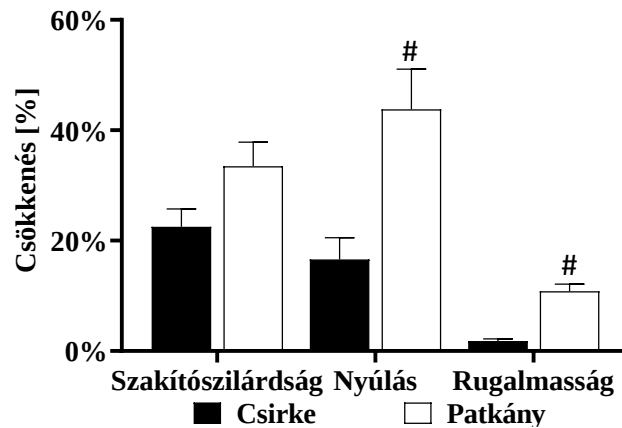
Az intakt erek és az azokon készült anastomosisok szakítószilárdságát megvizsgálva azt figyeltük meg, hogy egyedül a 12 öltéses csomós varrat esetén volt erős a korreláció. Ez azt sugallja, hogy ez a varratípus őrzi meg leginkább az ér eredeti szakítószilárdságát (41. ábra, D; II. táblázat).

A patkány aorta hasonló módon viselkedett, mint a csirke biomoddell femoralis artéria (42. ábra, A, B, C). 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; $p < 0,0001$).



42. ábra
Patkány aorta abdominalis varratok anastomosisok biomechanikai értékei
 A vizsgált anastomosisok szakítószilárdsága (A), megnyúlása (B) és Young-modulusa (C)
 n=10; átlag±S.D.; # $p < 0,05$ vs. aorta

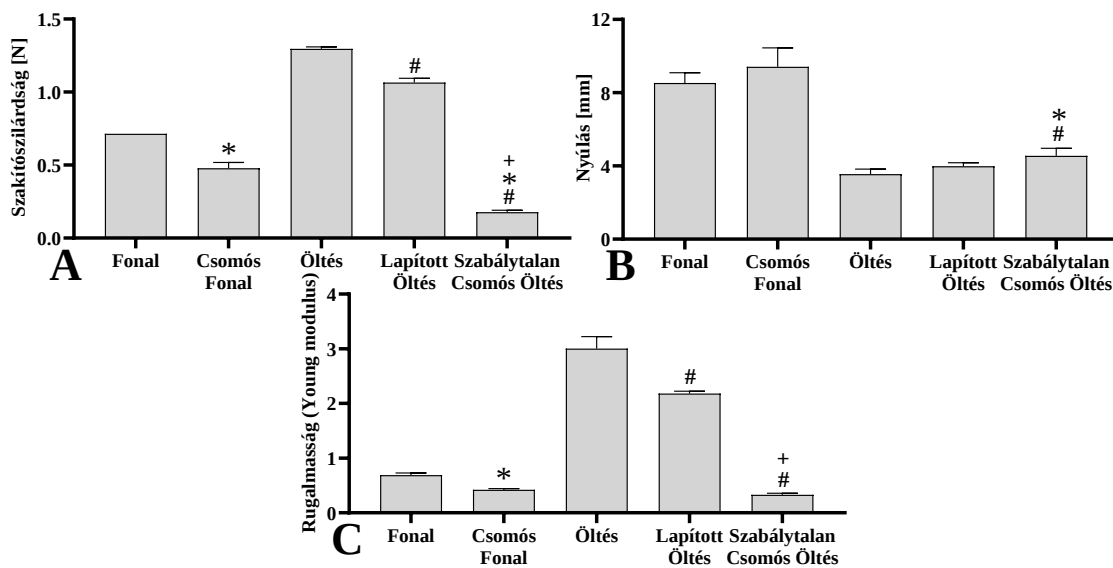
A fő különbség abban nyilvánult meg, hogy az anastomosis által okozott szakítószilárdság-változód, valamint a megnyúlás és rugalmasság csökkenés jelentősebb volt a patkány ereken (43. ábra). Ezek közül a megnyúlás és a rugalmasság szignifikánsan nagyobb mértékben csökkent a patkányban a csirke erekhez képest (43. ábra).



43. ábra

Az anastomosisok által okozott szakítószilárdság, megnyúlás és rugalmasság csökkenés
n=10; átlag±S.D.; # p<0,05 vs. csirkeér

Amikor magát a fonalat vizsgáltuk, az eredmények gyakorlatilag nem mutattak szórást, a 10/0 polyamid fonal $0,71 \pm 0$ N erőnél szakadt el (44. ábra, A és III. táblázat). Ez is mutatja, hogy a fonalak milyen pontosan lettek gyártva, s hogy a mérőműszerünk precíz. A csomó átlagosan 0,23 N-nal csökkentette a fonat 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 (44. ábra, A). A csomó nem változtatta meg érdemlegesen a fonat megnyúló képességét, s ugyanezt tapasztaltuk a lapított szakasz vizsgálatánál is (44. ábra, B). 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 fonat szintén szignifikáns hatást fejtett ki (öltés vs. lapított öltés; $3,00 \pm 0,49$ vs. $2,1 \pm 0,10$; $p=0,0317$) (44. ábra, C).



44. ábra

A fonalmodell biomechanikai eredményei

Szakítószilárdság (A), megnyúlás (B) és Young-modulus (C)
n=10; átlag±S.D.; p<0,05: # vs. fonal, * vs. öltés; + vs. lapított öltés

A legalacsonyabb szakítószilárdság és rugalmasság értékeket a szabálytalanul megcsomózott öltések mutatták (44. ábra, A, B). 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, $p=0,0007$) (III. táblázat). Azért voltak ilyen alacsonyak a szakítószilárdság értékek, mert nem a fonal szakadt el a húzás hatására, hanem a csomók bomlottak ki.

III. táblázat: A varróanyag fonalakon végzett mérések adatai

Szakítószilárdság					Nyúlás				Rugalmasság				
		Átlag	±SD	p-érték	Vs.	Átlag	±SD	p-érték	Vs.	Átlag	±SD	p-érték	Vs.
A	Fonal	0.71	0	<0.0001	B	8.53	1.48	0.8797	B	0.69	0.11	0.0006	B
B	Csomós Fonal	0.47	0.10	0.0025	D	9.41	2.74	0.0025	D	0.42	0.06	0.0013	D
C	Öltés	1.3	0.03	0.0005	A	3.56	0.60	0.0025	A	3.00	0.49	0.0025	A
D	Lapított Öltés	1.07	0.06	0.0079	C	3.98	0.43	0.1825	C	2.18	0.10	0.0317	C
E	Szabálytalan Csomós Öltés	0.18	0.04	<0.0001	C	4.55	1.29	0.0300	C	0.33	0.09	0.0007	C

4.2. Hurok alakú véna graft és az arterio-venosus fistula

4.2.1. Általános megfigyelések

Az állatokat kétnaponta ellenőriztük és a ketrecből kiemelve, fizikálisan megvizsgáltuk a műtéti 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 érelzáródást, egyet a „loop” és egyet a fistula csoportban. Ezeket az állatokat kizártuk a kutatásból és pótoltuk őket.

A képalkotó vizsgálatok eredménye mellett az érelzáródásnak fiziológiás jelei is észlelhetők voltak. A hátsó végtag sorvadása, valamint a digitalis végperceken és a talppárnákon megjelenő vég necrosis volt megfigyelhető (45. ábra).

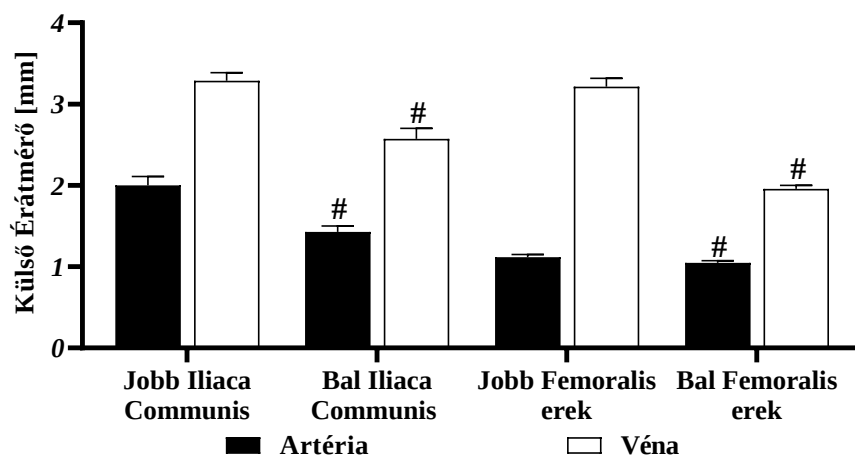


45. ábra
Érelzáródás következtében kialakuló végtagi necrosis

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.

4.2.2. Makroszkópos morfológiai vizsgálatok

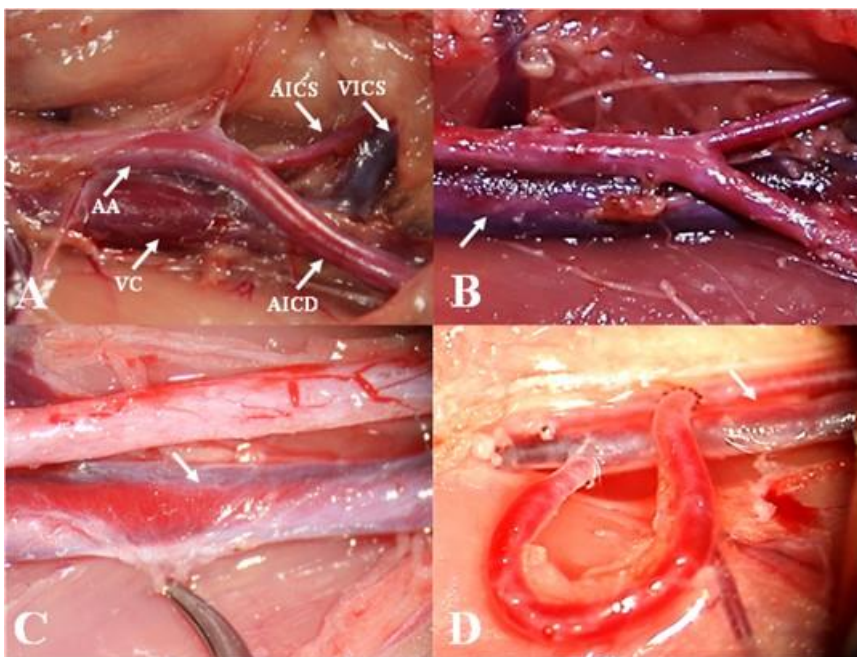
A nagyhasi erek külső átmérője rögzítése során megfigyeltük, hogy az operált végtaghoz futó arteria ilica communis szignifikánsan vastagabb volt az ellenoldalihoz képest ($1,46 \pm 0,1$ mm vs. $2,00 \pm 0,29$ mm, $p=0,0041$) (46. ábra). A fistula csoportban az operált oldalon az arteria és vena femoralis szintén jelentősen megvastagodtak az ellenoldali párjaikhoz képest (46. ábra). Ilyen eltéréseket a „loop” csoportban nem találtunk.



46. ábra

A jobb és bal oldali a. és v. iliaca communis, valamint a. és v. femoralis külső átmérői
 $n=10$; átlag $\pm$ SEM; # $p<0,05$ vs. jobb oldali ér

Az iliacalis artériákon az átmérő különbség szemmel is jól látható volt az oldalak között a fistula csoportban (47. ábra, A). Emellett jól látható volt a vena iliaca communis és a vena cava caudalis közötti színkülönbség. Ennek alaposabb kivizsgálása során megfigyeltük, hogy a vena cava caudalis nem homogénen pirosabb, hanem egy vonalban áttetsző módon, az artériás vérből származó áramvonalak mentén (47. ábra, B). Visszakövettük az éren a vékony vonalat és kiderült, hogy a fistula szájadékból származik (47. ábra, C, D). Tehát a vér szinte azonnal laminárisra változott az SIEV beszájadzásától és a két vér sokáig szinte alig keveredett. Ebből a vérből mintát is vettünk, melynek részleteit a *vérgáz analízis* fejezetben részletezzük.

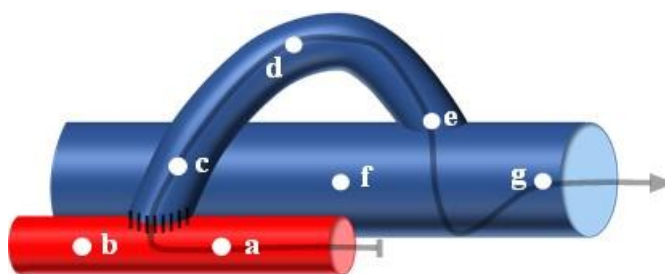


47. ábra

Az 5. posztoperatív héten elvégzett exploratív laparotómia során kipreparált nagy hasi és végtagi erek

A: kipreparált hasi erek, AA: aorta abdominalis, AICD: a. iliaca communis dextra
AICS: a. iliaca communis sinistra, VC: vena cava caudalis, VICS: v. iliaca communis sinistra;
B: a vena cava caudalis-ban látható artériás vérsáv (nyíl), C: v. iliaca externa – v. femoralis átmenet területén látható artériás vérsáv (nyíl); D: a v. femoralisban látható artériás vérsáv (nyíl)

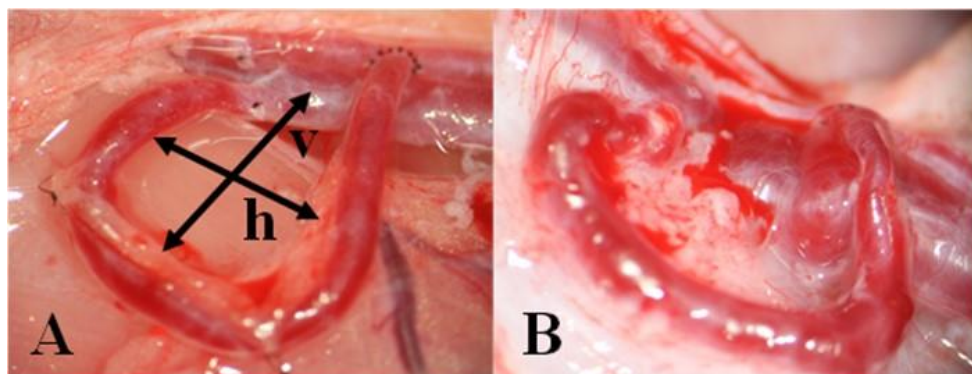
A fistula csoportban az ereken mért külső átmérők mindegyike szignifikánsan megvastagodott az ábrán jelzett pontokban (48. ábra) (IV. táblázat). A SIEV az arterio-venosus anastomosistól számítva a SIEV és a femoralis véna beszájadásáig jelentősen megvastagodott (proximalis szakasz (c) vs. distalis szakasz (e): $1,40 \pm 0,22$ 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. A kettő hányadosa így szintén megváltozott (IV. táblázat), ezzel is mutatva, hogy a fistula nem csak egyszerűen megnagyobbodott, hanem az eredeti íve is gömbölydedebb lett. (49. ábra, A, B). Emellett a graft hossz is szignifikánsan megnövekedett az 5 hét érés következtében (IV. táblázat).



48. ábra

A fistula sematikus megjelenítése és az elvégzett külső érátmérő mérések helyei

A lokalizációk pontos leírása a IV. táblázatban látható.



49. ábra

Friss és érett fistula, valamint az íve által bekerített terület átmérőinek mérése

A: friss fistula, v: vertikális átmérő, h: horizontális átmérő; **B:** fistula az 5. posztoperatív héten

A „loop” csoportban a fistula csoporttal ellentétben nem figyeltünk meg jelentős érátmérő növekedést a mért pontoknál (50. ábra, V. táblázat). 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 kettő aránya is változott, a kör alakú hurokból csepp szerű forma jött létre (51. ábra). A „loop” szárai által bezárt szög is csökkent (50. ábra, V. táblázat). 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, $p=0,0015$)

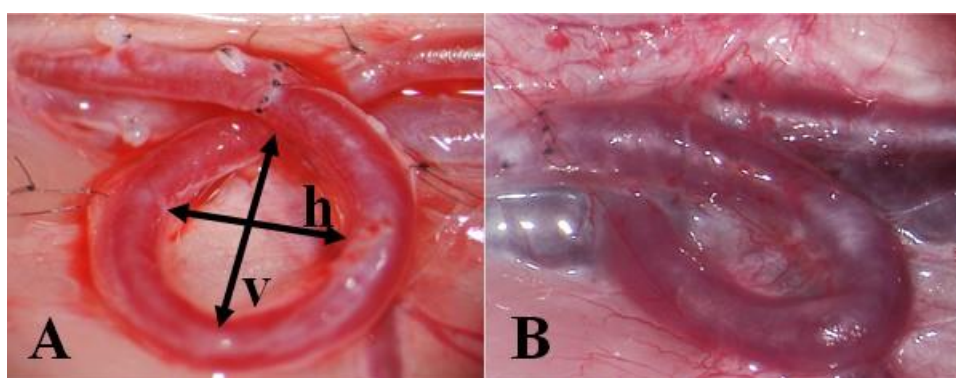
IV. táblázat: Fistulákon végzett morphologiai mérések adatai

Mérési pontok lokalizációja	Jelölés	Műtét előtti érátmérő			5. P.O heti érátmérő		
		(mm)			(mm)		
		Átlag	±SD		Átlag	±SD	p-érték
1 mm-l proximalisan az AV anastomosistól	a	1.05	0.08	Vs.	1.12	0.11	0.0268
1 mm-l distalisán az AV anastomosistól	b	0.98	0.08	Vs.	0.87	0.08	0.0077
1 mm-l distalisán az AV anastomosistól a fistulán	c	0.99	0.11	Vs.	1.40	0.22	<0.0001
A fistula közepe	d	1.25	0.25	Vs.	3.04	0.71	<0.0001
A SIEV és véna femoralis találkozása	e	1.12	0.25	Vs.	2.67	0.55	<0.0001
1 mm-l proximalisan a SIEV véna femoralis találkozásától	f	1.79	0.36	Vs.	2.62	0.51	0.0005
1 mm-l distalisán a SIEV véna feoralis találkozásától	g	1.77	0.38	Vs.	4.00	0.63	<0.0001
Horizontális átmérő (h)	-	4.52	0.70	Vs.	6.71	1.29	0.0002
Vertikális átmérő (v)	-	6.21	1.27	Vs.	6.41	2.28	0.8189
Átmérők hányadosa (H/V)	-	0.74	0.07	Vs.	1.16	0.42	0.0060
SIEV hossz	-	18.35	2.50	Vs.	25.08	3.21	<0.0001



50. ábra

A „loop” sematikus megjelenítése és az elvégzett külső érátmérő mérések helyei
A lokalizációk pontos leírása az V. táblázatban látható.



51. ábra

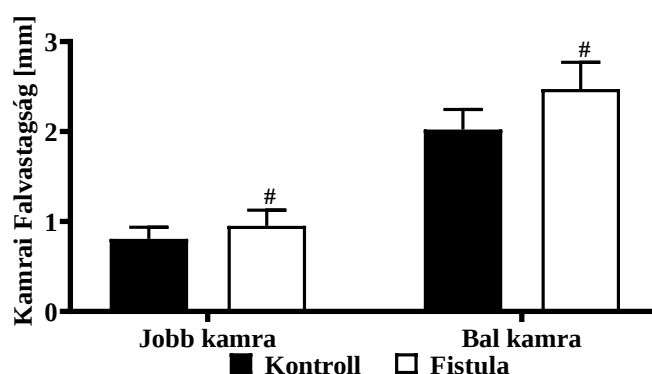
Friss és érett „loop”, valamint az íve által bekerített terület átmérőinek mérése
A: friss „loop”, v: vertikális átmérő, h: horizontális átmérő; B: „loop” az 5. posztoperatív héten

V. táblázat: A „loop” morfológiai mérések adatai

Mérési pontok lokalizációja	Jelölés	Műtét előtti érátmérő (mm)			5. P.O heti érátmérő (mm)			p-érték
		Átlag	±SD		Átlag	±SD		
1 mm-l proximalisan a proximalis anastomosistól	a	1.04	0.08	V.s	1.03	0.09		0.759
1 mm-l distalisan a proximalis anastomosistól	b	1.11	0.10	V.s	1.18	0.14		0.1825
A "loop" közepe	c	1.38	0.18	V.s	1.37	0.17		0.921
1 mm-l proximalisan a distalis anastomosistól	d	1.34	0.09	V.s	1.26	0.15		0.1663
1 mm-l distalisan a distali anastomosistól	e	1.09	0.08	V.s	1.19	0.09		0.0216
Horizontális átmérő	h	4.81	0.87	V.s	2.24	0.90		<0.0001
Vertikális átmérő	v	4.67	0.58	V.s	3.94	0.87		0.0402
Átmérők hányadosa (H/V)	-	1.03	0.09	V.s	0.56	0.15		<0.0001
Graft hossza	-	19.04	1.40	V.s	16.13	2.03		0.0015
Loop szárai által bezárt szög	o	122.02°	5.39°	V.s	71.80°	7.33°		<0.0001

4.2.3. Szöveti eredmények

A szisztémás vizsgálatok során makroszkópos eltérést nem találtunk az állatok szívében 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, $p=0,0046$) (52. ábra). 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.



52. ábra

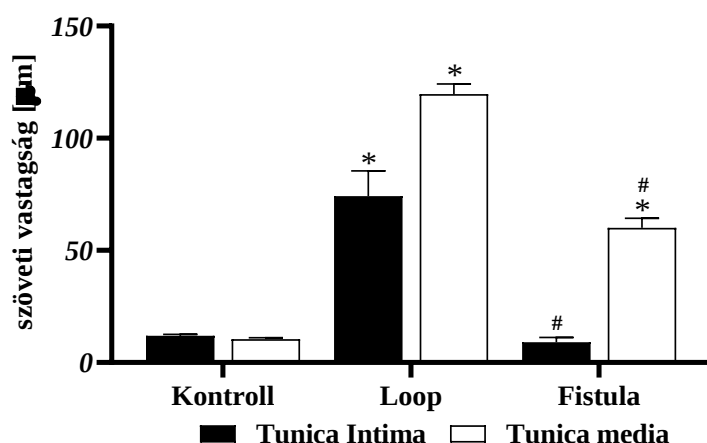
Szív bal- és jobbkamrai falvastagság a fistula csoportban

n=10; átlag $\pm$ SEM; # $p<0,05$ vs. kontroll (Áloperált)

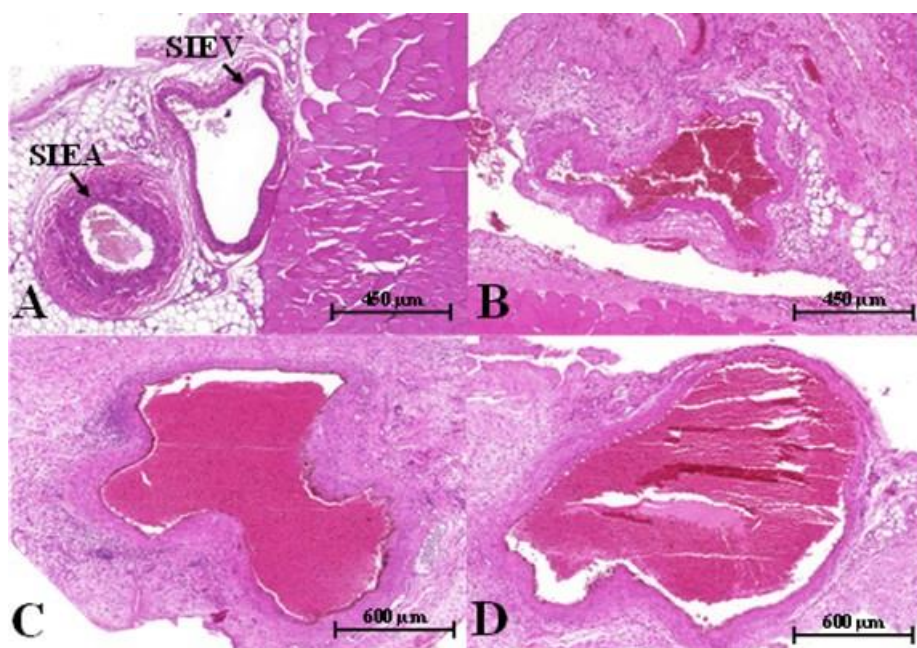
Az áloperált csoportban a szövettani metszeteken nem volt látható érdemi eltérés az utánkövetési időszak végén. Az erek körüli mérsékelt növekedett mennyiségű kötőszövetet a műtétet követő hegesezésnek tudtuk be. A tunica media mindkét műtött csoportban szignifikánsan megvastagodott az áloperált csoporthoz képest, de a tunica intima csak a „loop” csoportban vastagodott meg jelentősen (53. ábra).

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, $p=0,0079$) (54. ábra, A, D). Az anastomosis vénás ágát felosztottuk egy felső és egy alsó fali területre (55. ábra, A). 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 ($178,0 \pm 47,58$ μ m vs. $61,82 \pm 16,27$ μ m, $p<0,0001$) (63. ábra, A).

A fistula csoportban az arterio-venosus anastomosisztól distalisan az artériás ágban találtunk egy foltot tunica intima megvastagodással (55. ábra, B és 62. ábra, b-pont). Egy másik ilyen területet is találtunk az artériás falon az anastomosis nyílással szemben ott, ahol a vér elhagyja az artériát és belép a vénába (55. ábra, A és 62. ábra, c-pont). További IH képződést a SIEV és a vena femoralis találkozásának területén is találtunk. A folt a SIEV beszájadzásának területén keletkezett a vena femoralis falán ott, ahol a SIEV felől beáramlik a vér (55. ábra, C és 62. ábra, j-pont). A vizsgált vénás rendszerben máshol nem találtunk IH képződést.

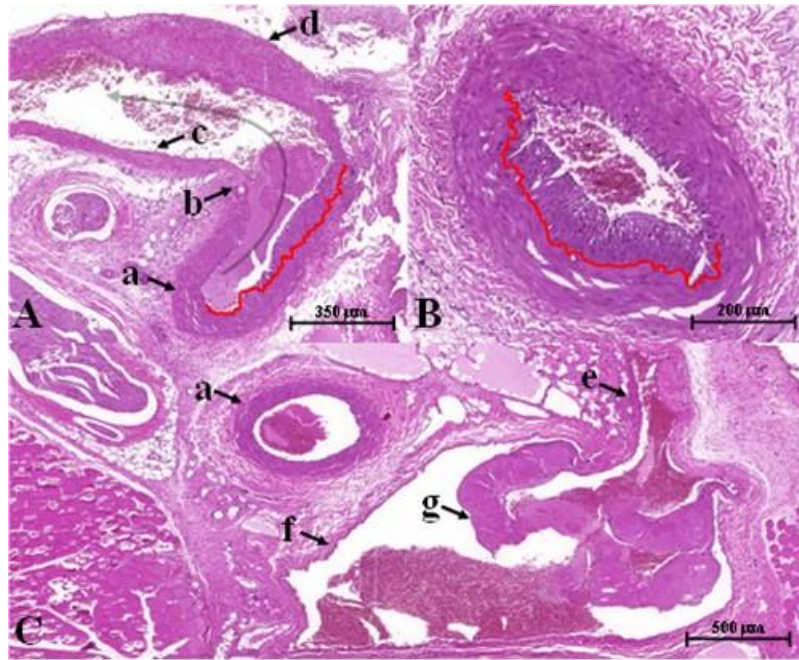


53. ábra
Tunica intima és tunica media rétegek változásai
 n=10, átlag ±SEM; p<0,05 # vs. Loop; * vs. Kontroll



54. ábra
Az érett AV fistula szövettani képe az 5. posztoperatív héten
 A: intakt SIEV és SIEA; B: a fistula proximális szakasza (48. ábra, c-pont);
 C: a fistula medialis szakasza (48. ábra, d-pont); D: a fistula distális szakasza (48. ábra, e-pont)
 Nagyítás: 30x, 60x

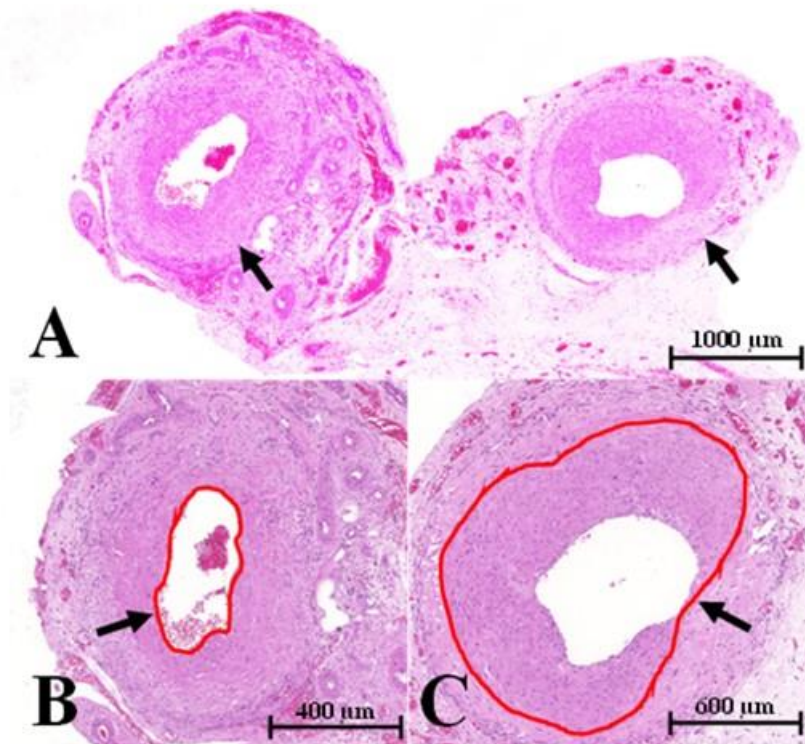
A „loop” csoportban a graft lefutása mentén érdemi belső átmérő különbség nem alakult ki az arterIALIZÁCIÓT követően. A graft teljes hosszában megközelítőleg egyenletes tunica media megvastagodást találtunk, nem volt érdemi eltérés a proximális és distális vég között (56. és 57. ábra). Ezzel szemben folyamatosan vastagodó tunica intima réteget találtunk a hurokban a proximális anastomosistól a distális anastomosisig. Ez a különbség szignifikáns mértékű volt a végpontok között (56. ábra, B, C, és 57. ábra).



55. ábra

Fistulában észlelt szövettani elváltozások

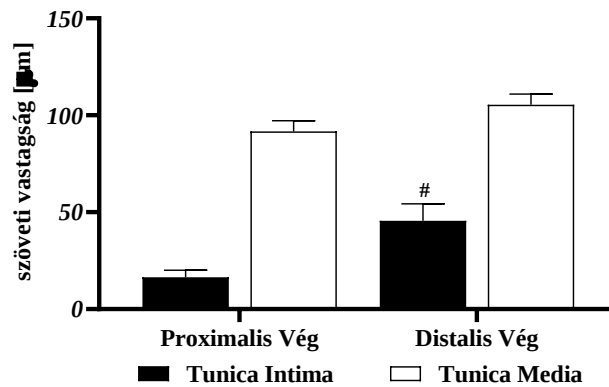
A: arterio-venosus anastomosis axiális metszete, a: a. femoralis, b: 10/0 öltés, c: SIEV alsó fala, d: SIEV felső fala, szürke nyíl: véráramlás iránya; piros vonal: membrana elastica interna; **B:** a. femoralis axialis metszete 1 mm-el distalisan az arterio-venosus anastomosisától, piros vonal: membrana elastica interna; **C:** SIEV és v. femoralis beszájadásának axiális metszete. Nagyítás: 30x, 60x



56. ábra

A hurok alakú véna graftban észlelt szövettani elváltozások

A: a „loop” axiális keresztmetszete, bal nyíl: proximális oldal, jobb nyíl distális oldal;
B: proximális „loop” szakasz axiális metszete, nyíl: külső ív;
C: distális „loop” szakasz axiális metszete, nyíl: külső ív. Nagyítás: 20x, 50x

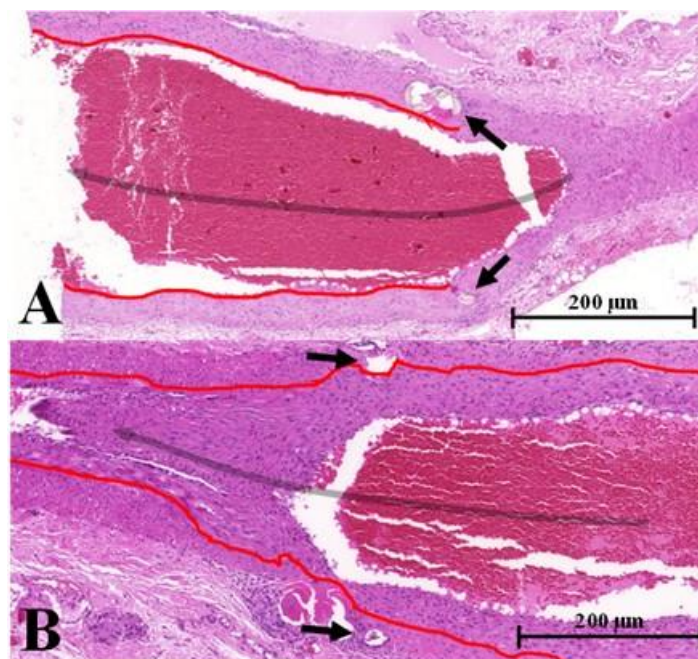


57. ábra

A „Loop” csoport tunica intima és tunica media rétegek szövettani változásai

n=10; átlag ±SEM; # p<0,05 vs. proximalis vég

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 (56. ábra, B, C). Megvizsgáltuk az anastomosisok területét és jelentős különbség volt látható a proximalis és a distalis anastomosis között. A proximalis anastomosis területén nem volt IH megfigyelhető, míg a distalis anastomosis területén a külső és a belső íven is szignifikáns intima megvastagodást találtunk (58. ábra). Ez a megvastagodás az anastomosisától distalisan is megjelent az artériában, de ennek ellenére a belső átmérőben nem láttunk érdemi szűkületet. Ez magyarázhatja a morfológiai vizsgálatok során talált külső átmérő növekedést.



58. ábra

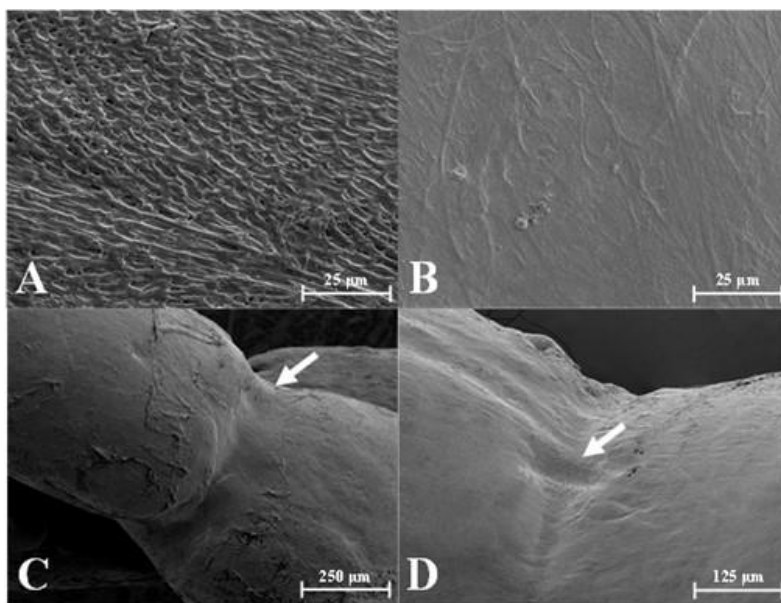
A hurok alakú véna graftban észlelt szövettani elváltozások az anastomosisok területén

A: proximalis anastomosis longitudinális metszete, szürke nyíl: vér áramlási iránya, fekete nyíl: 10/0-s öltés, piros vonal: membrana elastica interna; **B:** distalis anastomosis longitudinális metszete, szürke nyíl: vér áramlási iránya, fekete nyíl: 10/0-s öltés, piros vonal: membrana elastica interna

Nagyítás: 20x, 50x

4.2.4. 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 (59. ábra, A, B). Érdekes módon annak ellenére, hogy makroszkóposan az anastomosisok nem mutattak eltérést, az öntvényeken jó látható gyűrűszerű benyomat jelent meg az arterio-venosus találkozásnál (59. ábra, C, D). Itt is jól látható a remodellációt követő felszíni kisimulás.



59. ábra

Pásztázó elektronmikroszkópos felvételek az öntvények felszínéről

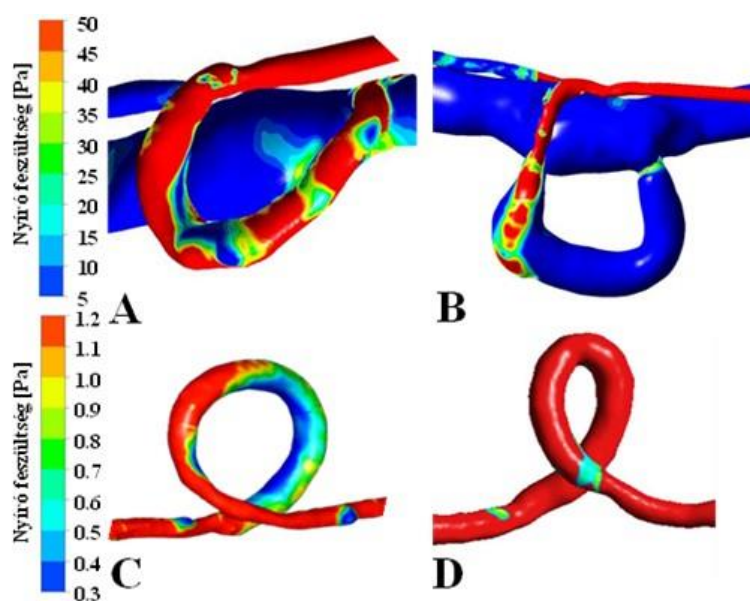
A: közvetlenül a műtétet követően készült öntvény felszíne; B: az PO5 héten készített öntvény felszíne; C: közvetlenül a műtétet követően készült öntvény felszíne az anastomosis helyén, nyíl: az arterio-venosus anastomosis benyomata; D: az PO5 héten készült öntvény felszíne az anastomosis helyén, nyíl: egy öltés intraluminalis benyomata. JSM-IT500HR, Jeol Ltd, Akashima, Japán. Nagyítás: 80x, 120x, 800x

4.2.5. 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 (60. ábra). 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 érátmérő is jelentősen megnövekedett (60. ábra, A, B). Ezzel szemben a hurok alakú graftban a mintázat nem mutatott eltérést (60. ábra: C, D).

A nyírófeszültség a fistula csoportban a nyomáshoz hasonlóan változott. Az ér teljes lefutásában a műtétet követően a nyírófeszültség körkörösén magas értéket mutatott (61. ábra,

A). Az érést követően a proximális szakasz első pár millimétere után hirtelen lecsökkent szintén ott, ahol az ér kiszélesedik (61. ábra, B).

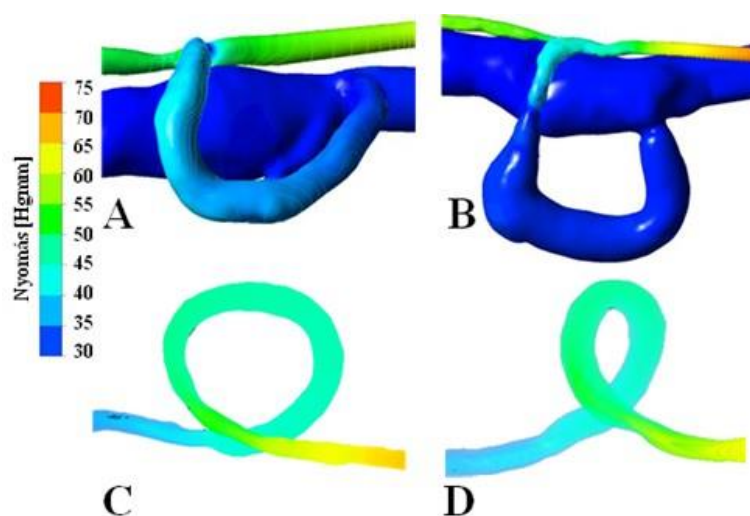


60. ábra

Nyomás szimuláció és változásai az fistula érés és az arterializáció hatására

A: friss „loop”; B: érett „loop”; C: friss fistula; D: érett fistula

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 (61. ábra, C, D). A nyírófeszültség ezzel együtt úgy változott, hogy proximálisan kezdetben magasabb nyírófeszültség értékek voltak láthatóak a distalis véghez képest (61. ábra, C), majd az arterializációt követően a nyírófeszültség jóval homogénebbé vált a „loop” teljes területén (61. ábra: D).

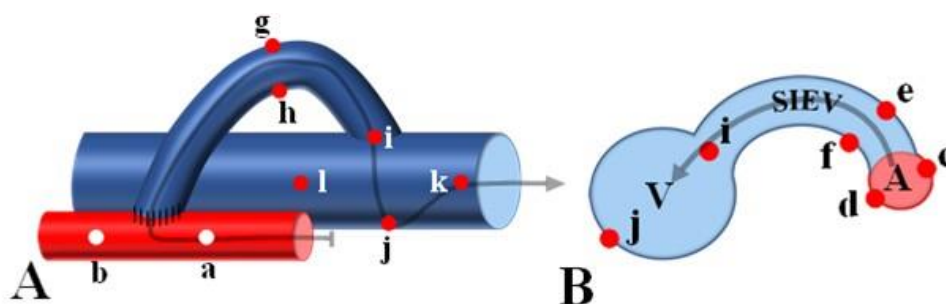


61. ábra

Fali nyírófeszültség szimulációs és változásai a fistula érés és az arterializáció hatására

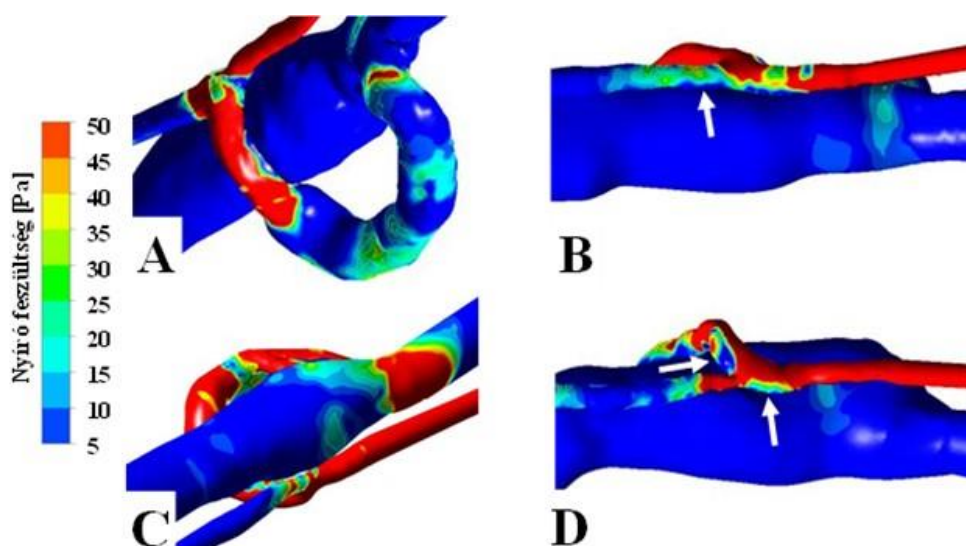
A: friss „loop”; B: érett „loop”; C: friss fistula; D: érett fistula

A fistula részletesebb vizsgálatakor jelentős eltéréseket tapasztaltunk az ábrán jelzett mérési pontok között (62. ábra, VI. táblázat). 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 (63. ábra, B, D). Ezzel szemben fistulában végig követhető a külső ív mentés magasabb nyíró feszültség. A belső és a külső ív között medialisan a különbség folyamatosan csökkent, de szignifikáns marad (VI. táblázat). A v. femoralis területén a beszájadástól 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 (55. ábra, A és 62. ábra, e-pont). A másik pedig a SIEV femoralis vénába való beömlésével szemben a v. femoralis falán (62. ábra, j-pont és 63. ábra, A, C).



62. ábra

A fistula sematikus megjelenítése és az elvégzett szimulációs mérések helyei
Lokalizációk pontos leírása a VI. táblázatban látható.



63. ábra

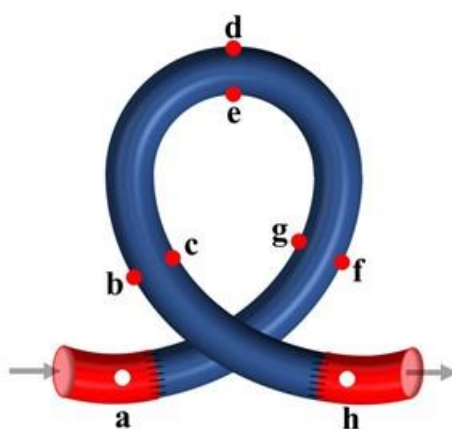
Fali nyírófeszültség szimuláció és változásai az fistula érés hatására

A: érett fistula; B: érett fistula oldalnézetből, nyíl: AV anastomosistól distalisán (62. ábra, b-pont)
C: friss fistula alulnézetből; D: érett fistula oldalnézetből, felső nyíl: AV anastomosis vénás oldal (62. ábra, f-pont), alsó nyíl: AV anastomosis artériás oldal (62. ábra, d-pont)

VI. táblázat: Fistula 3D áramlási szimulációk adatai

Mérési pontok lokalizációja	Jelölés	Fali Nyírófeszültség [Pa]			Nyomás [Hgmm]		
		Átlag	±SD	Szig.	Átlag	±SD	Szig.
1 mm-re proximalisan az artérián az AV anastomosistól	(a)	24.61	2.72	+	21.4	2.92	+
1 mm-re distalisan az artérián az AV anastomosistól	(b)	3.63	0.49	*+	20.9	3.23	+
AV anastomosis artériás oldalfala	felső fal (c)	40.74	8.95	*+	17	1.8	*+
	alsó fal (d)	4.16	1.92	*+×	18.3	1.85	*+
AV anastomosis vénás ág első 1 mm-e	felső fal (e)	41.04	12.40	*+	15.5	1.71	*+
	alsó fal (f)	6.23	4.17	*+×	15.6	2.03	*+
SIEV középső szakasza	belső ív (g)	6.34	1.02	*+	13.1	1.19	*+
	külső ív (h)	3.8	0.55	*+ #	13.1	1.13	*+
SIEV és véna femoralis találkozás	SIEV (i)	0.28	0.09	*+	12.3	0.27	*
	opposite (j)	2.28	0.68	*+×	12.5	0.56	*
Vénás beszájadzástól 1 mm-re proximalisan	(k)	0.49	0.14	*	12.3	0.22	*
Vénás beszájadzástól 1 mm-re distalisan	(l)	0.35	0.13	*+	12.2	0.12	*

* $p < 0,05$ vs. 1 mm-re proximalisan az artérián az AV anastomosistól (a); # $p < 0,05$ vs. belső ív (g); + $p < 0,05$ vs. vénás beszájadzástól 1 mm-re proximalisan (k); × $p < 0,05$ vs. SIEV (i) vagy felső fal (c,e)

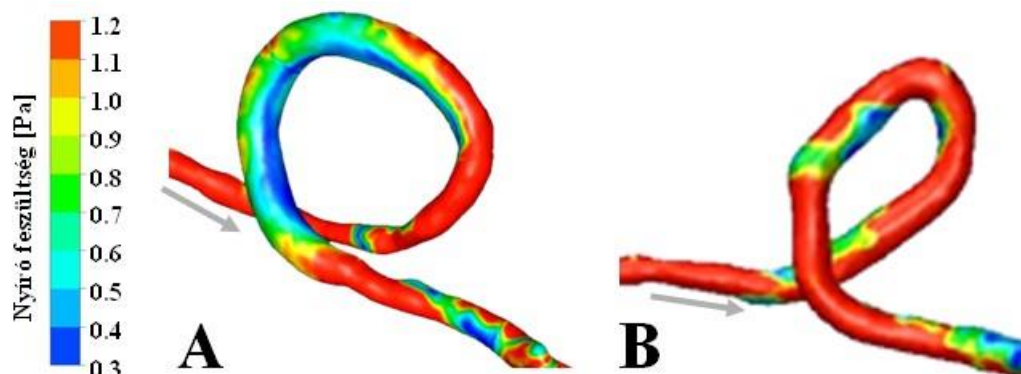


64. ábra

A „loop” sematikus megjelenítése és az elvégzett szimulációs mérések helyei

Lokalizációk pontos leírása a VII. táblázatban látható.

A „loop” csoportban szintén szignifikáns eltéréseket találtunk a vizsgált mérési pontokban (64. ábra). A proximalis szakaszon magasabb nyírófeszültség értékeket mértünk a distalis véghez képest, de a külső és a belső ív között is jelentős eltérés mutatkozott (65. ábra). 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 (VII. táblázat). Az arterializációt követően a külső és belső ív között a különbség fennmaradt a proximalis és medialis szakaszon, de ennek mértéke a két fal között jelentősen csökkent.



65.ábra
Fali nyírófeszültség szimuláció és változásai az arterializáció hatására
 A: friss „loop”; B: érett „loop,” nyíl: véráramlás iránya

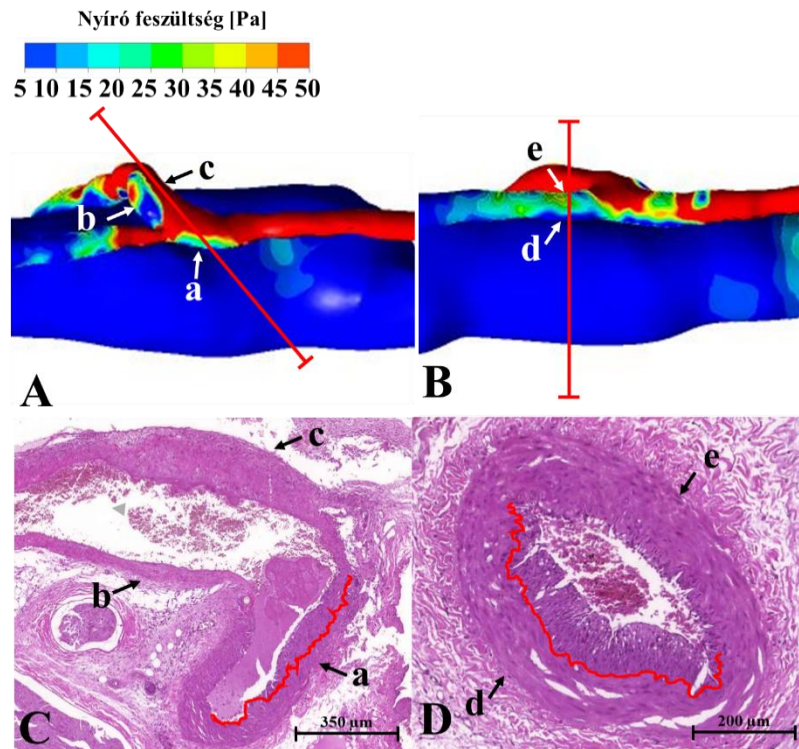
VII. táblázat: A „loop” csoport 3D áramlási szimulációinak adatai

Mérési pontok lokalizációja	Jelölés	Fali Nyírófeszültség [Pa]			Nyomás [Hgmm]		
		Átlag	±SD	Szig.	Átlag	±SD	Szig.
Proximalis anastomosistól 1 mm-re proximalisan	(a)	0.99	0.13		57.9	0.54	
Véna graft, proximalis harmad közepe	convex (b)	0.75	0.27	*	58	0.31	
	concave (c)	0.53	0.06	*#	58.1	0.26	
Véna graft, medialis harmad közepe	convex (d)	0.23	0.03	*	58.1	0.21	
	oncave (e)	0.18	0.05	*#	58.1	0.2	
Véna graft, distalis harmad közepe	convex (f)	0.3	0.03	*	58.2	0.13	
	concave (g)	0.31	0.04	*	58.2	0.15	
Distalis anastomosistól 1 mm-re distalisan	(h)	0.72	0.17	*	58.2	0.13	

* $p < 0,05$ vs. a proximalis anastomosistól 1 mm-re proximalisan (a); # $p < 0,05$ vs. belső ív (b,d,f)

4.2.6. A szövettani és a 3D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása

A szimuláció egyenletes fali nyírófeszültséget mutatott az áloperált ereken, ezzel egybevágóan 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 (66. ábra). 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 (66. ábra, c-nyíl, d-nyíl). Az anastomosis artériás oldalán is az alacsony nyírófeszültségű terület nagyban korrelált az ott talált IH-folt lokalizációjával (66. ábra, a-nyíl).



66. ábra

Fistula szövettani és 3D áramlási szimuláció eredményeinek összehasonlítása I

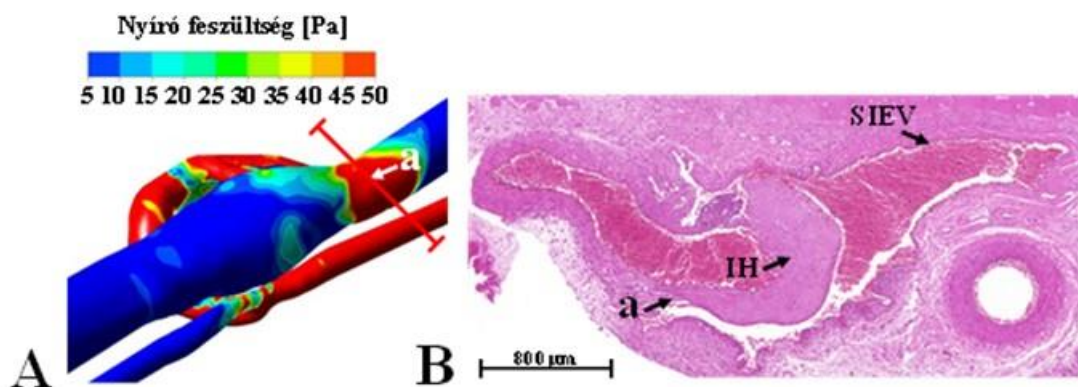
A és B: az arterio-venosus anastomosis nyírófeszültség szimulációja két metszési sík jelölésével (piros vonalak)

C: az arterio-venosus anastomosis axialis szövettani metszete, piros vonal: membrana elastica interna;

D: a. femoralis axialis metszete distalisan az arterio-venosus anastomosisától, piros vonal: membrana elastica interna; nyílak: a szövettani metszeteken és a 3D szimuláción egymásnak megfeleltethető területek.

Nagyítás: 20x, 50x

Ahol a szimuláció hirtelen nyomáscsökkenést mutatott a fistulában, ott a vénán egy jelentős kiszélesedést találtunk. A distalis „hot-spot” területén, amely a SIEV – v. femoralis szájadékánál helyezkedett el, egybevágott a jelentős IH képződés helyével a v. femoralisban (67. ábra).



67. ábra

Fistula szövettani és 3D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása II

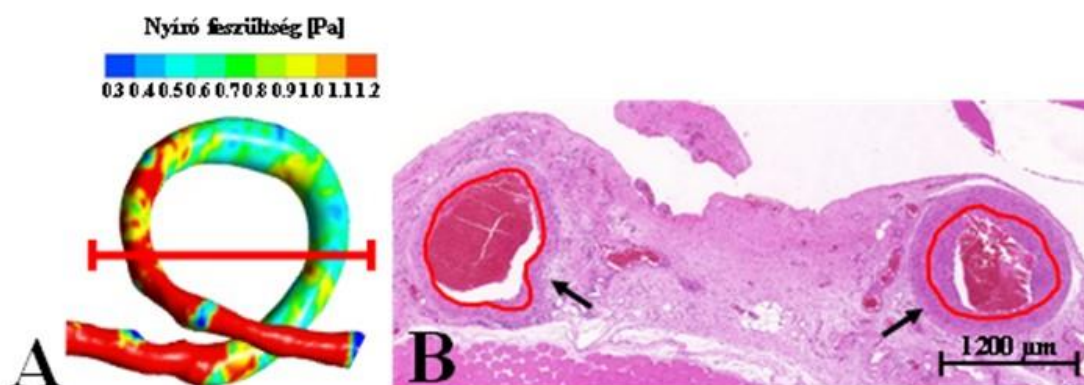
A: fistula nyírófeszültség szimulációja, piros vonsl: a szövettani metszet metszési síkjai;

B: SIEV és a v. femoralis axialis szövettani metszete; a-nyíl: a szövettani metszeteken és a 3D szimuláción egymásnak megfeleltethető területek,

IH: intima hyperplasia, SIEV: v. epigastrica inferior superficialis. Nagyítás: 20x

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 (68. ábra).

Az distalis anastomosis területén, ahol a szimuláció körkörös alacsony nyírófeszültséget mutatott, a szövettani metszeteken is mindkét oldali egyenletes tunica intima megvastagodást találtunk (68. és 69. ábra).

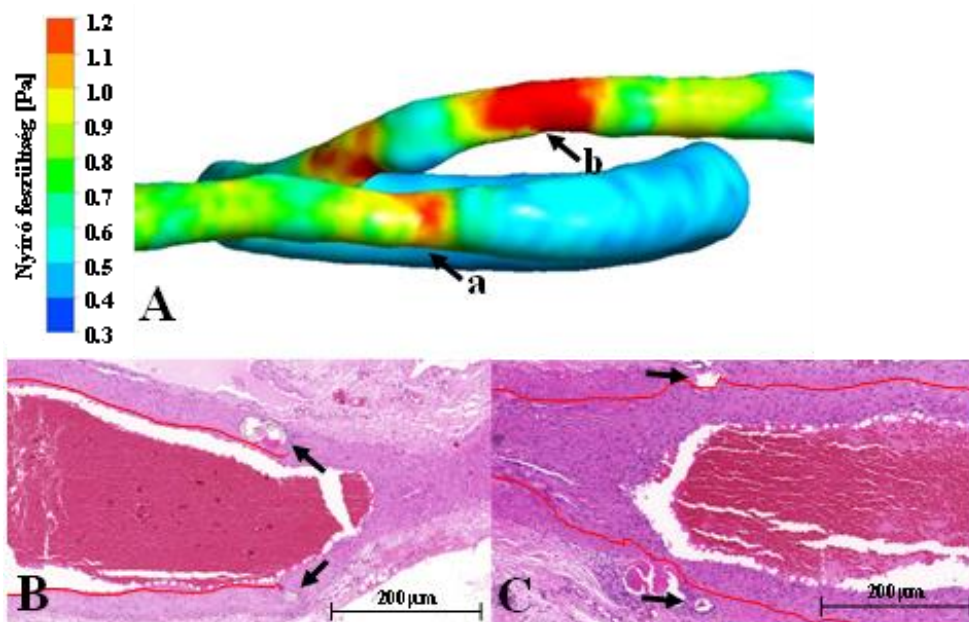


68. ábra

A „loop” szövettani és 3 D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása I

A: a „loop” nyírófeszültség szimulációja, piros vonal: a szövettani metszet metszési síkja;

B: a „loop” axialis szövettani metszete, piros vonal: membrana elastica interna, bal nyíl: proximalis vég, jobb nyíl: distalis vég. Nagyítás: 10x



69. ábra

A „loop” szövettani és 3 D áramlási szimulációs eredmények összehasonlítása II

A: a „loop” nyírófeszültség szimulációja, a-nyíl: distalis anastomosis, b-nyíl: proximalis anastomosis,

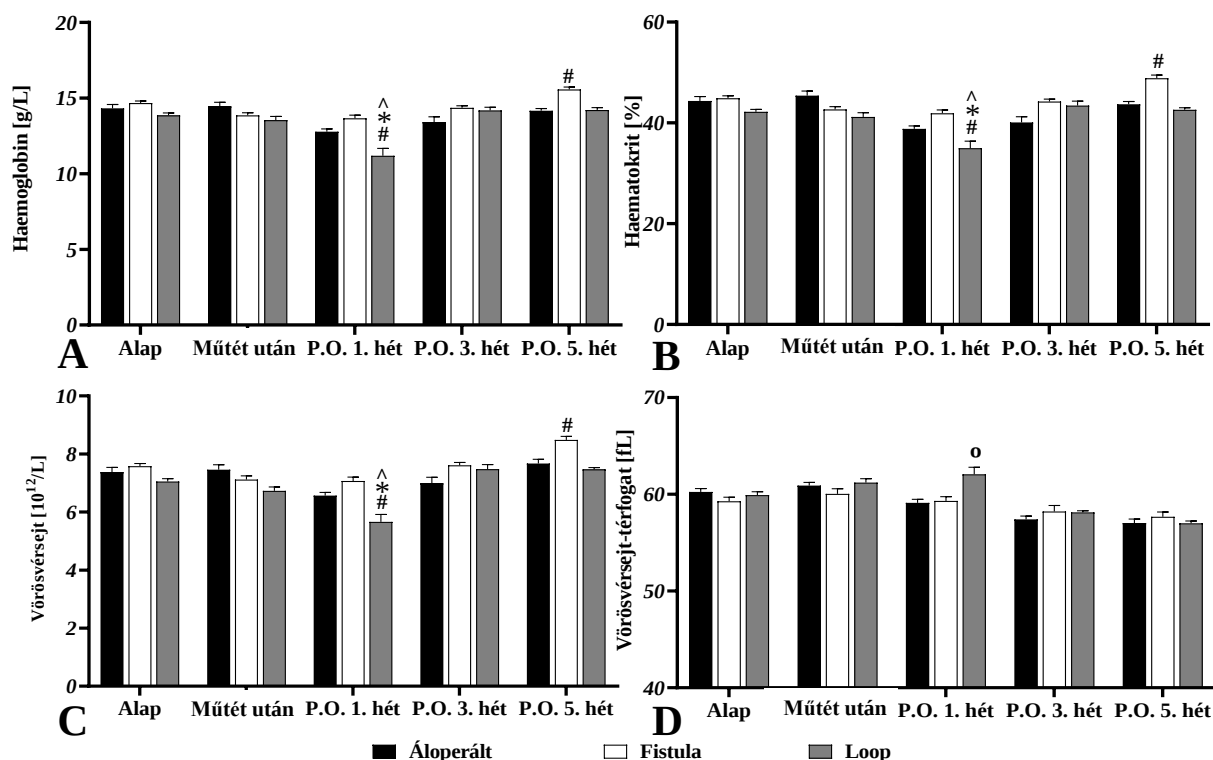
B: proximalis anastomosis longitudinális metszete, piros vonal: membrana elastica interna, nyíl: 10/0-s öltések;

C: distalis anastomosis longitudinális metszete, piros vonal: membrana elastica interna, nyíl: 10/0-s öltések;

Nagyítás: 40x

4.2.7. Haematologiai paraméterek

A haematologiai 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 mért adatok a többi csoporthoz képest is jelentősen nagyobb csökkenést mutattak (70. ábra: A-C).



70. ábra
Haematologiai paraméterek változásai

A: haemoglobin (Hgb); B: haematokrit (Hct); C: vörösvérsejt szám; D: vörösvérsejt átlagos térfogat (MCV)
n=10, átlag±SEM, p<0,05 ^vs. áloperált alap; * vs. „loop” műtét előtt; # vs. fistula műtét előtt;
°vs. áloperált és fistula P.O.1 hét

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 (70. ábra, D). 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 értékekhez képest és a többi csoport utolsó méréseihez képest is (70. ábra, A-C). Az MCH és MCHC adatok tekintetében érdemi eltérést nem találtunk.

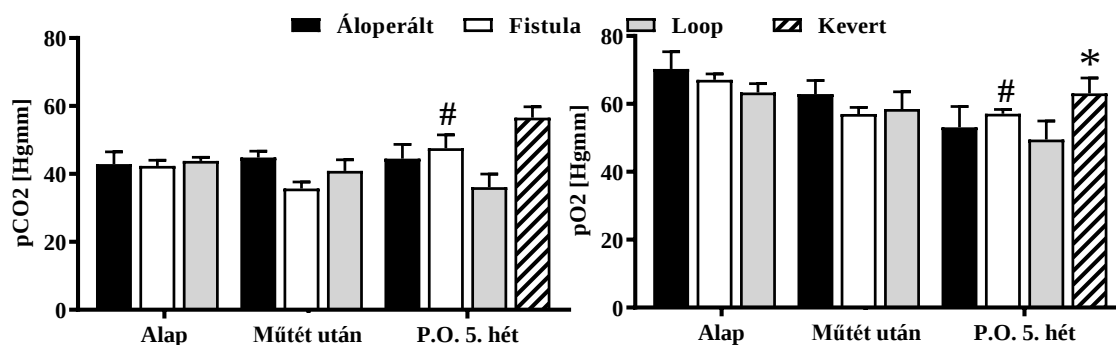
A thrombocyta szám esetén a „loop” csoportban találtunk eltérést, amely az PO1 héten jóval magasabb értéket mutatott a többi csoporthoz képest (VIII. táblázat). A fehérvérsejtszám a műtétet követően megemelkedett, de szignifikánsan lecsökkent a követéses periódus végére az áloperált és a „loop” csoportban,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

VIII. táblázat: Thrombocyta- és fehérvérsejt szám változásai

Plt (10 ⁹ /L)												
	Áloperált (n=10)				Fistula (n=10)				Loop (n=10)			
	Átlag	±SD	p-érték	VS	Átlag	±SD	p-érték	VS	Átlag	±SD	p-érték	VS
Alap	721.8	132.7	0.0236	PO1	806.1	80.9	0.4628	PO1	773.5	72.5	<0.0001	PO1
Műtét után	730.3	56.3	0.0398	PO1	691.0	78.5	<0.0001	PO1	727.2	117.7	<0.0001	PO1
P.O. 1 hét	841.1	98.8	0.0683	PO3	868.7	114.1	<0.0001	PO3	950.4	236.3	0.0038	PO3
P.O. 3 hét	725.5	125.1	0.8123	PO5	624.3	77.9	0.3985	PO5	787.6	85.3	0.1728	PO5
P.O. 5 hét	676.8	113.3	0.0022	PO1	697.4	67.2	0.0003	PO1	675.2	85.5	<0.0001	PO1
WBC (10 ⁹ /L)												
	Áloperált (n=10)				Fistula (n=10)				Loop (n=10)			
	Átlag	±SD	p-érték	VS	Átlag	±SD	p-érték	VS	Átlag	±SD	p-érték	VS
Alap	8.25	1.44	0.1543	PO1	9.01	1.32	0.9857	PO1	7.83	2.20	0.8965	PO1
Műtét után	4.91	1.68	<0.0001	PO1	8.89	2.22	0.9516	PO1	7.57	1.87	0.6946	PO1
P.O. 1 hét	9.62	0.96	0.0632	PO3	9.31	2.30	0.2565	PO3	8.39	2.06	0.0353	PO3
P.O. 3 hét	7.84	1.07	0.9955	PO5	8.07	1.12	0.9983	PO5	6.34	1.58	0.9997	PO5
P.O. 5 hét	7.58	0.62	0.0216	PO1	7.89	1.38	0.1388	PO1	6.20	1.33	0.0257	PO1

4.2.8. 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, $p=0,0076$) (71. ábra, A). 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, $p=0,461$) (71. ábra, B). 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 $p\text{O}_2$ (vénas vs. kevert: $57,083 \pm 3,20$ Hgmm vs. $63,12 \pm 11,14$ Hgmm, $p=0,0099$) (71. ábra, B) és a glükóz koncentráció (vénas 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.



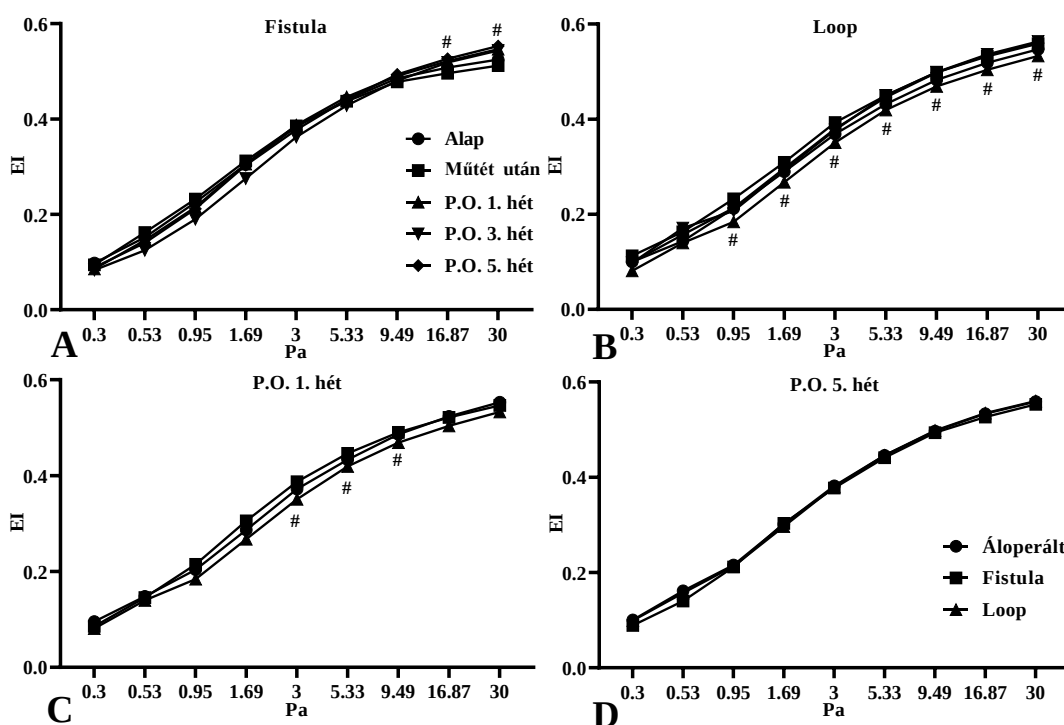
71. ábra

Vérgáz paraméterek

A: parciális széndioxid nyomás; B: parciális oxigén nyomás
n=10, átlag±SEM, #p<0,05 vs. fistula alap; *p<0,05 vs. fistula 5. posztoperatív hét

4.2.9. 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 (72. ábra, A). A haematologiai eredményekkel egybevágóan a legjelentősebb vörösvérsejt deformabilitás változást az PO1 héten találtunk a „loop” csoportban (72. ábra, B). 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 (72. ábra, C). Az PO5 hétre a rögzített adatok szinten teljesen megegyeztek a csoportok között (72. ábra, D).



72. ábra

Vörösvérsejt deformabilitás

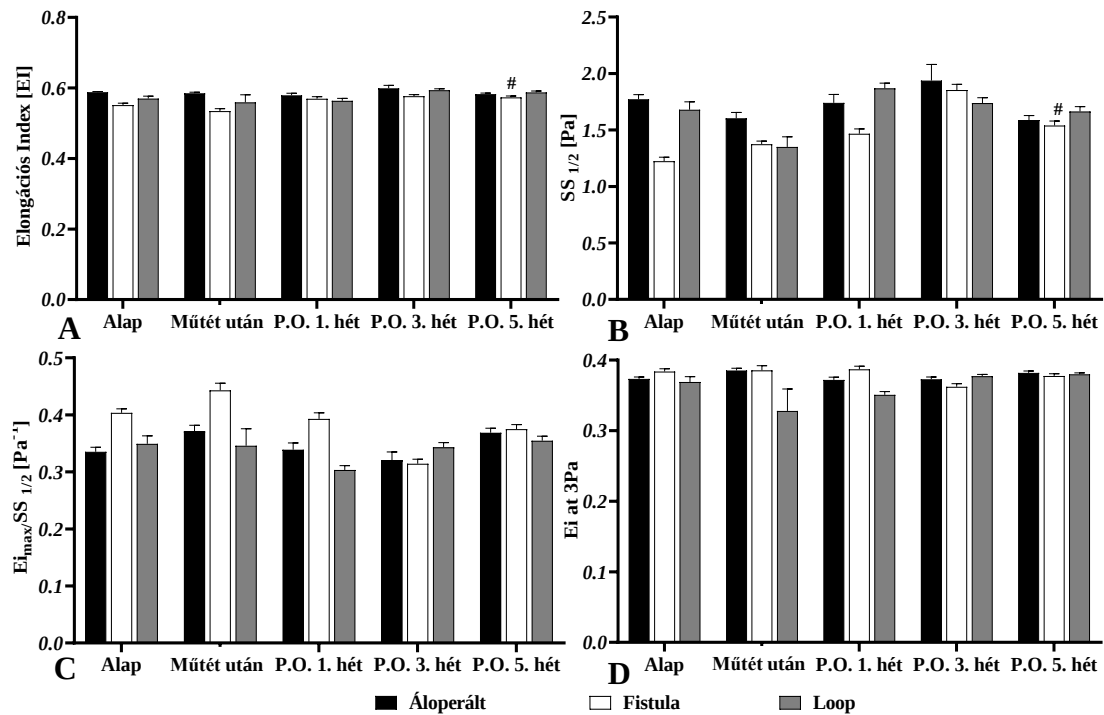
A fistula (A) és a „loop” (B) csoport elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség függvényében;

C: a csoportok összehasonlítása az 1. és az 5. posztoperatív héten;

n=10, átlag±SEM. #p<0,05 vs. fistula alap

A fistula csoportot leszámítva az EI_{max} és az $EI_{max}/SS_{1/2}$ értékek normalizálódtak a követési időszak végére, ám a fistula csoportban ismételt jelentős emelkedést tapasztaltunk a kiindulási értékekhez képest (EI_{max} : alap vs. PO5 hét; $0,55 \pm 0,023$ vs. $0,57 \pm 0,015$; $p=0,0015$) (73. ábra, A, B). A többi származtatott paraméter nem mutatott érdemi eltérést (73. ábr. C, D).

A vörösvérsejt aggregatio jelentős csökkenést mutatott a műtétet követően a fistula és a „loop” csoportban (74. ábra). 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 (74. ábra).



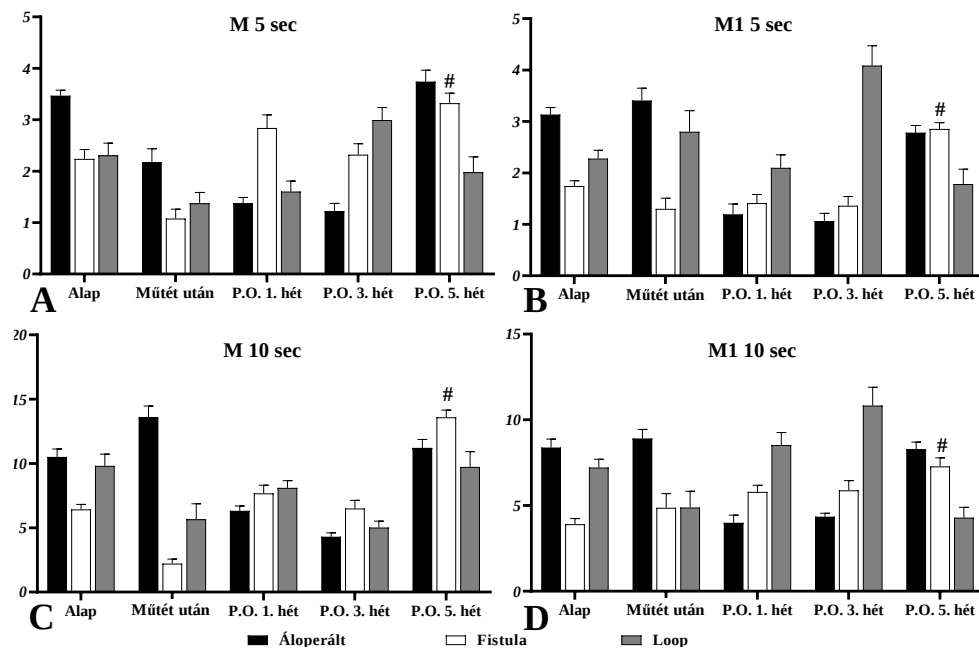
73. ábra

A vörösvérsejt deformabilitás kalkulált paramétereit

A: maximális elongációs index; B: a maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség;

C: e két paraméter hányadosa; D: elongációs index 3 Pa nyírófeszültségnél

n=10, átlag±SEM. #p<.05 vs. fistula alap



74. ábra

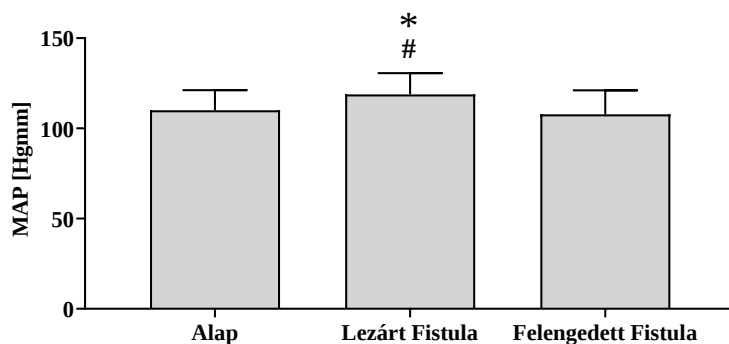
Vörösvérsejt aggregációs index értékek különböző modalitásokkal vizsgálva

Az aggregációs folyamat 5. és 10. másodpercében 0 s $^{-1}$ (A, C) és 3 s $^{-1}$ (B, D) sebesség-gradiens mellett

n=10, átlag±SEM. #p<.05 vs. fistula alap

4.2.10. Haemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatok

A fistula csoportban az a szövettani eredmények mellett az invazív vérnyomás mérés adataiból is egyértelműen látszódott a fistula szignifikáns cardiológiai hatása. Ugyanis a SIEV lezárásakor az artériás középnyomás szignifikánsan megemelkedett, majd a klip levételekor szignifikánsan visszacsökkent (75. ábra).



75. ábra

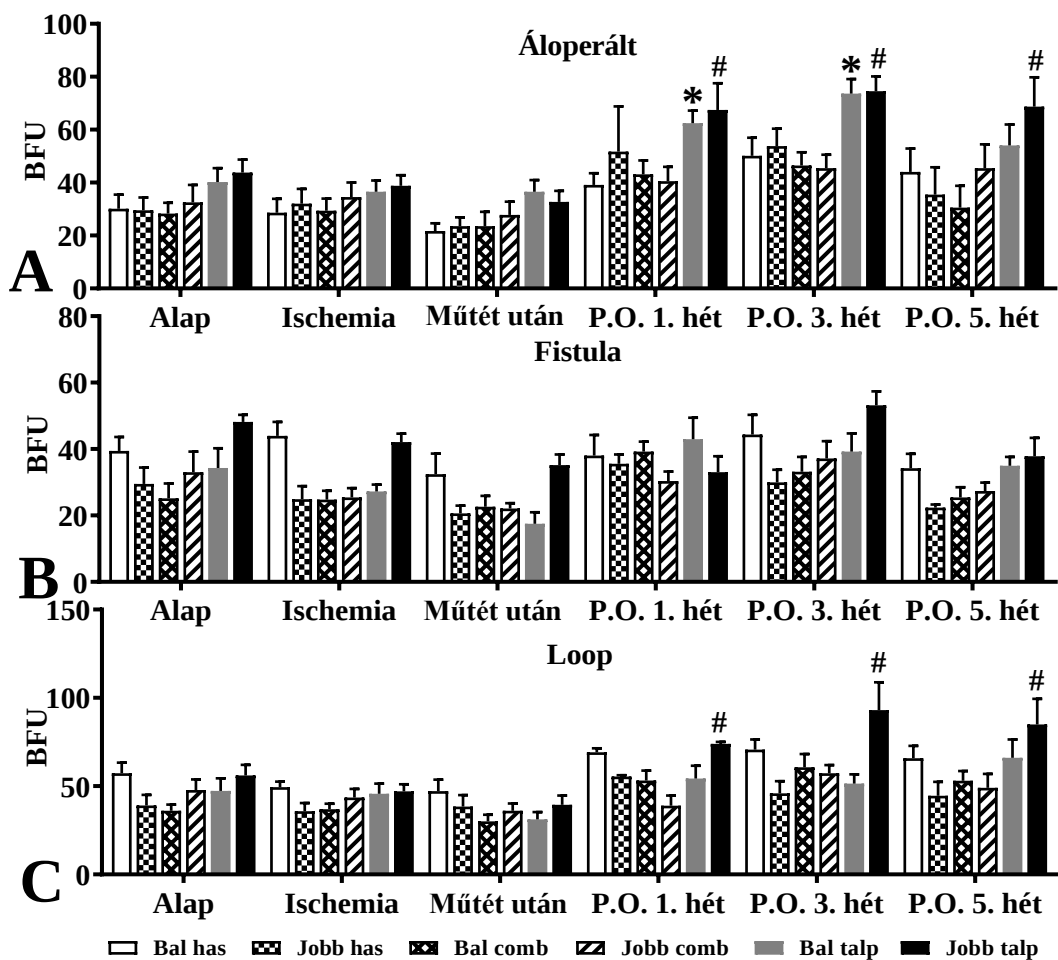
Fistula leszorításának hatása az artériás középnyomásra

n=10; átlag±SEM; # p<0,05 vs. alap; * p<0,05 vs. felengedett fistula

A mikrokeringési adatokon látható volt egy folyamatos emelkedés az állatok növekedésével egybevágyóan az áloperált csoportban. A hátsó lábak talpi mikrokeringés adatai jelentősen emelkedtek a megfigyelési időszak alatt (76. ábra, A). A fistula szisztémásan is csökkenthette a mikrokeringést, ugyanis egyik hátsó végtagon sem láttuk az áloperált csoportban megfigyelt emelkedést (76. ábra, B). Azonban a "loop" csoportban ez a növekedés csak az operált lábon látszott (76. ábra: C). A fistula csoport adatai a többi csoportéhoz képest is szignifikánsabban alacsonyabb értékeket mutattak az PO5. héten (77. ábra, A).

Ezeket a megfigyeléseket a tapfelszíni hőmérséklet adatok is alátámasztották. A "loop" csoportban a nem-operált láb talpfelszíni hőmérséklete szignifikánsan alacsonyabb volt az operált láb és az áloperált csoport azonos oldali láb adataihoz képest (operált vs. nem-operált: $32,22 \pm 0,7$ °C vs. $30,65 \pm 1,35$ °C, $p=0,0009$; áloperált vs. "loop": $32,28 \pm 1,15$ °C vs. $30,65 \pm 1,35$ °C, $p=0,0003$) (77. ábra, B).

Ezzel szemben a fistula csoportban az operált láb jelentősen alacsonyabb talpfelszíni hőmérsékletet mutatott, mely várható volt az ismert "steal"-szindróma miatt (77. ábra, B). A mért adatok az operált láb és az áloperált csoport azonos oldali lábához képest is szignifikánsan alacsonyabbak voltak (operált vs. nem-operált: $30,57 \pm 1,4$ °C vs. $31,51 \pm 1,03$ °C, $p=0,0283$; áloperált vs. fistula: $32,33 \pm 1,11$ °C vs. $30,57 \pm 1,4$ °C, $p<0,0001$) (77. ábra, B).

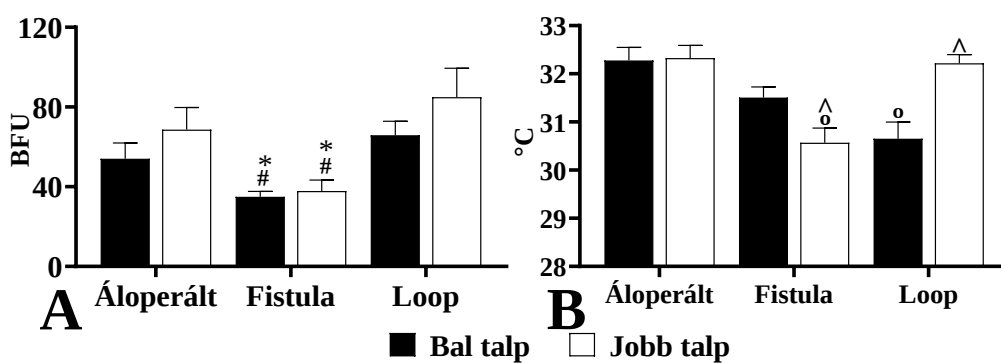


76. ábra

A talp bőrnek mikrokeringési (laser Doppler blood flux unit - BFU) értékei

A: áloperált csoport; B: fistula csoport; C: „loop” csoport

n=10, átlag±SEM, *p<0,05 vs. bal talp műtét után, #p<0,05 vs. jobb talp műtét után



77. ábra

Talp mikrokeringés direkt és indirekt paraméterei a P.O. 5. héten

A: laser Doppler értékek (blood flux unit, BFU), B: talp felszíni bőrhőmérséklet

n=10, átlag±SEM

p<0,05: *vs. bal és jobb áloperált, #vs. bal és jobb „loop”, ^vs. bal talp, °vs. azonos oldali áloperált

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Művi ér-anastomosisok biomechanikai vizsgálatai

Három különböző éregyesítési módszer biomechanikai tulajdonságait vizsgálatuk meg a kutatás során. A vizsgálatok során mértük az anastomosisok nyomástűrő képességét, az elkészítéshez szükséges időt és öltésszámot. Emellett mértük a szakítószilárdságot, a megnyúlást és a rugalmasságot. A vizsgált varrattechnikák az egyszerű csomós, a tova futó és a módosított Lauritzen-féle „sleeve” technika voltak. A csomós és tova futó varrat típusokat tovább vizsgáltuk különböző öltésszámok felhasználása mellett. A különböző éregyesítési varrattechnikák biomechanikai vizsgálatai során számos értékes műtéttechnikai megfigyeléshez és objektív számszerű adathoz jutottunk.

A műtéttechnikai megfigyelések esetén azt találtunk, hogy a „sleeve” technika kivitelezése során a proximalis érszakaszt legalább olyan hosszan bele kellett bújtatni a distalis érvégbe, mint amekkora az ér átmérője a fiziológiás vérnyomás alatt. Erre azért volt szükség, mert csak ebben az esetben feszült össze a két érfal annyira, hogy a szivárgás elfogadható mértékű legyen. Ezt az irodalomban mások is megfigyelték.³⁵ Ugyanakkor ez jelentős hátrányt jelent, hiszen az erek egymásba csúsztatása miatt az ér megrövidül és így feszülés jön létre. Traumás szövethiánnyal járó sérülés esetén ez fokozottan problémát jelent, hiszen a feszülésmentes varrattechnika kulcsfontosságú a szövődmények elkerülése érdekében. A fokozott feszülés szűkülettel, intima sérüléssel és korai posztoperatív szövődeményekkel járhat, mint például az érelzáródás.^{26,27,206} Ebből kifolyólag ennek a technikának a „makro” sebészetben való alkalmazása megkérdőjelezhető. John B. Murphy leírásában a femoralis ereken végzett hasonló varratok szintén nem mutattak jó eredményeket.²⁰⁷

A tova futó varrat legfőképpen a két saroköltésből szivárgott, ám ezzel a technikával a „sleeve” módszer mellett az ér könnyen szűkíthető.^{30,208} Ezt az is alátámasztotta, hogy a szivárgást csak az ér jelentős szűkítése mellett tudtuk teljesen megszüntetni. Habár a „sleeve” technika bizonyult a leggyorsabbnak a többi vizsgált varra technikához képest, ez a módszer eredményezte a legnagyobb nyomásesést. A technikából fakadóan azonban a legkevesebb öltést igényelte, mely nagyban hozzájárult a módszer gyorsaságához.

Az öltések száma és a szivárgás mértéke között alacsony korrelációt találtunk a különböző csoportokban. Emellett a rögzített képeken látható volt, hogy a szivárgás túlnyomó része egy-egy helytelenül elkészített öltésből származott. Ez arra utal, hogy az öltések helyes behelyezése fontosabb, mint az alkalmazott technika típusa.

Az eredeti Lauritzen-féle „sleeve” technikát nem tudtuk alkalmazni a kutatásban használt erek átmérője miatt, mivel az eredeti módszert 1 mm-es ereken írták le.³⁴ Ezért a technikát módosítottuk. A vizsgált varrat típusok közül az erek feszülése a „sleeve” csoportban volt a legnagyobb az erek egymásba csúsztatása, invaginációja miatt, mely az erek belső átmérőjének

a szűkületét is okozza.³⁰ Traumás sérülés esetén jelentős szövethiánnyal járó nagyér sérülés is keletkezhet, ilyen esetben a „sleeve” technika sem javasolandó.²⁵ Ebből következik, hogy ez a technika leginkább csak mikrosebészeti érvarratok esetén alkalmazható.

A biomechanikai vizsgálatok során jól látható volt az anastomosisok kedvezőtlen hatása, az összes csoportban szignifikánsan csökkent a szakítószilárdság az intakt erekhez képest. Emellett az erek megnyúlása és rugalmassága is jelentősen lecsökkent. A 8 öltéssel készült csomós varrat bizonyult a leggyengébbnek, és ez mutatta a legrövidebb megnyúlást is. Az összes vizsgált paraméter tekintetében nem volt érdemi eltérés a 12 öltéses csomós és tova futó varrat között, de a két csoport mindenben felülmúlta a 8 öltéses csomós varrattechnikát. Az alkalmazott öltések száma komolyan befolyásolhatja az ér biomechanikai tulajdonságait, mivel minden öltés egy újabb lyukat jelent az ér falán és akár tovább szűkítheti az anastomosisot. A túl kevés öltés pedig vérzéshez, vagy akár ruptúrához is vezethet. Ezért az optimális öltésszám megtalálása nagy fontosságú. Az öltésszámok növelésével ugyan erősebb anastomosisot kaptunk, de az összefüggés nem lineáris. Az érintetlen ér és az anastomosis szakítószilárdságának összefüggése alacsony volt a 8 öltéses csomós és a 12 öltéses tova futó csoportban. A 12 öltéses csomós varrat azonban magas korrelációt mutatott. Ebből arra következtettünk, hogy ez a módszer képes leginkább rekonstruálni az ér eredeti állapotát. Szűkületet sem tapasztaltunk egyik csomós varrat elkészítése során, így a mérések alatt ez bizonyult a legmegbízhatóbb technikának. A leginkább optimális anastomosis a legkevesebb feszülés mellett a 12 öltéses csomós varrattal készíthető el a kísérleteink alapján.

A fonalmodelles vizsgálatok során a 8 öltéses csomós varrat szinte ugyan olyan szakítószilárdságot produkált, mint az érintetlen ereké. Ebből az következik, hogy ekkora érátmérő esetén több öltés szükséges, hiszen a fonál is lehet a leggyengébb pont. Ezt az is alátámasztja, hogy az elszakított erek vizsgálata során ebben a csoportban nemcsak az ér, hanem az öltések is elszakadtak.

A fonál mindig a sértett vagy lapított szakaszán szakadt el szignifikáns gyengülést okozva ezzel, amely a megnyúlás és rugalmasság értékeken is jól kivehető volt. Ezért amennyire csak lehet, a fonál eszközzel való erősebb megfogását, megsértését kerülni kell. Ez kifejezetten fontos a tova futó varrat esetén, ahol egyetlen hiba az egész anastomosis szétválását okozhatja. Emellett a fonál tengelyirányú megtekeredése is jelentős szakítószilárdság csökkenést okozhat.²⁰⁹ A csomó önmagában jelentősen gyengíti a fonalat, a mi méréseink során ez egyharmadnyi csökkenést jelentett, amely az irodalmi adatoknak megfelelő.²⁰⁵ Mivel az öltés a varratsok leggyengébb pontja, ezért egy öltés maximális szakítószilárdsága a csomózási technikán is múlik. A helytelen csomózás 63%-os gyengülés okozott, ezzel is mutatva a megfelelő technika alkalmazásának fontosságát.

A csirke és patkány biopreparátumk összehasonlítása során megfigyeltük, hogy az anastomosis által okozott gyengülés a szakítószilárdság, megnyúlás és rugalmasság tekintetében arányaiban a patkány ereken volt nagyobb. Ez azt sugallja, hogy a patkány modell érzékenyebb, így oktatás során ilyen jellegű vizsgálatokkal ez esetlegesen elkövetett hibákat még pontosabban kilehet mutatni.

Az általunk készített mérőműszer pontosan meg tudta mérni az erek adott biomechanikai tulajdonságait.²¹⁰ Képes volt a mérési görbe kirajzolásával rávilágítani meghatározott hibákra, melyek esetlegesen elkövethetőek a varratok elkészítése során. Ezzel javíthatja az oktatás minőségét mikrosebészeti kurzusok során, hiszen olyan visszajelzést képes adni az elkészített anastomosisok minőségéről, melyet egyéb módszerekkel nem lehetne kivitelezni.

A korábban említett kutatási eredményeket felhasználtuk a patkánykísérletek során a protokoll pontos kialakításához. Három fő kérdés merült fel a kutatás során. Az első, hogy a közel 1 mm-es ereken melyik anastomosis kivitelezhető, ehhez azt is számításba kell vennünk, hogy két különböző szerkezetű eret varrunk össze. Emiatt a módosított Lauritzen-féle „sleeve” technika nem jöhetett szóba, mivel túl sok érhossz-vesztéssel járt volna, valamint a „loop” csoportban a distalis anastomosiszt ezzel a módszerrel nem lehet elkészíteni. Ez annak tudható be, hogy a véna túl nagy átmérőjére tágul a nyomás alatt, így a belecsúsztatott artéria nem tud kellően nekifeszülni a vénának, így a kellő „tömítés” nem jön létre. A fistula csoportban side-to-end típusú anastomosisokra volt szükség, ám ebben az esetben sem alkalmazható ez a technika. Ebből fakadóan csak a csomós és a tova futó technika jöhetett szóba.

Az idő szempontjából a tova futó varrat lenne a választandó technika, de a két módszer közötti idő különbség elhanyagolható a kutatás szempontjából. Mindkét technika esetén elvégezhető a műtét előtt a végtagi keringés elzárása jelentősebb szövődményeket okoznak. Ez azért van így, mivel a patkányok hátsó végtagjának igen jó a kollaterális keringése és a femoralis artéria lezárásával sem lehet teljes ischaemiát előidézni a végtagban.^{211,212} Ebből fakadóan a többi szempont a meghatározó a megfelelő technika kiválasztásához.

A biomechanikai vizsgálatok során sem tártunk fel jelentős különbséget a csomós és a tova futó technika között. Azonban jól látható volt, hogy az erre gyakorolt torzító hatása a tova futó varratnak jóval kifejezettebb. Ilyen kis erek esetén a legkisebb eltérés is érelzáródáshoz vezethet. Mivel a kutatás sikerességéhez elengedhetetlen, hogy jól átvezető és alacsony elzáródási hajlamú anastomosisokat készítsünk, így azt a technikát kell választanunk, ahol a legkevesebb thromboticus szövődmény várható. Az előzőekből fakadóan a csomós varratípust választottuk a patkánykísérletek során.

5.2. Arterio-venosus fistula és „loop” graft áramlástanai vizsgálatai

Jól ismert tény, hogy a keringési rendszerben a vér és az érfal folyamatos közvetlen kapcsolatban állnak egymással. Ez az állandó kapcsolat a nyírófeszültségen keresztül modulálja az endothel funkciók nagy részét. A fali nyírófeszültség hatására a sejtek különböző molekuláris mediátorokat termelnek (pl. NO, prosztaciklinek, thrombomodulinok), és különböző ioncsatornákon, jelátviteli útvonalakon és transzkripció faktorokon keresztül változtatja a sejtek működését, proliferációját.^{115–117,213–215} Különböző mechanoreceptor komplexek segítségével a sejt képes reagálni az intraluminális viszonyok változásaira.²¹⁶ Tehát megváltozott érgeometria esetén az adott áramlási viszonyok képesek befolyásolni a remodellációs folyamatokat az erek gyógyulása, a fistula érése, a véna graft arterializációja, intima hyperplasia és az atherosclerosis kialakulása során.^{16,118} Ennek ellenére a nyírófeszültség pontos szerepe az erek remodellációja során még nem teljesen ismert. Az egyik elmélet szerint a magas nyírófeszültség okozhat az intima hyperplasiát különböző molekuláris jelátviteli útvonalakon keresztül (MVP1, MCP-2).^{122,123} Más tanulmányok éppen az ellenkezőjét találták, nevezetesen azt, hogy az alacsony nyírófeszültség (is) lehet kiváltó ok.^{124,125} Az intima hyperplasia előfordul artéria „bypass” kialakítását követően és arterio-venosus fistulában is, ahol a körülmények jelentősen eltérnek egymástól. Ebből az következik, hogy nem egy tényező felelős az intima hyperplasia és egyéb szövettani eltérések kialakulásáért.^{16,138,217} Felmerül, hogy az áramlási komponensek, a nyírófeszültség, a nyomás grádiens, a pulzatilitás, a vorticitás, a turbulencia meghatározott kombinációi indukálhatják ezeket a szövettani elváltozásokat.^{68,138,217–219}

Ebben a kutatásban vizsgáltuk a fali nyírófeszültség és az intraluminalis nyomás kombinált hatását az arterializációra és a fistula érésére, a szövettani elváltozások és a 3D áramlási szimulációk összehasonlításával. Ennek a két paraméternek a kombinált hatását alaposan még nem vizsgálták meg. A hurok alakú véna graft segítségével vizsgáltuk az adott nyomás és fali nyírófeszültség értékek kombinációjának hatását, valamint elemeztük az ér geometriai alakjának a hatását az arterializációra. A hurkon megjelölt mérési pontokban rögzített áramlási értékek segítségével vontuk összefüggéseket a szövettani változások és a különböző áramlási komponensek között. Ezeket a megfigyelt összefüggéseket tovább vizsgáltuk és pontosítottuk az arterio-venosus fistula elemzéseivel.

A leggyakoribb eljárásokhoz képest az öntvénykészítési technikát módosítottuk. Ugyanis a hagyományos szövet-lemaratásos módszer helyett az ereket mikroszkóp alatt, mikrosebészeti módon távolítottuk el az öntvények felszínéről. Ezáltal a műanyag felszíne elektronmikroszkópos vizsgálatok során is jóval tisztább és pontosabban vizsgálható volt, valamint a jövőben az adott érről készült öntvény az azonos érrel összehasonlíthatóvá vált. A lenyúzott ér és az öntvény nagypontosságú összehasonlítása további kutatásokat igényel. Így a

mi munkánkban az öntvényeket még nem tudtuk az azonos erekkel összehasonlítani, ami a kutatás egyik limitációját jelenti. Ezért csoportonként az állatok felét öntvény készítésre a másik felét pedig szövettani elemzésre használtuk fel. Az érműtéteket egy operatőr végezte, így a fistulák és a „loopok” ugyanolyan technikával, varratípussal, fonallal készültek. Az elkészült anastomosisok, fistulák, „loop”-ok geometriája szinte azonos volt, az átmérők, a hosszúság értékek és a szögek igen kis szórást mutattak, ezért a két vizsgálati irány összehasonlíthatósága jónak mondható.

Az eredmények az mutatták, hogy az áramlási mintázat és a nyírófeszültség eloszlása nagymértékben befolyásolta az arterio-venosus fistula érését és a hurok alakú véna graft arterializációját. Megvastagodott intimát találtunk mindkét csoportban egymástól teljesen különböző áramlástanban környezetben, amit arra enged következtetni, hogy az áramlási komponensek több meghatározott kombinációja is képes hasonló szövettani elváltozásokat előidézni.

Ahhoz, hogy a szövettani metszeteket pontosan összetudjuk hasonlítani a 3D-s modelleken végzett szimulációkkal, minden eret egy meghatározott protokoll szerint dolgoztunk fel és jól azonosítható képleteket határoztunk meg jelölési pontokként. Az érátmérő és a geometria lefutása a fistulának és a „loopnak” szintén nagy pontossággal és alacsony szórással megítélhető makroszkóposan (IV. és V. táblázat).

A fistula jelentős távoli elváltozásokat okozott. Mivel folyamatosan elvezeti az artériás vért, így az állat vérnyomásának fenntartása többletmunkát igényel, ez a szív balkamra falának megvastagodását okozta. Az arterio-venosus kapcsolat miatt nő a vénás nyomás a fistulától proximálisan, ez pedig a jobb kamrát terheli. A szövettani metszeteken mindkét szívkamra falának szignifikáns megvastagodását láttuk. Emellett a fokozott véráramlás miatt az operált láb felé vezető iliacalis erek átmérője szintén jelentősen megvastagodott.

A legtöbb lokális szövettani változás, amit megfigyeltünk a szakirodalomban már leírták, hiszen a fistula érése és a véna graft arterializációja jól ismert és kutatott jelenség. A folyamat során a tunica media megvastagodik, az érátmérő megváltozik és végső soron a véna alkalmazkodik az új környezetéhez. Ehhez különböző molekuláris jelátviteli útvonalak és mediátorok járulnak hozzá (pl. VEGF, TN-C, ERK stb).^{69,123,132,133} Az ér szöveteinek átalakulása kórosan is megtörténhet, ilyenkor intima hyperplasia keletkezik, ami szűkítheti vagy akár el is zárhatja az ér lumenét. Ezt szintén számos mediátor szabályozza, többek között a thromboxan A-1, IGF-1, TGF-B.^{129,131} Az imént leírt folyamatokat a véráramlás tulajdonságai, mint a nyomás, az áramlási sebesség, a fal nyírófeszültség képesek befolyásolni.^{125,218,219}

A hurok alakú véna graft csoportban jellegzetes arterializálódási folyamatot figyeltünk meg, amely során tunica media megvastagodás volt érátmérő növekedés nélkül, valamint

néhány területen intima hyperplasia.⁶⁸ A fistulaként kialakított SIEV jól mutatta a fistula érésre jellemző elváltozásokat: átmérő növekedés, mérsékelt fal megvastagodás, helyenként intima hyperplasia.¹³¹

Az vér áramlása során makroszkóposan azt figyeltük meg, hogy a fistulától proximalisan igen hamar laminárisra változik a vér áramlása a vénában: az exploratív laparotómia során egy vékony élénk piros csík volt látható a vena cava caudalis-ban. Ezt visszakövetve láttuk, hogy ez a nem összekeveredett artériás vér, mely a SIEV-n keresztül ömlik be a vénás rendszerbe.

Öt hét arterializációt követően a nyírófeszültség mintázat homogénne vált a „loop” csoportban (63. ábra). Ez egybevág a szakirodalommal, ahol leírják, hogy a morfológiai változások az artériában a nyírófeszültség emelkedésére törekcszenek, mivel ez egy indirekt jele lehet a jó szöveti perfúciónak.^{217,220} A „loopban” megjelenő intima hyperplasia foltok elhelyezkedése jól egybevágott az arterializáció előtti szimuláción mutatott alacsony nyírófeszültségű területekkel. Ez a hurok belső ívét jelentette, valamint a distalis anastomosis területét, ahol körkörösén alacsony fali nyírófeszültség értékeket láttunk (56. és 69. ábra). A homogenizálódott nyírófeszültség mintázatot a követéses időszak végére feltehetően az intima megvastagodása eredményezte, ezzel is mutatva a technika pontosságát. Az áramlási szimuláció így képest lehet előre jelezni a várható szövettani elváltozásokat.

Az érfal a fistula csoportban eltérően viselkedtek a „loop” csoporthoz képest az érés során. Az öt hetes vizsgálati időszakot követően az áramlási mintázat szegmentáltá vált. Érdekes módon a SIEV első milliméterénél, ahol a szimuláció is magas fali nyírófeszültséget és magas nyomást mutatott, részleges arterializációt láttunk. A véna ezen a szakaszon nem dilatált, ám a tunica media nem vastagodott meg úgy, mint ahogy azt az arterializáció során várnánk. Csak az ér felső falánál vastagodott meg, ahol a nyomás és a fali nyírófeszültség is egyszerre magas értéket mutatott (66. ábra). Az alsó falon csak mérsékeltén vastagodott meg a tunica media (66. ábra). Ez bizonyítja azt, hogy annak ellenére, hogy a nyomás circumferenciálisan hat, önmagában nem elég a szövettani változás indukálásához. Hiszen a tunica media megvastagodása az emelkedett fali nyírófeszültség nélkül nem jött létre. Az alsó falon alacsonyabb fali nyírófeszültség volt a felső falhoz képest mégsem láttunk intima hyperplasia képződést, úgy mint a „loopban”. Az emelkedett áramlási sebesség miatt kialakuló emelkedett nyírófeszültség a szimuláció adatai alapján még az alsó falon is magasabb értékeket mutatott, mint az artériában. Feltételezzük, hogy ez az emelkedett nyírófeszültség érték protektív hatása miatt nem fejlődött ki az intima megvastagodás. Elképzelhető, hogy létezik egy eddig ismeretlen fali nyírófeszültség érték, amely felett intima hyperplasia nem alakul ki.

A fistula distalis kétharmadában, ahol a nyomás alacsony, de a nyírfeszültség még egyenetlenül oszlik el, nem találtunk intima hyperplasiát. Lehetséges, hogy a nyomás és a nyírófeszültség értéke itt még nem volt kellően eltérő ahhoz, hogy intima megvastagodást

indukáljon. Érdekes módon, amikor megvizsgáltuk a SIEV és a vena femoralis találkozását egy jelenős intima hyperplasiás foltot, "hot-spot"-ot találtunk. Ez ott alakult ki, ahol a fistulából beáramló vér nekisúrlódik a femoralis véna falának (67. ábra). Itt alacsony nyomás és magas nyírófeszültség mellett jött létre a szöveti elváltozás. Tehát feltételezhető, hogy a magas és az alacsony fali nyírófeszültség is okozhat intima hyperplasiát a nyomás relatív arányának függvényében. Azaz, ha elég nagy a különbség a két érték között, mindegy hogy milyen irányban, intima hyperplasia keletkezhet.

Az áramlástan eredményeinket összegezve a következő megfigyeléseket vonhatjuk le. Amennyiben a nyomás és fali nyírófeszültség magas értéket mutat, amely egy artériának megfelelő, arterializáció fog bekövetkezni. Viszont a fali nyírófeszültség hiányában intima hyperplasiát találunk. Ha a két érték mérsékelt, jelentős átmérő növekedés és mérsékelt tunica media megvastagodás lesz a jellemző szöveti elváltozás. Amikor csak a nyomás mérsékelt, de a nyírófeszültség alacsony, visszeresség keletkezhet.²²¹ Fordított helyzetben pedig, amikor alacsony nyomáson magas nyírófeszültséget látunk, ismételt intima hyperplasia jelenhet meg. Végül pedig, ha mindkét érték alacsony, az vénás kondíciónak felel meg.

A szimulációs mérőmódszer a kutatás mellett a mikrosebészeti oktatás során is jól alkalmazható az anastomosisok áramlástan elemzésének segítségével. A szimuláció során kimutatott „hot-spotok” és várható szövettani elváltozások interaktív módon képesek visszajelzést adni, arra készítve a résztvevőket, hogy a legjobb gyakorlatot sajátítsák el az áramlási szimulációk alapján.

Az arterio-venosus fistula és a hurok alakú véna graft jelenlétének hatását vizsgáltuk a haematologiai, haemorheologiai és mikrokeringési paraméterekre is. Azt figyeltük meg, hogy a korai változásokért legfőképpen a műtéti stressz felelős. Mivel a „loop” csoportban végeztük a legjelentősebb műtéti beavatkozást, ezért itt találtuk a legjelentősebb változásokat is a korai posztoperatív időszakban. Azonban ezek az eltérések mind normalizálódtak az ötödik posztoperatív hét végére. A fistula csoportban, mivel a műtét kevesebb stresszel járt, így kevesebb korai eltérést tapasztaltunk. Azonban a fistula folyamatos jelenléte jelentős késői eltérések okozott a haematologiai, haemorheologiai és a mikrokeringési paraméterekben.

A kísérlet során számítottunk valamilyen fokú vörösvérsejt károsodásra két jelenség megjelenése miatt is. Az első az, hogy amikor egy artériát összekötnek egy vénával fistula képzés során a jelentős nyomás grádiens miatt nagyságrendekkel megnőhet a vér áramlási sebessége.^{146,148} Annak ellenére, hogy a fistula érése közben az érátérő megnövekedik és ebből kifolyólag az áramlási sebesség lelassul, a vér sebessége továbbra is messze meghaladja a fiziológiás tartományt a nyírófeszültséggel együtt.¹⁴⁶ A szélsőséges viszonyok ellenére az érfal az arterializáció révén képes adaptálódni az új környezethez a hurokban.⁶⁸ A kisebb érátérő ellenére is alacsonyabb az áramlási sebesség a csökkent nyomás grádiens miatt. Ebből

következik, hogy a nyírófeszültség is kisebb a fistulához képest. A második ok pedig a várható IH képződés volt, mely az ér lument beszűkítheti és így átmérő és ér geometriai változásokat okozhat.^{118,138} A stenosis hatására megváltozhat az áramlási mintázat laminárisról turbulensre, ez megemeli a folyadékban a nyíróerőket, ami mechanikai stresszt jelent a vörösvérsejtek számára.²²²⁻²²⁴ A fistula kialakítása miatt számítottunk a "steal-szindróma" megjelenésére is, ami az operált lábon hypoperfuziót idézhet elő.²²⁵ Az érsebészeti beavatkozások miatt az operált végtagokon változó mértékű keringési elégtelenség jöhet létre vagy akár krónikus ischaemia is kialakulhat. Ennek következtében megemelkedhet a hypoxia-indukált faktor 1 szintje, amely hatására fokozódhat az erythropoetin termelés.^{226,227} Ennek hatására fokozódik a vörösvérsejtek termelése és ezáltal megváltoznak a mért, vonatkozó haematologiai és haemorheologiai értékek. A vörösvérsejt termelés mellett az erythropoetin számos egyéb folyamatot is befolyásolhat, mint például az érfal működését.²²⁸ Emellett az erythropoetin fokozza az AVF stenosis kialakulásának valószínűségét.²²⁹

A műtési stresszből kifolyólag számos paraméter megváltozott, de ezek mind várható eltérések voltak. A „loop” kialakításához több preparálásra van szükség, így nagyobb a szövi sérülés és a vérzés mértéke is. Mivel minden műtét okoz valamilyen fokú akut fázis reakciót, ez az előbb említettekkel együtt magyarázhatja az 1. posztoperatív héten megfigyelt jelentős változásokat. A többi csoportban alkalmazott kisebb műtési stresszt okozó beavatkozások feltehetően ezért okoztak kevésbé jelentős változásokat, ezen eredmények a szakirodalommal egybevágóak.²³⁰⁻²³² Az MCV érték a PO1. héten egy jelentős csúcsot mutatott a „loop” csoportban. Ez feltehetően a nagyobb mértékű vérvesztés következménye. A szakirodalmon ugyanis ismert, hogy komolyabb vérvesztést követően kompenzatórikus mechanizmusként nő a vörösvérsejtek térfogata a vöröscsontvelői képzősejtek felgyorsult szaporodását követően.²³³ A vérlemezke szám is említésre méltóan megemelkedett az első posztoperatív héten, ezt szintén okozhatta a vérvesztés, valamint a műtétet követő steril gyulladás (VIII. táblázat).^{234,235} Meglepő eredmény volt, hogy a fistula csoportban a kutatás végére a PO5 héten a vizsgált haematologiai értéke megemelkedtek. A fistulának ezen hatását eddig nem írták le. Feltételeztük, hogy a „steal”-mechanizmus révén a hátsó végtag egy krónikus ischaemiás állapotba került. Ennek hatására az ischaemia mediált metabolitok megemelték a vörösvérsejt számot egyfajta kompenzatórikus mechanizmusként.^{227,236} Ez a hatás elképzelhető, hogy csak azért volt ilyen jelentős, mert a fistulát a femoralis artérián képeztük ki, ami képest ilyen jelentős mennyiségű vért elvezeti a „steal”-szindróma révén. Mindezt anélkül, hogy észrevehetően befolyásolja a távoli szervek, mint a vese, máj keringését. Nem úgy, mint a carotido-jugularis fistula, ami patkányokon olyan cardiális terhet okoz a távoli szervek keringés károsodása mellett, hogy az állat 6-8 héttel a műtétet követően el is pusztulhat.²³⁷ A krónikus végtagi ischaemia hatására fennálló folyamatos gyulladásos állapot emelkedett szinten tartotta

a fehérvérsejt számot is az utánkövetéses időszak teljes hossza alatt (VIII. táblázat). Ez magyarázhatja, hogy a fehérvérsejt szám miért nem normalizálódott a kutatás végére a fistula csoportban a többi csoporthoz képest.

Mivel a vénás és az artériás vér keveredik a fistula jelenlétében ezért várható volt, hogy változást tapasztalhatunk a vénás vagy artériás vér összetételében. Emelkedett kisvérköri nyomás szintén kialakulhat fistula kialakítását követően.²³⁸ A szakirodalomban leírtakkal ellentétben a kutatásunkban nem csökkent a $p\text{CO}_2$ érték a pulmonális hipertenzió hatására.^{239,240} Ez azt sugallja, hogy a patkányokban a kisvérkör képes kompenzálni a femoralisan kialakított AVF hatását. Mivel a $p\text{CO}_2$ érték megemelkedett, ezért a $p\text{O}_2$ érték szignifikánsan csökkent. A vér oxigenizációs szintje, szaturációja képest befolyásolnia a vörösvérsejtek deformabilitását is.²⁴¹ Ezért az előbb említett változások hozzájárulhattak az ötödik posztoperatív héten mért haemorheológiai eltérésekhez a fistula csoportban. Hiszen a legmagasabb $p\text{O}_2$ értékeket a fistula csoportban mértük az ötödik posztoperatív héten, azonban az alacsony esetszám és a magas szórás miatt a különbség nem volt szignifikáns. Ezek a vérgáz változások szintén serkenthetik a vérképzést. A vénás és a vena cava caudalis-ból származó kevert vér összehasonlítás a során szignifikánsan emelkedett $p\text{O}_2$ és cukor szintet találtunk a kevert vérben. Az oxigénnek fontos szabályozó szerepe van a kisvérköri kapillárisok mikrokeringésében. Az emelkedett vénás oxigén szint fokozhatja a pulmonális hipertenziót és ezáltal csökkentheti a tüdő perfúzióját.

A vörösvérsejt deformabilitás értékei jelentősen csökkentek a PO1. héten a „loop” csoportban, ami jól korrelált a haematológiai adatokkal. Ezt azt jelentheti, hogy a posztoperatív gyulladás és a mechanikai trauma a még éretlen graftban káros volt a vörösvérsejtek számára. A graft érése során a turbulens áramlás mértéke és nyírófeszültség csökkent, így a deformabilitás értékek képesek normalizálódni. Ez várhatóan 4-6 hét, ami teljes graft érés átlagos hossza.^{118,242} Az EI_{max} értékek szintén normalizálódtak a PO5. hét végére a fistula csoport értékeit leszámítva.

A nyírófeszültség fiziológiás értékei változnak az anatómiai lokalizáció függvényében. Az arteriolákban akár 5 Pa is lehet, míg a nagyobb vénákban 0,1-0,5 Pa, ezzel szemben a fistulában jóval magasabb nyírófeszültség értékekre számíthatunk.^{243,244} A hurok alakú véna grafttal ellentétben a fistula átmérője jelentősen növekszik az érés következtében. Ez mérsékelten csökkenti az áramlási sebességet, és ebből kifolyólag a nyírófeszültséget is. Azonban még így is az áramlás jelentősen eltér egy fiziológiás érhez képest.²⁴⁵ A mérsékelten emelkedett nyírófeszültség javíthatja a vörösvérsejtek deformabilitását NO felszabadítása révén.^{246,247} Ez alátámasztja a kutatási eredményeinket, hiszen a fistula csoportban a posztoperatív ötödik héten a vér áramlása továbbra is patológiásnak számít. Ahogy korábban említettük a krónikus végtagi ischaemia a vörösvérsejtszám emelkedését okozta. Azt feltételezzük, hogy az ekkor keletkező

fiatal vörösvérsejtek nagymértékű megjelenése a vérben volt az, amit a deformabilitás értékek megváltozását, javulását eredményezte. Ismert tény, hogy a fiatal vörösvérsejtek deformabilitása magasabb, tehát az emelkedett fiatal/öreg vörösvérsejt arány javíthatta a mért deformabilitás paramétereit.^{248,249} Az erythrocyta aggregatio az EI_{max} értékekhez hasonlóan viselkedett, csak a fistula csoportban láttunk emelkedést a követéses időszak végére. Mivel a végtag mikrokeringése már jelentősen károsodott a fistula hatására a krónikus ischaemia révén, ezeket a haemorheológiai eltérések is kifejezett hatással lehetnek a distalis mikrokeringésre.^{141,250,251}

A korábban leírt változások megmutatkoztak a laser Doppler-es vizsgálatok eredményeiben is. A fistula csoportban, ahol a legjelentősebb haemorheológiai változások történtek, a microcirculatio jelentősebben károsodott. Nem csak az operált hátsó végtag, hanem az ellenoldali végtag mikrokeringése is szignifikánsan csökkent. Feltételeztük, hogy ezt a csökkenést a haemorheológiai változások okozták, és ezért volt mindkét hátsó végtag laser Doppler-es mérési eredményei jelentősen alacsonyabban a többi csoporthoz képest. A „steal”-szindróma ugyanis csak az operált végtag keringését képes csökkenteni. Tehát a haemorheológiai eredmények azt sugallják, hogy a szisztémás mikrokeringés nagyobb eséllyel károsodhat a fistula jelenlétében.

6. FŐBB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Biopreparátumokon és *ex vivo* ereken végzett biomechanikai vizsgálatok során az egyszerű csomós a tova futó és a módosított Lauritzen-féle „sleeve” technika összehasonlításával kimutattuk, hogy a „sleeve” technika kivitelezése a leggyorsabb, azonban a nyomás tűrő képessége ennek a módszernek a legkisebb. A csomós és a tova futó 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 vizsgálhatók 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.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Az anastomosisok biomechanikai vizsgálatai során nem találtunk érdemi eltérést a csomós és a tova futó varrat típus között. Azonban a "sleeve" technika jelentősen nagyobb nyomás esést eredményezett a többi csoporthoz képest. Valamint szignifikánsan gyorsabban és kevesebb öltéssel elkészíthető. Az általunk használt erek és varróanyag mellett 8 öltésnél több öltést szükséges. Ennyi öltés esetén az anastomosisok biomechanikai tulajdonságai is jelentősen csökkent a többi csoporthoz képest. A csomózási technika és a varróanyag megsértése szintén szignifikáns hatása van a szakítószilárdságra. A nyomásesés és a szakító szilárdság mérése tréningek során hasznos információkat nyújthat a résztvevők számára.

A biomechanikai kutatások eredményeire támaszkodva a patkány kísérletek során a legalkalmasabb anastomosis technikának a csomós öltést találtuk. Ezt biztosította számunkra ilyen kis érkaliber esetén, a legkevesebb torzulást, és a legalacsonyabb szövődmény rátát.

Patkányban sikeresen kialakítottunk egy olyan modellt, mely alkalmas lehet különböző áramlási mintázatok vizsgálatára. Az erek 5 hét alatt sikeresen megértek illetve arterIALIZálódtak. Makroszkóposan a "loop" és a fistula jelentős morfológiai változásokon ment keresztül, az érés illetve az arterIALIZáció során. Az áramlási szimuláció által mutatott egyenetlen áramlási mintázat jól egybevágtott a szövettani eredményekkel. A "loop" csoportban az alacsony nyírófeszültségű területeken találtunk IH képződést magas nyomás mellett, ezzel szemben a tunica media egyenetlenül vastagodott meg. A fistulában magas nyomás és alacsony nyírófeszültség és ennek ellentétje esetén is találtunk IH képződést. A tunica media egyenetlenül vastagodott meg. Tehát az eredményeink az sugallják, hogy IH a nyomás és a nyírófeszültség fordított arányossága esetén alakul ki.

A haematológiai és haemorheológiai értékeket a PO1 héten mutatták a legjelentősebb változást, a "loop" csoportban. Ezek hátterében a nagyobb műtéti stressz állhat, a hossza műtét és a jelentősebb vérzés miatt. Azonban ezek az eltérések a PO5 hétre normalizálódtak, kivéve a fistula csoportban ahol a haematológiai és haemorheológiai értékek emelkedettek voltak. Feltehetően a fistula által fenntartott krónikus végtagi ischaemia okozta ezeket az elváltozásokat a "steal-szindróma" révén. Ezek az eltérések a mikrokeringés adataiban is meglátszódtak. A fistula közvetlenül és közvetve is csökkentette a végtagi mikrokeringést. Emellett a vér keveredésével a vénás oxigén és glükóz értékek is jelentősen megemelkedtek. Tehát a fistula komolyabb szisztémás elváltozásokat okozott, így károsodott mikrokeringésű betegek esetén kialakításának következtében tovább csökkenhet a szöveti perfúzió.

Summary

During the anastomoses' biomechanical comparison, we found no notable differences between the single interrupted and the continuous suture. However, the sleeve technique shows the highest pressure drop and it was the fastest to make with the least amount of stitches. In case of our study with the vessel and thread we used more than 8 stitch is required. This many or less amount of stitches severely impaired the biomechanical properties of the anastomosis compared to the other groups. The noting technique and the thread damage has also notable effect on the tensile strength.

Using our biomechanical result, we decided that the most adequate technique to be used is the simple interrupted stitch for our microsurgical rat experiments. This method provided the least amount of deformation in case of small vessel caliber, with the smallest complication rate.

We were able to design a model which allowed us to examine several different flow characteristic patterns. After five week all vessel successfully matured and arterialized. The macroscopic morphological examination showed several notable changes in both the fistula and the loop after maturation and arterialization. The uneven flow pattern seen in the flow simulation coincided with the histological findings. In the loop group we found IH formation in at the low wall shear stress regions under high pressure, however in the tunica median enlarged evenly. In case of the fistula high pressure and low wall shear stress an also the opposite of this condition caused IH. The tunica media unevenly enlarged in the fistula. This suggest that in case of the presence of an inverse relationship between the shear stress and pressure is when IH arises.

The hematological and hemorheological values showed the biggest decrease at the PO1 week in the loop group. We think that the bigger surgical stress caused by the longer surgery and the more significant bleeding is what caused notable the alterations. However, all values normalized by the end of the PO5 week, except in the fistula group where the hematological and hemorheological values become elevated. We hypothesized that the chronic ischemic state of the operated hind limb caused by the fistula caused this thought the steal-syndrome.

These alterations were also visible in the microcirculatory values. The fistula decreased local and systemic the hind limbs microcirculation. In addition the mixing of the arterio-venous blood caused the elevation of the oxygen and glucose level in the venous blood. Therefore, the fistula caused much greater systemic changes, thus patients with already damaged microcirculation the formation of a fistula can further impair the tissue perfusion.

8. IRODALOMJEGYZÉK

8.1. Hivatkozott közlemények jegyzéke

- 1 Barnes RW. Current challenges in peripheral vascular surgery: traditions in transition. *Cardiovasc Surg.* 1993;1(2):97–102.
- 2 Bassiouny HS, White S, Glagov S, Choi E, Giddens DP, Zarins CK. Anastomotic intimal hyperplasia: mechanical injury or flow induced. *J Vasc Surg.* 1992;15(4):708–716; discussion 716–717.
- 3 Andrews JC. Vascular complications following liver transplantation. *Semin Intervent Radiol.* 2004;21(4):221–233.
- 4 Pakosz-Golanowsha M, Lubikowski J, Post M et al. The arterial anastomosis in liver transplantation: complications, treatment and outcome. *J Hep.Gastro.* 2010;57(104):1477–1482.
- 5 Hayashi T, Sumiyoshi A. [Intimal injury and thrombus formation]. *Rinsho Ketsueki.* 1991;32(5):462–466.
- 6 Srivastava A, Kumar J, Sharma S, Abhishek, Ansari MS, Kapoor R. Vascular complication in live related renal transplant: An experience of 1945 cases. *Indian J Urol.* 2013;29(1):42–47.
- 7 Treiman GS, Weaver FA, Cossman DV et al. Anastomotic false aneurysms of the abdominal aorta and the iliac arteries. *J Vasc. Surg.* 1988;8(3):268–273.
- 8 Loree HM, Kamm RD, Atkinson CM, Lee RT. Turbulent pressure fluctuations on surface of model vascular stenoses. *Am J Physiol.* 1991;261(3 Pt 2):H644–650.
- 9 Bluestein D. Utilizing Computational Fluid Dynamics in Cardiovascular Engineering and Medicine—What You Need to Know. Its Translation to the Clinic/Bedside. *Artif Organs.* 2017;41(2):117–121.
- 10 Jimenez M, Daret D, Choussat A, Bonnet J. Immunohistological and ultrastructural analysis of the intimal thickening in coarctation of human aorta. *Cardiovascular Research.* 1999;41(3):737–745.
- 11 Liu H, Wang H. Early Detection System of Vascular Disease and Its Application Prospect. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1723485.
- 12 Qanadli SD. Research in Vascular Medicine: Where We Are and Where We Are Going. *Front Cardiovasc Med.* 2020;7:45.
- 13 Harlow FH. Fluid dynamics in Group T-3 Los Alamos National Laboratory: (LA-UR-03-3852). *J Comp. Phys.* 2004;195(2):414–433.
- 14 Fillinger MF, Reinitz ER, Schwartz RA et al. Graft geometry and venous intimal-medial hyperplasia in arteriovenous loop grafts. *J Vasc Surg.* 1990;11(4):556–566.
- 15 Heise M, Krüger U, Rückert R, Pfitzmann R, Neuhaus P, Settmacher U. Correlation of intimal hyperplasia development and shear stress distribution at the distal end-side-anastomosis, in vitro study using particle image velocimetry. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003;26(4):357–366.
- 16 Jia L, Wang L, Wei F et al. Effects of wall shear stress in venous neointimal hyperplasia of arteriovenous fistulae. *Nephrol. (Carlton).* 2015;20(5):335–342.
- 17 Li G, Wang H, Zhang M et al. Prediction of 3D Cardiovascular hemodynamics before and after coronary artery bypass surgery via deep learning. *Commun Biol.* 2021;4(1):1–12.
- 18 Siallagan D, Loke Y-H, Olivieri L et al. Virtual surgical planning, flow simulation, and 3-dimensional electrospinning of patient-specific grafts to optimize Fontan hemodynamics. *J Thorac. and Cardiovasc. Surg.* 2018;155(4):1734–1742.
- 19 Burkhardt R, Preiss A, Joss A, Lang NP. Influence of suture tension to the tearing characteristics of the soft tissues: an in vitro experiment. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(3):314–319.
- 20 MacDonald JD. Learning to Perform Microvascular Anastomosis. *Skull Base.* 2005;15(3):229–240.
- 21 Deng MC. Cardiac transplantation. *Heart.* 2002;87(2):177–184.
- 22 Merlini MP. End-to-end anastomosis between two vessels of different size. *Eur J Vasc. Surg.* 1990;4(6):643–644.
- 23 Odobescu A, Moubayed SP, Daniels E, Danino MA. Horizontal mattress technique for anastomosis of size-mismatched vessels. *Plast Surg (Oakv).* 2015;23(2):100–102.
- 24 Santoro D, Benedetto F, Mondello P et al. Vascular access for hemodialysis: current perspectives. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2014;7:281–294.

- 25 Wani ML, Ahangar AG, Ganie FA, Wani SN, Wani N. Vascular Injuries: Trends in Management. *Trauma Mon.* 2012;17(2):266–269.
- 26 Decherd ME, Calhoun KH. The Effect of Tension on Patency of Rat Femoral Artery Anastomoses. *Arch Facial Plast Surg.* 2003;5(1):83–85.
- 27 Russell R, Nightingale M, O'Brien B. The effects of tension on microvascular anastomoses. *Eur J Plast. Surg.* 1980;5:223–233.
- 28 Furka I, Brath E, Nemeth N, Miko I. Learning microsurgical suturing and knotting techniques: comparative data. *Microsurg.* 2006;26(1):4–7.
- 29 Price J, Naik V, Boodhwani M, Brandys T, Hendry P, Lam B-K. A randomized evaluation of simulation training on performance of vascular anastomosis on a high-fidelity in vivo model: the role of deliberate practice. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011;142(3):496–503.
- 30 Radad K, El-Shazly M. Clinical and pathological assessment of different suture techniques for microvascular anastomosis in rat femoral artery. *J Vet Sci.* 2007;8(3):269–273.
- 31 Schlechter B, Guyuron B. A comparison of different suture techniques for microvascular anastomosis. *Ann Plast Surg.* 1994;33(1):28–31.
- 32 Simşek T, Eroglu L, Engin MS, Kaplan S, Yildiz L. End-to-end microvascular anastomosis in the rat carotid artery using continuous horizontal mattress sutures. *J Reconstr Microsurg.* 2006;22(8):631–640.
- 33 Heylen L, Pirenne J, Samuel U et al. The Impact of Anastomosis Time During Kidney Transplantation on Graft Loss: A Eurotransplant Cohort Study. *Am J Transplant.* 2017;17(3):724–732.
- 34 Lauritzen C. A new and easier way to anastomose microvessels. An experimental study in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1978;12(3):291–294.
- 35 Peirovi H, Farnia P, Bahrami A, Mohsenifar Z, Kashani BS, Ghanavi J-E. Modified sleeve anastomosis in large muscular arteries of sheep. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005;30(4):381–385.
- 36 Harashina T, Irigaray A. Expansion of smaller vessel diameter by fish-mouth incision in microvascular anastomosis with marked size discrepancy. *Plast Reconstr Surg.* 1980;65(4):502–503.
- 37 Abou Taam S, Garbé J-F, Boufi M, Bossavy J-P, Ricco J-B. Experimental study of a novel mechanical connector for sutureless open arterial anastomosis. *J Vasc Surg.* 2012;55(1):210–215.
- 38 Alghoul MS, Gordon CR, Yetman R et al. From simple interrupted to complex spiral: a systematic review of various suture techniques for microvascular anastomoses. *Microsurg.* 2011;31(1):72–80.
- 39 Rozen WM, Whitaker IS, Acosta R. Venous coupler for free-flap anastomosis: outcomes of 1,000 cases. *Anticancer Res.* 2010;30(4):1293–1294.
- 40 Finnerty CC, Mabvuure NT, Ali A, Kozar RA, Herndon DN. The Surgically Induced Stress Response. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2013;37(5 0):21S-29S.
- 41 Iwasaki M, Edmondson M, Sakamoto A, Ma D. Anesthesia, surgical stress, and “long-term” outcomes. *Act. Anaesth. Taiw.* 2015;53(3):99–104.
- 42 Jose RR, Raja WK, Ibrahim AMS et al. Rapid prototyped sutureless anastomosis device from self-curing silk bio-ink. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2015;103(7):1333–1343.
- 43 Cope C, Lee K, Stern H, Pennington D. Use of the vascular closure staple clip applier for microvascular anastomosis in free-flap surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106(1):107–110.
- 44 Tozzi P. *Sutureless Anastomoses: Secrets for Success.* Steinkopff-Verlag Heidelberg, 2007 doi:10.1007/978-3-7985-1715-8.
- 45 Zeebregts CJ, Kirsch WM, van den Dungen JJ, van Schilfgaarde R, Zhu YH. Evolution of staples and clips for vascular anastomoses. *Int Surg.* 2004;89(3):152–160.
- 46 Cho S, Song IH. Cuff Technique for Small-Diameter Vascular Grafts in the Systemic Arterial Circulation of the Rat. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg.* 2018;51(6):423–426.
- 47 Li H, Gehrke C, Gale BK, Sant H, Coats B, Agarwal J. A New Vascular Coupler Design for End-to-End Anastomosis: Fabrication and Proof-of-Concept Evaluation. *J Med. Devi.* 2015;9(3). doi:10.1115/1.4029924.
- 48 Vokri L, Krasniqi X, Qavdarbasha A et al. The vascular connector, design of a new device for sutureless vascular anastomosis. *Ann Surg Innov Res.* 2014;8:8.

- 49 Bot GM, Bot KG, Ogunranti JO et al. The Use of Cyanoacrylate in Surgical Anastomosis: An Alternative to Microsurgery. *J Surg Tech Case Rep*. 2010;2(1):44–48.
- 50 Chang EI, Galvez MG, Glotzbach JP et al. Vascular anastomosis using controlled phase transitions in poloxamer gels. *Nat Med*. 2011;17(9):1147–1152.
- 51 Kim B-Y, Choi B-H, Huh J-Y, Lee S-H, Zhu S-J, Cho B-P. Microvascular anastomosis using cyanoacrylate adhesives. *J Reconstr Microsurg*. 2004;20(4):317–321.
- 52 Lang N, Pereira MJ, Lee Y et al. A Blood-Resistant Surgical Glue for Minimally Invasive Repair of Vessels and Heart Defects. *Scien. Trans. Med*. 2014;6(218):218ra6–218ra6.
- 53 Qassemayr Q, Michel G. A new method of sutureless microvascular anastomoses using a thermosensitive poloxamer and cyanoacrylate: an experimental study. *Microsurg*. 2015;35(4):315–319.
- 54 Davis CR, Rappleye CT, Than PA et al. Sutureless Microsurgical Anastomosis Using an Optimized Thermoreversible Intravascular Poloxamer Stent. *Plast Reconstr Surg*. 2016;137(2):546–556.
- 55 Desai M, Hamilton G. Graft Materials Past and Future. In: Fitridge R, Thompson M (eds). *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. University of Adelaide Press: Adelaide (AU), 2011.
- 56 Leon L, Greisler HP. Vascular grafts. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2003;1(4):581–594.
- 57 Alom S, Yang N, Bin Saeid J, Zeinah M, Harky A. Harvesting internal mammary artery: a narrative review. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2020;61(6):790–801.
- 58 Al-Sabti HA, Al Kindi A, Al-Rasadi K, Banerjee Y, Al-Hashmi K, Al-Hinai A. Saphenous vein graft vs. radial artery graft searching for the best second coronary artery bypass graft. *J Saudi Heart Assoc*. 2013;25(4):247–254.
- 59 Hu X, Zhao Q. Skeletonized internal thoracic artery harvest improves prognosis in high-risk population after coronary artery bypass surgery for good quality grafts. *Ann Thorac Surg*. 2011;92(1):48–58.
- 60 Harrison LH. Historical aspects in the development of venous autografts. *Ann Surg*. 1976;183(2):101–106.
- 61 Solaković E, Totić D, Solaković S. Femoro-popliteal bypass above knee with saphenous vein vs synthetic graft. *Bosn J Basic Med Sci*. 2008;8(4):367–372.
- 62 Sesto ME, Sullivan TM, Hertzner NR, Krajewski LP, O'Hara PJ, Beven EG. Cephalic vein grafts for lower extremity revascularization. *J Vasc Surg*. 1992;15(3):543–549.
- 63 Ambler GK, Twine CP. Graft type for femoro-popliteal bypass surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2:CD001487.
- 64 Campbell PA, McGeachie JK, Prendergast FJ. Vein grafts for arterial repair: their success and reasons for failure. *Ann R Coll Surg Engl*. 1981;63(4):257–260.
- 65 de Vries MR, Simons KH, Jukema JW, Braun J, Quax PHA. Vein graft failure: from pathophysiology to clinical outcomes. *Nat Rev Cardiol*. 2016;13(8):451–470.
- 66 Binns RL, Ku DN, Stewart MT, Ansley JP, Coyle KA. Optimal graft diameter: Effect of wall shear stress on vascular healing. *J Vasc Surg*. 1989;10(3):326–337.
- 67 Adcock GD, Adcock OT, Wheeler JR et al. Arterialization of reversed autogenous vein grafts: Quantitative light and electron microscopy of canine jugular vein grafts harvested and implanted by standard or improved techniques. *J Vasc Surg*. 1987;6(3):283–295.
- 68 Muto A, Model L, Ziegler K, Eghbali SDD, Dardik A. Mechanisms of vein graft adaptation to the arterial circulation: Insights into the neointimal algorithm and management strategies. *Circ J*. 2010;74(8):1501–1512.
- 69 Westerband A, Crouse D, Richter LC et al. Vein adaptation to arterialization in an experimental model. *J Vasc Surg*. 2001;33(3):561–569.
- 70 Janko MR, Bose S, Lawrence PF. Current status of treatment for aortic graft infection: When should cryopreserved allografts be used? *Sem Vasc Surg*. 2019;32(1):81–87.
- 71 Nevelsteen A, D'Hallewin MA, Deleersnijder J, Wouters L, Suy R. The human umbilical vein graft in below-knee femoropopliteal and femorotibial surgery: an eight year experience. *Ann Vasc Surg*. 1986;1(3):328–334.

- 72 Perera GB, Mueller MP, Kubaska SM, Wilson SE, Lawrence PF, Fujitani RM. Superiority of autogenous arteriovenous hemodialysis access: maintenance of function with fewer secondary interventions. *Ann Vasc Surg.* 2004;18(1):66–73.
- 73 Johnson TR, Tomaszewski JE, Carpenter JP. Cellular repopulation of human vein allograft bypass grafts. *J Vasc Surg.* 2000;31(5):994–1002.
- 74 Reilly B, Khan S, Dosluoglu H et al. Comparison of Autologous Vein and Bovine Carotid Artery Graft as a Bypass Conduit in Arterial Trauma. *Ann Vasc Surg.* 2019;61:246–253.
- 75 Rosenberg N, Thompson JE, Keshishian JM, VanderWerf BA. The modified bovine arterial graft. *Arch Surg.* 1976;111(3):222–226.
- 76 Kueri S, A. Kari F, Ayala Fuentes R, Sievers H-H, Beyersdorf F, Bothe W. The Use of Biological Heart Valves. *Dtsch Arztebl Int.* 2019;116(25):423–430.
- 77 Manji RA, Menkis AH, Ekser B, Cooper DKC. Porcine bioprosthetic heart valves: The next generation. *Am Heart J.* 2012;164(2):177–185.
- 78 Xiong Y, Chan WY, Chua AWC et al. Decellularized porcine saphenous artery for small-diameter tissue-engineered conduit graft. *Artif Organs.* 2013;37(6):E74–87.
- 79 Xu S, Lu F, Cheng L et al. Preparation and characterization of small-diameter decellularized scaffolds for vascular tissue engineering in an animal model. *BioMed Eng OnLine.* 2017;16(1):55.
- 80 Badylak SF, Lantz GC, Coffey A, Geddes LA. Small intestinal submucosa as a large diameter vascular graft in the dog. *J Surg Res.* 1989;47(1):74–80.
- 81 Lantz GC, Badylak SF, Hiles MC et al. Small intestinal submucosa as a vascular graft: a review. *J Invest Surg.* 1993;6(3):297–310.
- 82 Pashneh-Tala S, MacNeil S, Claeysens F. The Tissue-Engineered Vascular Graft—Past, Present, and Future. *Tissue Eng Part B Rev.* 2016;22(1):68–100.
- 83 Pellegata AF, Dominioni T, Ballo F et al. Arterial Decellularized Scaffolds Produced Using an Innovative Automatic System. *CTO.* 2014;200(6):363–373.
- 84 Quint C, Kondo Y, Manson RJ, Lawson JH, Dardik A, Niklason LE. Decellularized tissue-engineered blood vessel as an arterial conduit. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(22):9214–9219.
- 85 Brøyn T, Christensen O, Fossdal JE, Kordt KF, Kroese A, Myhre HO. Early complications with a new bovine arterial graft (Solcograft-P). *Acta Chir Scand.* 1986;152:263–266.
- 86 Schröder A, Imig H, Peiper U, Neidel J, Peterleit A. Results of a bovine collagen vascular graft (Solcograft-P) in infra-inguinal positions. *Eur J Vasc Surg.* 1988;2(5):315–321.
- 87 Ravi S, Chaikof EL. Biomaterials for vascular tissue engineering. *Regen Med.* 2010;5(1):107.
- 88 Walluscheck KP, Steinhoff G, Kelm S, Haverich A. Improved endothelial cell attachment on ePTFE vascular grafts pretreated with synthetic RGD-containing peptides. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1996;12(3):321–330.
- 89 Wong CS, Sgarioto M, Owida AA, Yang W, Rosenfeldt FL, Morsi YS. Polyethyleneterephthalate Provides Superior Retention of Endothelial Cells During Shear Stress Compared to Polytetrafluoroethylene and Pericardium. *Heart, Lung and Circ* 2006;15(6):371–377.
- 90 Yu H, Dai W, Yang Z et al. Smooth muscle cells improve endothelial cell retention on polytetrafluoroethylene grafts in vivo. *J Vasc Surg.* 2003;38(3):557–563.
- 91 Roll S, Müller-Nordhorn J, Keil T et al. Dacron® vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery – systematic review and meta-analysis. *BMC Surg.* 2008;8:22.
- 92 Kakisis JD, Antonopoulos C, Mantas G et al. Safety and efficacy of polyurethane vascular grafts for early hemodialysis access. *J Vasc Surg.* 2017;66(6):1792–1797.
- 93 Peng CW, Tan SG. Polyurethane grafts: a viable alternative for dialysis arteriovenous access? *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2003;11(4):314–318.
- 94 Raju S. PTFE grafts for hemodialysis access. Techniques for insertion and management of complications. *Ann Surg.* 1987;206(5):666–673.
- 95 Czichos H, Saito T, Smith LE. *Springer Handbook of Materials Measurement Methods.* Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- 96 Griffin M, Premakumar Y, Seifalian A, Butler PE, Szarko M. Biomechanical Characterization of Human Soft Tissues Using Indentation and Tensile Testing. *J Vis Exp.* 2016;(118):54872.
- 97 Davis JR. *Tensile Testing, 2nd Edition.* ASM International, 2004.

- 98 Durães L de C, Durães EFR, Lobato LF de C, Oliveira PG de, Sousa JB de. Correlation between bursting pressure and breaking strength in colonic anastomosis. *Acta Cir Bras*. 2013;28(6):447–452.
- 99 Gál P, Toporcer T, Vidinský B et al. Early changes in the tensile strength and morphology of primary sutured skin wounds in rats. *Folia Biol (Praha)*. 2006;52(4):109–115.
- 100 Holmdahl V, Backman O, Gunnarsson U, Strigård K. The Tensile Strength of Full-Thickness Skin: A Laboratory Study Prior to Its Use as Reinforcement in Parastomal Hernia Repair. *Front Surg*. 2019;6:69.
- 101 Jönsson K, Jiborn H, Zederfeldt B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. *Am J Surg*. 1983;145(6):800–803.
- 102 Rossi LF, Ramos RR, Kesterling D de M, Soldi M da S, Ely JB, d’Acampora AJ. Tensile strength study of the abdominal wall following laparotomy synthesis using three types of surgical wires in Wistar rats. *Acta Cir Bras*. 2008;23(1):73–77.
- 103 Yang W, Sherman VR, Gludovatz B et al. On the tear resistance of skin. *Nat Commun*. 2015;6(1):6649.
- 104 Wang C, Zhang W, Kassab GS. The validation of a generalized Hooke’s law for coronary arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(1):H66–73.
- 105 Zhang W, Wang C, Kassab GS. The mathematical formulation of a generalized Hooke’s law for blood vessels. *Biomater*. 2007;28(24):3569–3578.
- 106 Caro CG, Schroter RC, Pedley TJ, Seed WA (eds.). Solid mechanics and the properties of blood vessel walls. In: *The Mechanics of the Circulation*. Cambridge University Press: Cambridge, 2011, pp 86–104.
- 107 Christensen H, Langfelt S, Laurberg S. Bursting strength of experimental colonic anastomoses. A methodological study. *Eur Surg Res*. 1993;25(1):38–45.
- 108 Klein SL, Chen H, Israel-Graff J. A comparison by burst testing of three types of vascular anastomosis. *Microsurg*. 1998;18(1):29–32.
- 109 Klein SL, Israel JE, Kronengold RT. New burst test method for comparing strengths of blood vessel repairs. *Microsurg*. 1995;16(2):118–121.
- 110 Norbury KC, Kilpadi DV, Collins BA, Cunningham MR. Burst strength testing of porcine intestinal anastomoses following negative pressure therapy. *Surg Innov*. 2012;19(2):181–186.
- 111 Kiani MF, Pries AR, Hsu LL, Sarelius IH, Cokelet GR. Fluctuations in microvascular blood flow parameters caused by hemodynamic mechanisms. *Am J Physiol*. 1994;266(5 Pt 2):H1822–1828.
- 112 Mahalingam A, Gawandalkar UU, Kini G et al. Numerical analysis of the effect of turbulence transition on the hemodynamic parameters in human coronary arteries. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2016;6(3):208–220.
- 113 Luu VZ, Chowdhury B, Al-Omran M, Hess DA, Verma S. Role of endothelial primary cilia as fluid mechanosensors on vascular health. *Atheroscler*. 2018;275:196–204.
- 114 Van der Heiden K, Hierck BP, Krams R et al. Endothelial primary cilia in areas of disturbed flow are at the base of atherosclerosis. *Atheroscler*. 2008;196(2):542–550.
- 115 Frangos JA, Eskin SG, McIntire LV, Ives CL. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science*. 1985;227(4693):1477–1479.
- 116 Malek AM, Jackman R, Rosenberg RD, Izumo S. Endothelial expression of thrombomodulin is reversibly regulated by fluid shear stress. *Circ Res*. 1994;74(5):852–860.
- 117 Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol*. 1986;250(6 Pt 2):H1145–1149.
- 118 Browne LD, Bashar K, Griffin P, Kavanagh EG, Walsh SR, Walsh MT. The Role of Shear Stress in Arteriovenous Fistula Maturation and Failure: A Systematic Review. *PLoS One*. 2015;10(12).
- 119 Duque JC, Tabbara M, Martinez L, Cardona J, Vazquez-Padron RI, Salman LH. Dialysis Arteriovenous Fistula Failure and Angioplasty: Intimal Hyperplasia and Other Causes of Access Failure. *Am J Kidney Dis*. 2017;69(1):147–151.
- 120 Stolic R. Most Important Chronic Complications of Arteriovenous Fistulas for Hemodialysis. *MPP*. 2013;22(3):220–228.
- 121 Cunningham KS, Gotlieb AI. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest*. 2005;85(1):9–23.

- 122 Carroll GT, McGloughlin TM, Burke PE, Egan M, Wallis F, Walsh MT. Wall shear stresses remain elevated in mature arteriovenous fistulas: a case study. *J Biomech Eng.* 2011;133(2):021003.
- 123 Carroll GT, McGloughlin TM, O'Keeffe LM, Callanan A, Walsh MT. Realistic Temporal Variations of Shear Stress Modulate MMP-2 and MCP-1 Expression in Arteriovenous Vascular Access. *Cel Mol Bioeng.* 2009;2(4):591.
- 124 Carlier SG, van Damme LCA, Blommerde CP et al. Augmentation of wall shear stress inhibits neointimal hyperplasia after stent implantation: inhibition through reduction of inflammation? *Circulation.* 2003;107(21):2741–2746.
- 125 Krishnamoorthy MK, Banerjee RK, Wang Y et al. Hemodynamic wall shear stress profiles influence the magnitude and pattern of stenosis in a pig AV fistula. *Kidney Int.* 2008;74(11):1410–1419.
- 126 Mongrain R, Rodés-Cabau J. Role of Shear Stress in Atherosclerosis and Restenosis After Coronary Stent Implantation. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59(1):1–4.
- 127 Ballermann BJ, Dardik A, Eng E, Liu A. Shear stress and the endothelium. *Kidney Internat.* 1998;54:S100–S108.
- 128 Asif A, Roy-Chaudhury P, Beathard GA. Early Arteriovenous Fistula Failure: A Logical Proposal for When and How to Intervene. *CJASN.* 2006;1(2):332–339.
- 129 Curtis JJ, Stoney WS, Alford WC, Burrus GR, Thomas CS. Intimal hyperplasia. A cause of radial artery aortocoronary bypass graft failure. *Ann Thorac Surg.* 1975;20(6):628–635.
- 130 Li Y-SJ, Haga JH, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells. *J Biomech.* 2005;38(10):1949–1971.
- 131 Paszkowiak JJ, Dardik A. Arterial wall shear stress: observations from the bench to the bedside. *Vasc Endovascular Surg.* 2003;37(1):47–57.
- 132 Saunders PC, Pintucci G, Bizakis CS et al. Vein graft arterialization causes differential activation of mitogen-activated protein kinases. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004;127(5):1276–1284.
- 133 Wallner K, Li C, Fishbein MC, Shah PK, Sharifi BG. Arterialization of human vein grafts is associated with tenascin-C expression. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(3):871–875.
- 134 Gnasso A, Carallo C, Irace C et al. Association between intima-media thickness and wall shear stress in common carotid arteries in healthy male subjects. *Circulation.* 1996;94(12):3257–3262.
- 135 Sho E, Sho M, Singh TM et al. Arterial enlargement in response to high flow requires early expression of matrix metalloproteinases to degrade extracellular matrix. *Exp Mol Pathol.* 2002;73(2):142–153.
- 136 Zarins CK, Zatina MA, Giddens DP, Ku DN, Glagov S. Shear stress regulation of artery lumen diameter in experimental atherogenesis. *J Vasc Surg.* 1987;5(3):413–420.
- 137 Jeong Y, Yao Y, Yim EKF. Current understanding of intimal hyperplasia and effect of compliance in synthetic small diameter vascular grafts. *Biomater Sci.* 2020;8(16):4383–4395.
- 138 Subbotin VM. Analysis of arterial intimal hyperplasia: review and hypothesis. *Theor Biol Med Model.* 2007;4:41.
- 139 Holland CK, Brown JM, Scoutt LM, Taylor KJ. Lower extremity volumetric arterial blood flow in normal subjects. *Ultrasound Med Biol.* 1998;24(8):1079–1086.
- 140 Ku DN. Blood Flow in Arteries. *Ann Rev Fluid Mech.* 1997;29(1):399–434.
- 141 Libertiny G, Hands L. Lower limb deep venous flow in patients with peripheral vascular disease. *J of Vasc Surg.* 1999;29(6):1065–1070.
- 142 Thiriet M. Physiology and Pathophysiology of Venous Flow. In: Lanzer P (ed). *PanVasc Med.* Springer: Berlin, Heidelberg, 2015, pp 569–589.
- 143 Martinez-Quinones P, McCarthy CG, Watts SW et al. Hypertension Induced Morphological and Physiological Changes in Cells of the Arterial Wall. *Am J Hypertens.* 2018;31(10):1067–1078.
- 144 Anwar MA, Shalhoub J, Lim CS, Gohel MS, Davies AH. The effect of pressure-induced mechanical stretch on vascular wall differential gene expression. *J Vasc Res.* 2012;49(6):463–478.
- 145 Sharony R, Pintucci G, Saunders PC et al. Matrix metalloproteinase expression in vein grafts: role of inflammatory mediators and extracellular signal-regulated kinases-1 and -2. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006;290(4):H1651-1659.
- 146 Anderson CB, Etheredge EE, Harter HR, Codd JE, Graff RJ, Newton WT. Blood flow measurements in arteriovenous dialysis fistulas. *Surg.* 1977;81(4):459–461.

- 147 Hammes M. Hemodynamic and Biologic Determinates of Arteriovenous Fistula Outcomes in Renal Failure Patients. *Biomed Res Int*. 2015;2015. doi:10.1155/2015/171674.
- 148 Coppola G, Caro C. Arterial geometry, flow pattern, wall shear and mass transport: potential physiological significance. *J R Soc Interface*. 2009;6(35):519–528.
- 149 Karino T, Goldsmith HL, Motomiya M, Mabuchi S, Sohara Y. Flow patterns in vessels of simple and complex geometries. *Ann N Y Acad Sci*. 1987;516:422–441.
- 150 Ali H, Elbadawy A, Saleh M. Midterm outcomes of brachial arterio-arterial prosthetic loop as permanent hemodialysis access. *J Vasc Surg*. 2020;72(1):181–187.
- 151 Bunger CM, Kroger J, Kock L, Henning A, Klar E, Schareck W. Axillary-axillary interarterial chest loop conduit as an alternative for chronic hemodialysis access. *J Vasc Surg*. 2005;42(2):290–295.
- 152 Stephenson MA, Norris JM, Mistry H, Valenti D. Axillary-axillary interarterial chest loop graft for successful early hemodialysis access. *J Vasc Access*. 2013;14(3):291–294.
- 153 Iori F, Grechy L, Corbett RW et al. The effect of in-plane arterial curvature on blood flow and oxygen transport in arterio-venous fistulae. *Phys of Fluids*. 2015;27(3):031903.
- 154 Jodko D, Obidowski D, Reorowicz P, Jozwik K. Simulations of the blood flow in the arterio-venous fistula for haemodialysis. *Acta Bioeng Biomech*. 2014;16(1):69–74.
- 155 Sigovan M, Rayz V, Gasper W, Alley HF, Owens CD, Saloner D. Vascular Remodeling in Autogenous Arterio-Venous Fistulas by MRI and CFD. *Ann Biomed Eng*. 2013;41(4):657–668.
- 156 Hossler FE, Douglas JE. Vascular Corrosion Casting: Review of Advantages and Limitations in the Application of Some Simple Quantitative Methods. *Microsc Microanal*. 2001;7(3):253–264.
- 157 Krucker T, Lang A, Meyer EP. New polyurethane-based material for vascular corrosion casting with improved physical and imaging characteristics. *Microsc Res Tech*. 2006;69(2):138–147.
- 158 Van Steenkiste C, Trachet B, Casteleyn C et al. Vascular corrosion casting: analyzing wall shear stress in the portal vein and vascular abnormalities in portal hypertensive and cirrhotic rodents. *Laboratory Investigation*. 2010;90(11):1558–1572.
- 159 Baskurt OK, Meiselman HJ. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2013;53(1–2):23–37.
- 160 Bagge U, PI B. White blood cell rheology. An intravital study in man. *Adv Microcirc*. 1977;;7: 1–17.
- 161 Diez-Silva M, Dao M, Han J, Lim C-T, Suresh S. Shape and Biomechanical Characteristics of Human Red Blood Cells in Health and Disease. *MRS Bull*. 2010;35(5):382–388.
- 162 Kesmarky G, Toth K, Habon L, Vajda G, Juricskay I. Hemorheological parameters in coronary artery disease. *Clin Hemorheol Microcirc*. 1998;18(4):245–251.
- 163 Fife CE, Smart DR, Sheffield PJ, Hopf HW, Hawkins G, Clarke D. Transcutaneous oximetry in clinical practice: consensus statements from an expert panel based on evidence. *Undersea Hyperb Med*. 2009;36(1):43–53.
- 164 Chien S. Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Annu Rev Physiol*. 1987;49:177–192.
- 165 Jose S, Nd N, Sm V, Tg C, Ss S. The relationship between red blood cell deformability metrics and perfusion of an artificial microvascular network. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2014;57(3):275–289.
- 166 Jung F, Mrowietz C, Hiebl B, Franke RP, Pindur G, Sternitzky R. Influence of rheological parameters on the velocity of erythrocytes passing nailfold capillaries in humans. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2011;48(1):129–139.
- 167 Muravyov AV, Tikhomirova IA, Mikhaylov PV, Akhapkina AA, Ostroumov RS. Interrelations of Hemorheological Parameters and Microcirculation in Subjects with an Increased Blood Pressure. *Hum Physiol*. 2018;44(5):541–548.
- 168 Aarts PA, Banga JD, van Houwelingen HC, Heethaar RM, Sixma JJ. Increased red blood cell deformability due to isoxsuprine administration decreases platelet adherence in a perfusion chamber: a double-blind cross-over study in patients with intermittent claudication. *Blood*. 1986;67(5):1474–1481.
- 169 Bateman RM, Sharpe MD, Singer M, Ellis CG. The Effect of Sepsis on the Erythrocyte. *Int J Mol Sci*. 2017;18(9).

- 170 Hosseini SM, Feng JJ. How Malaria Parasites Reduce the Deformability of Infected Red Blood Cells. *Biophys J*. 2012;103(1):1–10.
- 171 Hughes GM, Kikuchi Y. Effects of Temperature on the Deformability of Red Blood Cells of Rainbow Trout and Ray. *J Marine Bio Ass UK*. 1988;68(4):619–625.
- 172 Kuzman D, Znidarcic T, Gros M, Vrhovec S, Svetina S, Zeks B. Effect of pH on red blood cell deformability. *Pflugers Arch*. 2000;440(5 Suppl):R193-194.
- 173 Lecklin T, Egginton S, Nash GB. Effect of temperature on the resistance of individual red blood cells to flow through capillary-sized apertures. *Pflugers Arch*. 1996;432(5):753–759.
- 174 Nemeth N, Deak A, Szentkereszty Z, Peto K. Effects and influencing factors on hemorheological variables taken into consideration in surgical pathophysiology research. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2018;69(1–2):133–140.
- 175 Somogyi V, Peto K, Deak A, Tanczos B, Nemeth N. Effects of aging and gender on micro-rheology of blood in 3 to 18 months old male and female Wistar (Crl:WI) rats. *Biorheology*. 2018;54(5–6):127–140.
- 176 Yang X-M, Liu J, Ji J, Xie J. Effects of dexmedetomidine on the deformability of erythrocytes in vitro and in anesthesia. *Exp and Ther Med*. 2014;7(6):1631–1634.
- 177 Yao C, Huang Y, Li X, Ruan P. Effects of pH on structure and function of single living erythrocyte. *ChinSciBull*. 2003;48(13):1342–1346.
- 178 Nemeth N, Berhes M, Kiss F et al. Early hemorheological changes in a porcine model of intravenously given E. coli induced fulminant sepsis. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2015;61(3):479–496.
- 179 Kiesewetter H, Jung F, Körber N et al. Microcirculation and hemorheology of children with type I diabetes. *Klin Wochenschr*. 1986;64(19):962–968.
- 180 Lippi G, Sanchis-Gomar F. Epidemiological, biological and clinical update on exercise-induced hemolysis. *Ann Transl Med*. 2019;7(12):270.
- 181 Telford RD, Sly GJ, Hahn AG, Cunningham RB, Bryant C, Smith JA. Footstrike is the major cause of hemolysis during running. *J App Physi*. 2003;94(1):38–42.
- 182 Kameneva MV, Antaki JF. Mechanical trauma to Blood. In: Baskurt OK, Meiselman HJ, Hardeman MR, Rampling MW (eds). *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press: Amsterdam ; Washington, DC, 2007, pp 27–206.
- 183 Yen J-H, Chen S-F, Chern M-K, Lu P-C. The effect of turbulent viscous shear stress on red blood cell hemolysis. *J Artif Organs*. 2014;17(2):178–185.
- 184 Sullivan B, Zoppo M, Yao A, Henderson PW. Simple Interrupted Microvascular Anastomosis: Review of Four Sutures Placement Sequences. *J Recons Microsurg Open*. 2020;05(2):e101–e106.
- 185 Greene EC. Anatomy of the Rat. *Nature*. 1936;137(3466):001–559.
- 186 Green CJ, Knight J, Precious S, Simpkin S. Ketamine alone and combined with diazepam or xylazine in laboratory animals: a 10 year experience. *Lab Anim*. 1981;15(2):163–170.
- 187 Tsukamoto A, Niino N, Sakamoto M, Ohtani R, Inomata T. The validity of anesthetic protocols for the surgical procedure of castration in rats. *Exp Anim*. 2018;67(3):329–336.
- 188 Krag C, Holck S. The value of the patency test in microvascular anastomosis: correlation between observed patency and size of intraluminal thrombus: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg*. 1981;34(1):64–66.
- 189 Pandya AN, Vaingankar N, Grant I, James NK. End-to-side venous anastomoses... a patency test. *Br J Plast Surg*. 2003;56(8):810–811.
- 190 Roohi SA. *Tips and Tricks in Microvascular Anastomoses*. IntechOpen, 2020
- 191 Casal D, Pais D, Iria I et al. Blood Supply to the Integument of the Abdomen of the Rat: A Surgical Perspective. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2017;5(9):e1454.
- 192 Valdatta L, Congiu T, Thione A, Buoro M, Faga A, Dall’Orbo C. Do superficial epigastric veins of rats have valves? *Br J Plast Surg*. 2001;54(2):151–153.
- 193 van der Heijden GHM, Thompson JMT. Helical and Localised Buckling in Twisted Rods: A Unified Analysis of the Symmetric Case. *Nonlinear Dynam*. 2000;21(1):71–99.
- 194 Hu K. Terminal twist-induced writhe of DNA with intrinsic curvature. *Bull Math Biol*. 2007;69(3):1019–1030.
- 195 Moffatt HK. Helicity and singular structures in fluid dynamics. *PNAS*. 2014;111(10):3663–3670.

- 196 Caravan P, Ellison JJ, McMurry TJ, Lauffer RB. Gadolinium(III) Chelates as MRI Contrast Agents: Structure, Dynamics, and Applications. *Chem Rev.* 1999;99(9):2293–2352.
- 197 Arsos G, Kyparos A, Moralidis E et al. (99m)Tc-sestamibi uptake in rat skeletal muscle and heart: physiological determinants and correlations. *Physiol Res.* 2009;58(1):21–28.
- 198 Adamson RH. Microvascular endothelial cell shape and size in situ. *Microvasc Res.* 1993;46(1):77–88.
- 199 Garipcan B, Maenz S, Pham T et al. Image Analysis of Endothelial Microstructure and Endothelial Cell Dimensions of Human Arteries – A Preliminary Study. *Adv Eng Mat.* 2011;13(1–2):B54–B57.
- 200 Jones CG. Scanning electron microscopy: preparation and imaging for SEM. *Methods Mol Biol.* 2012;915:1–20.
- 201 Feldman AT, Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol Biol.* 2014;1180:31–43.
- 202 Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M et al. Parameterization of red blood cell elongation index-shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest.* 2009;69(7):777–788.
- 203 Hardeman MR, Goedhart PT, Shin S. Methods in hemorheology. In: Baskurt OK, Meiselman HJ, Hardeman MR, Rampling MW (eds). *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press: Amsterdam ; Washington, DC, 2007, pp 66–242.
- 204 Nemeth N, Szabo A. Microcirculation. In: Chen H, Martins P (eds). *Advances in Experimental Surgery*. Nova Science Publischer, 2017, pp 317–357.
- 205 Tera H, Aberg C. Strength of knots in surgery in relation to type of knot, type of suture material and dimension of suture thread. *Acta Chir Scand.* 1977;143(2):75–83.
- 206 Hill L. The Influence of the Force of Gravity on the Circulation of the Blood. *J Physiol.* 1895;18(1–2):15–53.
- 207 Murphy JB (John B. *Resection of arteries and veins injured in continuity-- end-to-end suture : experimental and clinical research*. New York : Publishers Printing Co., 1897.
- 208 Aitken E, Jeans E, Aitken M, Kingsmore D. A randomized controlled trial of interrupted versus continuous suturing techniques for radiocephalic fistulas. *J Vasc Surg.* 2015;62(6):1575–1582.
- 209 Uehara H, Kimura H, Aoyama A, Yamanobe T, Komoto T. Effects of knot characteristics on tensile breaking of a polymeric monofilament. *New J Phys.* 2007;9(3):65–65.
- 210 Godo ZA, Apro A, Madar J, Szabo B, Nemeth N. Microcontroller-based vein testing system. In: *2017 9th International Conference on Electronics, Computers and Artificial Intelligence (ECAI)*. IEEE: Targoviste, 2017, pp 1–6.
- 211 Lundberg G, Luo F, Blegen H, Kalin B, Wahlberg E. A rat model for severe limb ischemia at rest. *Eur Surg Res.* 2003;35(5):430–438.
- 212 Seifert FC, Banker M, Lane B, Bagge U, Anagnostopoulos CE. An evaluation of resting arterial ischemia models in the rat hind limb. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 1985;26(5):502–508.
- 213 Baeyens N, Bandyopadhyay C, Coon BG, Yun S, Schwartz MA. Endothelial fluid shear stress sensing in vascular health and disease. *J Clin Invest.* 2016;126(3):821–828.
- 214 Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Effects of shear stress on endothelial cells: go with the flow. *Acta Physiol (Oxf).* 2017;219(2):382–408.
- 215 Souilhol C, Serbanovic-Canic J, Fragiadaki M et al. Endothelial responses to shear stress in atherosclerosis: a novel role for developmental genes. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(1):52–63.
- 216 Weinbaum S, Zhang X, Han Y, Vink H, Cowin SC. Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(13):7988–7995.
- 217 Ward Michael R., Pasterkamp Gerard, Yeung Alan C., Borst Cornelius. Arterial Remodeling. *Circulation.* 2000;102(10):1186–1191.
- 218 Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2009;6(1):16–26.
- 219 Nemeth N, Peto K, Magyar Z et al. Hemorheological and Microcirculatory Factors in Liver Ischemia-Reperfusion Injury-An Update on Pathophysiology, Molecular Mechanisms and Protective Strategies. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1864.
- 220 Browne LD, Bashar K, Griffin P, Kavanagh EG, Walsh SR, Walsh MT. The Role of Shear Stress in Arteriovenous Fistula Maturation and Failure: A Systematic Review. *PLoS One.* 2015;10(12).

- 221 Tansey EA, Montgomery LEA, Quinn JG, Roe SM, Johnson CD. Understanding basic vein physiology and venous blood pressure through simple physical assessments. *Adv Phys Edu.* 2019;43(3):423–429.
- 222 Clark C. The propagation of turbulence produced by a stenosis. *J Biomech.* 1980;13(7):591–604.
- 223 Liu B. The influences of stenosis on the downstream flow pattern in curved arteries. *Med Eng Phys.* 2007;29(8):868–876.
- 224 Vahidkhah K, Cordasco D, Abbasi M et al. Flow-Induced Damage to Blood Cells in Aortic Valve Stenosis. *Ann Biomed Eng.* 2016;44(9):2724–2736.
- 225 Mascia S, Spiezia S, Assanti A et al. Ischemic steal syndrome in a hemodialysis patient: The roles of Doppler ultrasonography and dynamic Doppler studies in diagnosis and treatment selection. *J Ultrasound.* 2010;13(3):104–106.
- 226 Farsijani NM, Liu Q, Kobayashi H et al. Renal epithelium regulates erythropoiesis via HIF-dependent suppression of erythropoietin. *J Clin Invest.* 126(4):1425–1437.
- 227 Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev.* 2013;27(1):41–53.
- 228 Santhanam AVR, d’Uscio LV, Katusic ZS. Cardiovascular Effects of Erythropoietin: An Update. *Adv Pharmacol.* 2010;60:257–285.
- 229 Wärme A, Hadimeri U, Hadimeri H, Nasic S, Stegmayr B. High doses of erythropoietin stimulating agents may be a risk factor for AV-fistula stenosis. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(1):53–57.
- 230 McKenzie SB, Laudicina RJ. Hematologic changes associated with infection. *Clin Lab Sci.* 1998;11(4):239–251.
- 231 Arias J-I, Aller M-A, Arias J. Surgical inflammation: a pathophysiological rainbow. *J Transl Med.* 2009;7:19.
- 232 Toth C, Klarik Z, Kiss F et al. Early postoperative changes in hematological, erythrocyte aggregation and blood coagulation parameters after unilateral implantation of polytetrafluoroethylene vascular graft in the femoral artery of beagle dogs. *Act Cir Bras.* 2014;29(5):320–327.
- 233 Nagao T, Hirokawa M. Diagnosis and treatment of macrocytic anemias in adults. *J Gen Fam Med.* 2017;18(5):200–204.
- 234 Santhosh-Kumar CR, Yohannan MD, Higgy KE, al-Mashhadani SA. Thrombocytosis in adults: analysis of 777 patients. *J Intern Med.* 1991;229(6):493–495.
- 235 Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, Wennauer R, Bergmann L, Heimpel H. Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *J Int Med.* 1999;245(3):295–300.
- 236 Haase VH. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;299(1):F1–13.
- 237 Ghanem S, Somogyi V, Tanczos B, Szabo B, Deak A, Nemeth N. Modulation of micro-rheological and hematological parameters in the presence of artificial carotid-jugular fistula in rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(3):325–335.
- 238 Abassi Z, Nakhoul F, Khankin E, Reisner SA, Yigla M. Pulmonary hypertension in chronic dialysis patients with arteriovenous fistula: pathogenesis and therapeutic prospective. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15(4):353–360.
- 239 Hoepfer MM, Pletz MW, Golpon H, Welte T. Prognostic value of blood gas analyses in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J.* 2007;29(5):944–950.
- 240 Olsson KM, Sommer L, Fuge J, Welte T, Hoepfer MM. Capillary pCO₂ helps distinguishing idiopathic pulmonary arterial hypertension from pulmonary hypertension due to heart failure with preserved ejection fraction. *Respir Res.* 2015;16(1). doi:10.1186/s12931-015-0194-6.
- 241 Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;41(3):179–188.
- 242 Li H, Jen S, Ramayya T, Bowers HG, Rotem E. Unanticipated late maturation of an arteriovenous fistula after creation of separate graft access. *Quant Imaging Med Surg.* 2018;8(4):444–446.
- 243 Whitmore RL. *Rheology of the Circulation.* New York: Pergamon Press, 1968, 1969.
- 244 Ene-Iordache B, Remuzzi A. Disturbed flow in radial-cephalic arteriovenous fistulae for haemodialysis: Low and oscillating shear stress locates the sites of stenosis. *Nephrology, dialysis,*

transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - Eur Renal Ass. 2012;27:358–68.

- 245 Siddiqui MA, Ashraff S, Carline T. Maturation of arteriovenous fistula: Analysis of key factors. *Kidney Res Clin Pract.* 2017;36(4):318–328.
- 246 Meram E, Yilmaz BD, Bas C et al. Shear stress-induced improvement of red blood cell deformability. *Biorheology.* 2013;50(3–4):165–176.
- 247 Simmonds MJ, Atac N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Yalcin O. Erythrocyte deformability responses to intermittent and continuous subhemolytic shear stress. *Biorheology.* 2014;51(2–3):171–185.
- 248 Muravyov AV, Draygin SV, Eremin NN, Muravyov AA. The microrheological behavior of young and old red blood cells in athletes. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2002;26(3):183–188.
- 249 Huisjes R, Bogdanova A, van Solinge WW, Schiffelers RM, Kaestner L, van Wijk R. Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability. *Front Physiol.* 2018;9. doi:10.3389/fphys.2018.00656.
- 250 Savage COS, Harper L, Cockwell P, Adu D, Howie AJ. Vasculitis. *BMJ.* 2000;320(7245):1325–1328.
- 251 Rask-Madsen C, King GL. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors. *Cell Metab.* 2013;17(1):20–33.



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/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., Tánczos, 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., Tánczos, 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., Tánczos, 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., Tánczos, 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 tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2022.07.19.



9. TÁRGYSZAVAK/KEY WORDS

Magyar:

áramlási szimuláció

arterio-venosus fistula

biomodell

haemorheologia

intima hyperplasia

mikrosebészet

nyírófeszültség

nyomástűrő képesség

szakítószilárdság

véna-graft

English:

flow simulation

arterio-venous fistula

biomodel

hemorheology

intima hyperplasia

microsurgery

shear-stress

pressure resistance

tensile-strength

vein-graft

10. 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 segítségével, s hogy állatorvosi ismereteivel és szakértelmével előrevitte kutatásaimat.

Hálával tartozom **Dr. Gasz Balázsnak** 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 töméredek 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.

11. FÜGGELÉK

Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények