Szövetpótlásra alkalmas poli (vinil alkohol) sérvháló *in vitro* és *in vivo* biokompatibilitási vizsgálatai

Fehér Daniella

Doktori (Ph.D) értekezés

Semmelweis Egyetem

Elméleti és Transzlációs Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető:

Dr. Wéber György MD, PhD, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Toronyi Éva MD, PhD, egyetemi docens

Dr. Gamal Eldin Mohamed MD, PhD, főorvos, címzetes egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Perner Ferenc MD, PhD, DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Urbanics Rudolf MD, PhD, tudományos munkatárs

Dr. Szűcs Ákos MD, PhD, egyetemi docens

Budapest

2021.

TARTALOMJEGYZÉK

	oldal
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	**2**
1. BEVEZETÉS	**5**
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	**11**
2.1. Bioanyagok felosztása és felhasználási területeik	11
2.2. Szövettenyésztés biopolimerek felhasználásával	11
2.3. Sebészi hálók bemutatása	19
2.3.1. Az ideális háló meghatározása	19
2.3.2. A sebészi hálók karakterizálásának lehetőségei	19
2.3.3. Jelenleg forgalomban levő sérvhálók	23
2.3.4. A szintetikus sérvhálóval szemben felállított funkcionális elvárások	25
2.3.5. Elektromos szálhúzással előállított poli (vinil alkohol) sérvháló	28
2.4. A polimer rendszerek toxicitásának *in vitro* értékelése	28
2.5. Állatkísérletek megválasztása a nanomedicinában	30
2.6. Lézerpont kontraszt képalkotó rendszer használata perfúziós vizsgálatokban	31
3. CÉLKITŰZÉS	**33**
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	**34**
4.1. PVA sebészi háló előállítása	34
4.2. PVA sebészi háló fizikai, mechanikai és prebiológiai tesztelése	34
4.3. *In vitro* vizsgálati módszerek	36
4.3.1. Sejtmorfológiai vizsgálatok	36
4.3.2. PVA háló *in vitro* biokompatibilitási vizsgálatai A549 sejtvonalon	37
4.3.3. Proliferációs és toxikológiai vizsgálatok HDFa sejtvonalon	38
4.4. A hálók *in vivo* beültetése	38
4.4.1. Előkísérletek	38
4.4.2. Kisállat modell rövid és hosszútávú kísérletei	40
4.4.3. Nagyállat modell-5 hetes utánkövetés	40
4.5. Perfúziós vizsgálatok PVA és PP hálók beültetését követően Lézerpont kontraszt képalkotó rendszer (LSIS) használatával	43
4.6. Szöveti beépülés és hálóelmozdulás vizsgálata	45

4.7. Szövettani kiértékelés 45
5. EREDMÉNYEK 47
6. MEGBESZÉLÉS 47
7. KÖVETKEZTETÉSEK 78
8. ÖSSZEFOGLALÁS 80
9. SUMMARY 81
10. SAJÁT EREDMÉNYEK 82
11. IRODALOMJEGYZÉK 83
12. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE 95
13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS 97
AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK KÜLÖNNYOMATA 98

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

2D	2Dimenziós
3D	3Dimenziós
A549	Humán tüdő adenocarcinoma sejtvonal
AM	Amniotic Membrane (avaszkuláris membrán)
AUV	Ad Usum Veterinarium (állatgyógyászati célra)
bFGF	basic Fibroblast Growth Factor (alap fibroblaszt növekedési faktor)
BSA	Bovine Serum Albumin (szarvasmarha szérum albumin)
BMA	Butyl MethAcrylate (butilmetakrilát)
BMP	Bone Morphogenetic Proteins (csont-növekedési faktor)
DAMP	Damage-Associated Molecular Pattern (károsodással összefüggő molekuláris mintázat)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium (Dulbecco módosította Eagle's médium)
DMEMHG	High Glucose DMEM (magas glükóz tartalmú DMEM)
DMSO	DiMethyl SulfOxide (dimetil-szulfoxid)
ECM	ExtraCellular Matrix (extracelluláris mátrix)
ePTFE	expanded PolyTetraFluoroEthylene (poli(tetrafluoro-etilén))
EVAL	EthyleneVinylALcohol (etilén-vinil-alkohol)
FBR	Foreign Body Reaction (idegentest reakció)
FBS	Fetal Bovine Serum (magzati szarvasmarha szérum)
FDA	Food and Drug Administration
GTA	GluTarAldehyde (glutáraldehid)
GDF	Growth Differentiation Factor (növekedési differenciálódási faktor)
GTR	Guided Tissue Regeneration (kontrollált szöveti regeneráció)
HA	Hialuronic Acid (hialuronsav)
HDFa	Human Dermal Fibroblasts, adult (Humán bőr fibroblaszt sejtvonal, felnőtt)
HE	Hematoxylin and Eosin (hematoxilin és eozin)
IL	InterLeukin
IP	IntraPeritoneális
IPOM	IntraPeritoneal Onlay Mesh (Intraperitoneális háló-ráfektetés)
ITS	Insulin Transferrin Selenium
LH	Laparoscopic Hernioplasty (Laparoszkópos sérvműtét)

LSGS	Low Serum Growth Supplement
LSIS	Laser Speckle Imaging System (Lézerpont kontrasztos képalkotó rendszer)
LVHR	Laparoscopic Ventral Hernia Reconstruction (Laparoszkópos elülső hasfali sérvműtét)
NLR	NOD-Like Receptor
OH	Hidroxil
PBS	Phosphate-Buffered Saline (foszfát-pufferolt fiziológiás sóoldat)
PDO, PDS	PolyDiOxanone (polidioxanon)
PGA	PolyGlicolicAcid (poliglikolsav)
PLA	PolyLacticAcid (politejsav)
PGLA	PolyGLActin (PGA-PLA: poliglikolsav-politejsav kopolimer, poliglactin)
PE	PolyEster (poliészter)
PEG	PoliEtilén-Glikol
PP	PoliPropilén
PU	PoliUretán
PFA	ParaFormAldehid
PRRs	Pattern Recognition Receptors (mintázatfelismerő receptorok)
PTFE	Poli(TetraFluoro-Etilén)
PVA	Poli(Vinil Alkohol)
PVC	PoliVinilClorid, (poli(vinil-klorid)
PVDF	Poli(vinillidin-fluorid)
RGD	Arginylglycylaspartic acid (arginil-glicil-aszpartát motívumot tartalmazó peptid)
ROI	Regions Of Interest (érdekes régiók)
SEM	Scanning Electron Microscope (pásztázó elektronmikroszkóp)
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome (szisztémás gyulladásos válasz szindróma)
TAPP	TransAbdominal PrePeritoneal (transabdominális preperitonális)
TE	Tissue Engineering (szövettenyésztés)
TEP	Total ExtraPeritoneal (teljes extraperitonális)
TGFβ	Transforming Growth Factor beta (transzformáló növekedési factor béta)
TNFα	Tumor Nekrózis Faktor alfa
TLR	Toll-Like Receptor
US	United States (Egyesült Államok)

1. BEVEZETÉS

A sérvműtétek az egyik leggyakrabban végzett sebészeti beavatkozások világszerte. Évente közel 20 millió műtétet végeznek, amiből Magyarországon kb. évi 20 ezer opus történik [1]. A kizáródott sérvek veszélyét és szövődményeit már régen ismerték, ennek megoldására a sérvkaput bemetszették és ezzel az erek leszorítását megszüntették, de magát a hasfal rekonstrukcióját a hashártyagyulladás kialakulásának rizikója miatt nem végezték el. Évszázadokon keresztül a sérveket kizárólag konzervatív módon, sérvkötőkkel kezelték. Ezzel szemben ma a hasfali sérvek egyetlen kuratívnak tekinthető kezelési módja a hasfal hálóval történő megerősítése és a sérvkapu műtéti zárása.

Balassa János, a modern hazai sebészet megalapítója 168 éve, 1853-ban kiadott "A hassérvekről" megjelent tankönyvében a következőket írta: "Az eddigiekből kitűnik, hogy habár sérveknek gyökeres gyógyítása sérvkötök által kisdedeknél és gyermekeknél általában sikerül, és habár felnőtteknél is vannak, illy sikernek — mint a tapasztalat mutatja — Illy esetekben észirányos cselekvés véres műtétet vinni véghez a gyökeres gyógyulás alkalmazására."

Sérv bárhol megjelenhet a testben, ahol az izom- és fasciarétegek gyengébbek és/vagy elvékonyodtak. A sérv kialakulásának oka lehet veleszületett vagy szerzett, amikor is ezen a hasfali hiányon keresztül valamilyen hasi szerv vagy annak tartalma türemkedik ki. Számos olyan tényező játszhat szerepet a betegség kialakulásában, mint a túlsúly, az elhúzódó nehéz fizikai aktivitás, a beteg általános állapota, a műtét során felhasznált anyagok vagy akár a hasi nyomás tartós növekedése, tartós köhögés, székrekedés, vagy terhesség esetén [2, 3].

Az emberiség elhízásával, valamint az életkor jelentős mértékű kitolódásával a sérvek kialakulási esélye jelentősen megnőtt az elmúlt évtizedek alatt. Az egészségügyi ellátó rendszerek javulása ugyancsak lehetővé teszi a sérvek korai felismerését és kezelését. A kitolódott életkor erős rizikófaktornak mondható. A korcsoportos eloszlásnál látszik, hogy míg a 35 év felettieknek csak 10%-a, a 45 év felettiek 18%-a, az 55 év felettiek

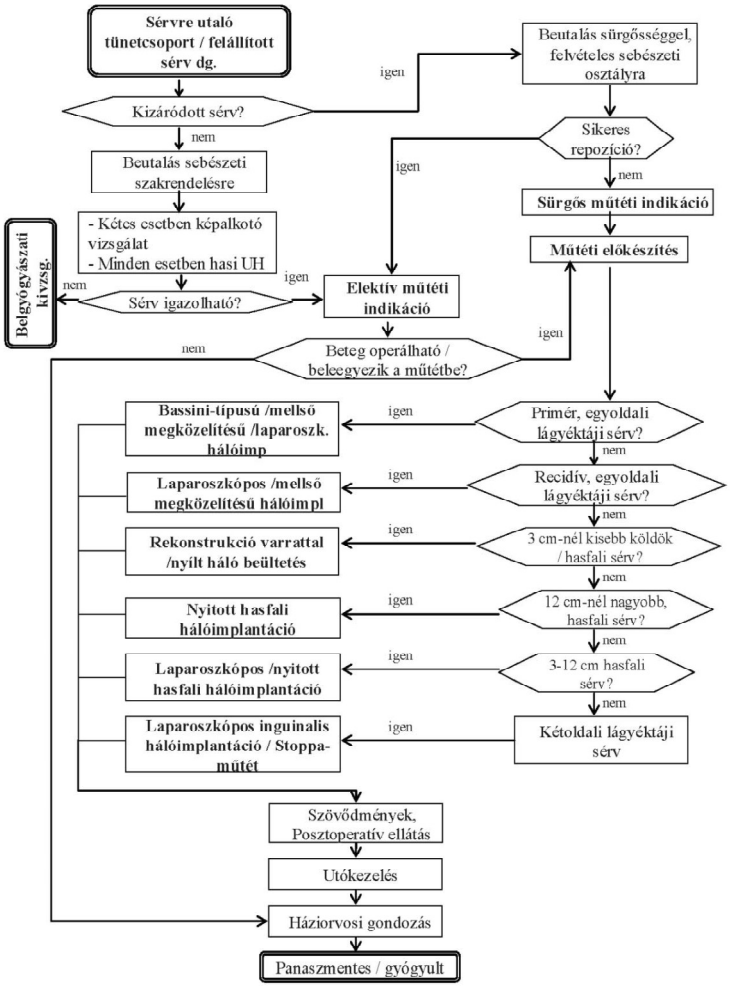
24%-a, addig a 65 év feletti korcsoport 31%-a szenved a különböző testtájékokon kialakult sérvektől (1. ábra). Előfordulási aránya nemek szerint tovább csoportosítható, a 75 éves és annál idősebb férfiak körében ez már 45%-os gyakoriságot mutat. Következésképpen az öregedő népesség növekedése várhatóan növelni fogja a sérvek általános előfordulását a következő évtizedekben. Legsúlyosabb szövődménye a kizáródás, ez a betegek 6-15 %-nál, illetve a strangulációs ileus, ami a betegek 2 %-nál fordul elő.

1. ábra Kiújult hasfali sérv egy 55 év feletti betegnél

A sérvek hasfal hiányának kezelésére számos stratégiát dolgoztak ki. Kiváló iránymutatást ad erre a European Hernia Society módszertani levele és ennek aktualizált verziója [4, 5]. Illetve az Egészségügyi Minisztérium, *A hasfali és lágyéktáji sérvek kezeléséről szóló* szakmai irányelve, a felnőttkorú betegek lágyéktáji és hasfali sérveinek általános jellemzőiről és a sebészi kezelések lehetőségéről szóló leírásában (2. ábra) [6].

A klasszikus módszer a hasfal musculo-aponeuroticus rétegeinek varrata. Ez a duplikáló varrat technika egy évszázadig uralta a ventrális sérvek helyreállítását. Legnépszerűbb a Mayo-féle duplikáló varrat volt. Nagyobb sérvek esetén a varrat duplikálásakor nyomást kell gyakorolni a fasciára a sérvkapu zárása érdekében. Ezért sok varrat duplikációja feszülést okozva mechanikusan már eleve kudarcot vallott, kiújulási aránya 54%-nak bizonyult. A másik lehetőség a hiány pótlására autológ szövet vagy alloplasztikus anyag felhasználása. Primer sérvműtét esetén választható az egynapos sebészi ellátás. A 3 cm-nél kisebb átmérőjű sérvek esetén tehát alkalmazható, de kiújulás esetén már sebészi háló használata ajánlott. Amennyiben a sérvkapu 3 és 15 cm közötti (obesitás esetén,

többszöri recidíva után) megfontolandó a laparoszkópos hasfali rekonstrukció. Feszülésmentes technikával történhet nyitott hálóimplantáció vagy laparoszkópos hasfali rekonstrukció (laparoscopic ventral hernia repair=LVHR). A laparoszkópos hasfali rekonstrukciónál fontos, hogy a háló a sérvkapu széleinél minimum 5 cm-rel túlérjen. A 15 centiméternél nagyobb sérveknél csak nyitott műtét és a sublay pozícióban elhelyezett háló beültetése javasolt. Ezeket a lehetőségeket a 2. ábra foglalja össze.



2. ábra A sérvek ellátásának hatályos kezelési protokollja

(*Forrás: Az Egészségügyi Minisztérium szakmai irányelve lágyéktáji és hasfali sérvek ellátásáról felnőttkorban (1. módosított változat) Egészségügyi Közlöny 2009;21:3552-76*).

A háló beültetésének formái

A sérvkapu feszülésmentes zárása, illetve a felépülő hegszövet megtámasztása érdekében először 1958-ban ültettek be sérvhálót. Ennek előnyeiről Luijendijk és munkatársai kedvezően számoltak be, akik azt találták, hogy a recidíva gyakorisága a háló használatával majdnem a felére csökkent a varrat duplikációhoz képest [7-9]. Ennek ellenére a nagy hasi feltárásból végzett rekonstrukciók során még mindig 50 %-os volt a műtétet követően a sérv újbóli kialakulásának lehetősége, ami magával vonta egy újabb műtét kockázatát, a hasfalban keletkező feszülés és lehetséges szakadás miatt. Ma a rutinszerűen alkalmazott technika az, amikor a háló a hasfalhiány fölé vagy alá kerül. Ezt "feszülésmentes" módszereknek nevezzük [10-12].

Nyitott műtét esetén a háló „sublay" pozícióban kerül beültetésre. Abban az esetben, ha a „sublay" pozíció nem kivitelezhető, „onlay" azaz ráfektető pozíció a javasolt. Fertőzött környezetben saját szövet (irha lebeny, musculocutan lebeny stb.) vagy biológiai anyagból készült háló (pl. Surgisis®) alkalmazása ajánlott. „Inlay" pozíció esetén az ép hasfalra történik a háló beültetése, átfedés nélkül. „Intraperitoneális" pozícióban a hálót átfedéssel a peritoneumra helyezik. A beültetés történhet hagyományos, nyitott vagy laparoszkópos feltárás mellett. Extrém méretű hasfali sérvek esetén lehetőség van a hasfali izmokat egymás felett elcsúsztatni, ezzel csökkentve a sérvkapu méretét. A megfelelő műtéti technika kiválasztása a sebész feladata. Ilyenkor mérlegelésre kerül a beteg általános állapota, kórelőzménye és a sérv jellege. A sebészi hálók beültetésének lehetőségei az 1. táblázatban tekinthetők meg [13].

1. táblázat A sérvháló sebészi pozícionálásának lehetőségei

onlay pozíció	hasfal (musculoaponeuroticus) izomzatára
sublay-pozíció	prefasciálisan (peritoneum és a musculoaponeuroticus közé)
intraparietális helyzet	laterális sérveknél két izom közé
inlay-pozíció	hasfali defekt foltszerű pótlása (sérvkapu széleihez varrjuk)
onlay-sublay	interpozíció kombinálása
Stoppa-műtét	preperitoneálisan

Számos beültetésre alkalmas háló fellelhető a klinikumban, csak úgy, mint lebomló, illetve nem lebomló összetételűek. Napjainkban leggyakrabban polipropilén (PP) alapú

hálót alkalmaznak sérvműtéteknél [14]. Ezekkel a hálókkal jelentősen csökkenthető a reoperációk száma, azonban az intraperitoneálisan elhelyezett idegentest miatt megjelentek új korai szövődmények (seroma, haematoma, posztoperatív ileus), és késői szövődmények (relapsus, vékonybél elzáródás, enterocutan fisztula) egyaránt. Hátránya tehát, hogy a technika alkalmazásakor a hasüregi szervek hozzáérnek a háló intraperitoneális felszínéhez, mely kitapadáshoz és adhéziókképződéshez vezet [15]. Az idegen anyag beültetése a feszülésmentes technika esetén már standarddá vált laparoszkópos behatolásból. Fontos cél lett továbbá az idegentest reakció mérséklése és a kevesebb szövődménnyel járó lebomló sérvhálók fejlesztése [16].

Az ideális sebészi hálónak a befogadó szervezettel biokompatibilisnek, a szervezetben flexibilisnek és biodegradábilisnk kell lennie, oly módon, hogy a lebomlás során keletkező monomerjei sem válthatnak ki immunreakciót. Szükségessé vált olyan anyagok előállítása, melyek alkalmasak a különböző szövetpótlási eljárásokra, továbbá citokompatibilitási, mechanikai, fizikai tulajdonságaik kimagaslóan jobbak a nem lebomló formákhoz képest [17]. Ezeknek az anyagoknak nagy előnye a 3D struktúra, mellyel a sejtek közötti extracelluláris mátrixot (ECM) képes utánozni teret biztosítva a sejteknek a megtapadáshoz, proliferációhoz, differenciációhoz úgy, hogy közben ők maguk is létrehozzák az eredeti ECM hálózatot, pótolva a hiányos szövetet, amíg a nanoanyagból készült váz (scaffold) folyamatosan lebomlik az élő szervezetben [18].

A poli (vinil alkohol) (PVA) előállítása lehetővé tette egy olyan szintetikus anyag használatát, amely az ideális varróanyag felé támasztott közel minden követelménynek megfelel. A monomerrel szemben ez a polimer forma hőre nem bomlik, nedvesség hatására nem duzzad és könnyen sterilizálható. A PVA szövetben való viselkedését állatkísérletekkel igazolták, miszerint sem a PVA, sem annak bomlástermékei nem károsítják az élő szervezetet. A molekula maga lebomlik és felszívódik, viszont gyártása során a fonalszerkezet módosításával könnyen nem felszívódóvá is alakítható [19, 20]. A PVA tehát egy hidrofil polimer, ami nem toxikus, biokompatibilis és lebomlik az élő szervezetben. Az elektrospininggel készített hálók mentén a sejtek (pl. fibroblasztok) könnyen el tudnak oszlani, gyorsan kialakítva a számukra kedvező extracelluláris mátrixot, ami kulcsfontosságú a sejtek stimulációjában, ezáltal a szöveti regeneráció

folyamatában is [21].

A hasfali sérvek sebészeti kezelésének technikája folyamatosan változott az évek alatt. Továbbra is nagy az igény a különböző sebészi hálók fejlesztésére, előállítására. Habár az ideális háló fogalmát ismerjük, a fejlesztők és a gyártók törekszenek is ennek elérésére, de a tökéletes háló megalkotásáig még további kutatások szükségesek.
Minden lebomló anyag biokompatibilitási vizsgálata komplex kísérleteket igényel különböző *in vitro* és *in vivo* körülmények között. A sejtek érzékenysége és reprodukálhatósága miatt gyakran alkalmaznak *in vitro* sejttenyésztési teszteket az implantátumok szisztémás hatásainak szűrésére, miután az egyik legfontosabb tulajdonság, a befogadó szervezet immunreakcióját kell vizsgálni. Ez a sebészi hálók beépítése során bármikor megjelenhet és az *in vivo* hernioplasztikai vizsgálatokkal könnyen modellezhetők, például egy sérült szövetbe beültetett idegen anyag vagy implantátum lebomlása során keletkező változások megfigyelésével [22, 23]. Ezen anyagok többsége már a nanomedicinában való megjelenésük előtt ismert volt bizonyos orvosi területeken, amely közismerten biokompatibilis, biológiailag lebontható és stabil molekulaszerkezettel rendelkezik. A PVA nanoháló porózus szerkezetének kialakítására többféle módszer ismert, például a textiltechnika, a gázhabosítás, a fagyasztva szárítás, vagy az elektrospinning (elektrofonás). Az elektrospinning során nagyfeszültségű elektromos teret hozunk létre a fecskendő végén lévő felületi feszültség által tartott polimer oldat és a gyűjtő felület (kollektor) között [24-27]. A hálós szálak morfológiáját különböző paraméterek is befolyásolják beleértve a folyadék viszkozitást, a molekulatömeget, a felületi feszültséget, vagy a környezet páratartalmát és hőmérsékletét. A biológiai anyagoknak különleges fizikai, kémiai és mechanikai tulajdonságokra van szükségük ahhoz, hogy az élő szervezetbe történő beültetésük után hosszú ideig képesek legyek megtartani szerkezetüket, mellyel pótolni tudják a sérült vagy hiányos szöveteket [28, 29].

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Bioanyagok felosztása és felhasználási területeik

A nanotechnológia napjaikban kulcsfontosságú szerepet tölt be a medicinában. Különösen a nanorészecskéket tartalmazó gyógyszerszállító rendszerek, melyekkel jelentősen javultak a gyógyíthatatlan betegségek kezelési lehetőségei. Bármely implantátum sikere nagyban függ a felhasznált bioanyag biokompatibilitásától, a biológiai lebonthatóságától és az anyag úgynevezett átalakíthatóságától, gondolva itt a keresztkötésekre, vagy egyéb molekulák beépíthetőségére. A biológiai anyagokat általában a sérült emberi szövetek és szervek helyreállításában vagy pótlásában alkalmazzák.

A biokompatibilitás a bioanyagok és az emberi szervezet interakciójára utal. Egy bioanyag akkor tekinthető biokompatibilisnek, ha az adott recipiensben az adott felhasználási körülmények között nem vált ki káros reakciót. Sem a szövetpótlási eljárásokban alkalmazott bioanyagok, sem a degradációs termékeik nem lehetnek toxikusak, és vagy semmilyen, vagy csak enyhe immunreakciót válthatnak ki. Fontos továbbá, hogy az adott anyag mennyire képes támogatni az adott sejt- vagy szövettípus funkcióit, a sejtszintű jelátviteli rendszerekre milyen hatással bír, tekintve a szöveti regeneráció számára optimális körülmények biztosítását és a helyi vagy egész szervezetet érintő káros hatások elkerülését is. A bioanyagokat eredetük alapján két nagy csoportra oszthatjuk. Lehetnek természetes, illetve szintetikusan előállított, azaz mesterséges bioanyagok.

Természetes bioanyagok

A természetes úton előállított csoportba sorolhatók a fehérjealapú biomateriális (kollagén, zselatin, selyem), a poliszacharid alapú (cellulóz, kitin, kitozán, glükóz) és a sejtekből származó, decellularizált biomateriális anyagok (decellularizált szívbillentyűk, ér, máj). Előállításuk egyik módja, hogy az élő szervezetből származó fehérjét és poliszacharidot oldószerek vagy enzimek oldják fel, majd kicsapják és fibrillákká rekonstruálják. A fehérje és a poliszacharid előállításának második módja az élő szervezetek egyéb elemeinek eltávolítása oldószerekkel vagy enzimekkel.

Decellularizált biomateriális anyagokat úgy hoznak létre, hogy az összes sejtet eltávolítják a natív szövetekből vagy szervekből. Fizikai, kémiai és enzimatikus bomlás kombinálható a hatékony decellularizációs protokoll elkészítéséhez.

A természetes úton nyert biológiai anyagok számos előnnyel rendelkeznek, úgy, mint biokompatibilitás, biológiai lebonthatóság és szerkezeti átalakíthatóság. Ezért ezeket a biológiai anyagokat általában a sérült emberi szövetek és szervek helyreállításában vagy pótlásában alkalmazzák. A szintetikus bioanyagoknak azonban vannak hátrányai, például felépítésük és összetételük nem hasonlít a natív szövetekhez. A biodegradábilitás szabályozásának lehetősége kényes kérdés a szövetpótlási eljárások felhasználásában. Ez a beépített „idegen" anyag fokozatos lebomlását jelenti, mire a szervezet felépíti a hiányzó szövetrészt, legyen ez egy hasfalhiány vagy akár egy bélszakasz pótlása a szervezetben. A bomlás során keletkező metabolitoknak ugyancsak biokompatibilisnak kell lenniük a szervezettel, majd természetes úton távozniuk kell, hogy ne okozzanak idegentest reakciót [30].

Ezek az anyagok leginkább *in vivo* forrásokból származnak, ezért előnyük, hogy könnyen és nagy mennyiségben hozzáférhetők, így tehát olcsó a felhasználásuk (2. táblázat). Biokompatibilisek és tartalmazzák a biológiai kötőhelyeket a sejtek molekulái számára.

2. táblázat Természetes bioanyagok típusai

Fehérjék	kollagén
	fibrinogén
	selyem
Poliszacharidok	cellulóz
	agaróz
	alginát
	hialuronsav
	kitozán

Fehérjék

Kollagén. A kötőszövet leggyakoribb fehérjéje, minden állatban megtalálható. Legalább 16 féle kollagéntípust azonosítottak, ezeknek 80 %-a az I., II. és III. típusba sorolható. A kollagént nemcsak a fibroblasztok termelik, hanem a hámsejtek is. Az egyik leggyakrabban használt biológiai anyag. Szálas szerkezetű, ezért az integrin adhéziós molekulák számára kötőhelyeket (RGD, arginin-glycin-aszparaginsav) tartalmaz. Ilyen kollagén alapja van például a placenta avaszkuláris membránjának (AM), ami a sejtmag beolvadásához nyújt jó alapot a szövettechnikában. Az AM-t a szövet, a szem, a bőr, a porc, az ideg, különösen a tumoros megbetegedések vonatkozásában alkalmazzák [31-33].

Fibrinogén. A fibrinogén a fibrin prekurzor fehérjéjeként játszik szerepet a véralvadásban. Könnyen hozzáférhető és nagy mennyiségben rendelkezésre álló scaffold komponens. Emberi plazmából izolálható. Hasítatlan formája vízoldható, thrombinnal hasítva megalvad és hidrogélt képez, melynek 3D komplex struktúrája van. Biológiai ragasztóként használják, fibrinogén tartalmú oldatban szuszpendálják a sejteket, majd a sejtek kiültetése után egy thrombinos kezelés következik, így a megalvadt 3D-szerkezetű hidrogél rögzíti a sejteket. Az autológ plazma fibrin gél nemcsak kiváló vérzéscsillapító szer, hanem segít kiküszöbölni a donor plazma használatával járó vírusfertőzés kockázatát. A fibrin támogatja továbbá az őssejt kultúrák differenciációját és a differenciálódott sejtek tenyésztését.

Decellularizált bioanyagok. Létrehozásához az összes sejtet eltávolítják a natív szövetekből vagy szervekből. Fizikai, kémiai és enzimatikus lebontási metodikákat kombinálnak a hatékony decellularizációs protokoll létrehozásához.

Selyem. A selymek olyan rostos fehérjék, amelyeket speciális hámsejtekben szintetizálnak a Lepidoptera lárvák (selyemhernyók, pókok, skorpiók, atkák) [34]. A selyemkötésű polimerek ismétlődő fehérjeszekvenciákból állnak, és strukturális szerepet játszanak a gubó kialakításában. A scaffoldok anyagaként is használják. Olyan anyag, amely az ízeltlábúak mirigyeiben termelődik. Két fehérjekomponensből áll a selyemhernyó (Bombix mori) selyme, a fibroinból és a sericinből. A sericin az

elasztikus tulajdonságért, a fibroin pedig a pozitív mechanikai tulajdonságokért felel. Csont-, porc- ízületi szalagok előállításában használják. Hátránya viszont a lassú biodegradábilitása.

Poliszacharid alapú anyagok

Cukorszerű monomerekből állnak. Tissue engineeringre használt változatai általában növényi (alga) vagy állati eredetűek.

Cellulóz. A növények 33 %-a, a fák 50 %-a, míg a pamut 90 %-a cellulózt tartalmaz. Biológiailag könnyen lebonthatónak tekinthető, így kevésbé szennyezi a környezetet. A természetes cellulóz gömböket gyakran alkalmazzák bioszeparációban, immobilizált reakcióban, sejtszuszpenziós tenyésztésben. A cellulózszármazékokról, például a cellulóz-acetátról, a cellulóz-propionátról és a cellulóz-acetát-butirátról, melyek membránként öntöttek, különféle enzimek (kataláz, alkohol-oxidáz és glükóz-oxidáz) hordozói immobilizálásához. Az Acetobacter xylinum által szintetizált mikrobiális cellulóz jelentősége, hogy újszerű sebgyógyításban alkalmazható rendszerként mutatkozik meg, egyedülálló nanostruktúrájának köszönhetően [35].

Növényi agaróz. Tengeri vörösmoszatból izolálják. Fő polimervázát a galaktóz monomerek alkotják. Főként porc-, szívizom-, és idegszövet előállítására használják. Előnye, hogy immunológiailag inert, nem vált ki szöveti reakciót.

Alginát. Az alginát egy hidrofil poliszacharid, amelyet tengeri barna algákból, például Laminaria hyperborea vagy talajbaktériumokból, például Azobacter vinelandii nyernek ki. Ezen barnamoszatok sejtfal komponense. Az alginátok funkciója az algákban elsősorban csontvázas, a sejtfalban és a sejtközi mátrixban elhelyezkedő gél biztosítja a szilárdságot és rugalmasságot ahhoz, hogy ellenálljon a víz erejének, amelyben a moszat növekszik [36]. Szövetpótlásban főként Ca-alginátot használnak, így vízben oldhatatlan gél keletkezik, melyet főként enkapszulációra használnak, de ugyancsak alkalmas sebkezelésben és scaffold alapanyagként. Az alginátokról ismert, hogy glükóz típusú monomerekre bomlanak és teljesen felszívódnak.

Hialuronsav. Állati eredetű poliszacharid, glükóz-aminoglikán, amely az egyik fő

komponense. Az őssejtek differenciációját, proliferációját és túlélését támogatja.

Kitin. A kitin egy fehér, rugalmatlan, hidrofób lineáris poliszacharid, amely számos természetes forrásból származik, beleértve az ízeltlábúak és rovarok exoskeletonját is, és a cellulóz mellett a második leggyakoribb természetes poliszacharid [37].

Kitozán. Állati eredetű poliszacharid. Állati planktont alkotó apró ízeltlábúakból állítják elő, a kationos kitin deacetilálásával. Vízmegkötő (higroszkópikus) tulajdonságai miatt gyorsítja a véralvadást, ezért főleg sebkötöző anyagok alkotójaként ismert.
A kitin és a kitozán kiváló biológiai tulajdonságaikról ismert, amelyek között megtalálható az emberi sejtekkel való biokompatibilitás, a sérült szövetek rendezett regenerációja, az immunerősítő aktivitás, az azonnali vérzéscsillapítás kiváltása és az antimikrobiális aktivitás. A legújabb tanulmányok azt mutatják, hogy a kitin és a kitozán a legsokoldalúbb a gyógyszer- és génszállításban, a kidolgozott diagnosztikában, a daganatos sejtek szelektív felismerésére szolgáló eszközökben és az adhéziós gélektől a bevont steril stentekig terjedő sebészeti segédeszközökben.

Szintetikus vagy mesterséges bioanyagok

Szintetikus bioanyag minden olyan anyag, melyet valamely biotechnológiai, kémiai eljárással állítanak elő orvosi felhasználás céljából (3. táblázat). A szintetikus anyagok elterjedését könnyű reprodukálhatóságuknak és degradációs, illetve mechanikai, kémiai, biológiai paramétereik megváltoztathatóságának köszönhetjük. Ezek tehát olyan anyagok, amelyek közvetlen kapcsolatban vannak az élő szervezettel, annak bizonyos szerveit, szöveteit segítik, vagy helyettesítik. Hátrányuk viszont a beépítés, beültetés utáni nem kívánt immunreakciók kialakulásának lehetősége, amit okozhat maga a scaffold vagy a lebomlási folyamat. A hidrogélek nagy mennyiségű vizet képesek abszorbeálni és magukban tartani, a kis molekulákat (mint pl. az oxigén, tápanyagok és különböző bomlástermékek) viszont átengedik. A hidrogélek tehát olyan (térhálós) polimerek, melyek egyik legjellemzőbb tulajdonsága a víztartalom, azaz a száraz xerogél által felvett folyadék mennyisége. Hidrofilitásának köszönhetően a polimer térháló a vízmolekulák által jól hidratálódik, ezáltal vizes közegben többszörösükre duzzadnak anélkül, hogy feloldódnának és közben alakjuk változatlan marad [38]. Puha,

rugalmas anyaga nem irritálja a környező szöveteket és sejteket [39]. A térhálót összetartó erő lehet fizikai (ionos), hidrogénkötés (asszociációs), vagy kémiai (kovalens kötés). Keresztkötött gélek előállítására példa az OH (hidroxil) csoportokat tartalmazó poli(vinil alkohol) [40]. A biodegradábilis polimerek széles körben kutatott téma napjainkban számos pozitív tulajdonságaik miatt [41]. Napjainkban tehát egyre nagyobb jelentőségük van a mesterségesen előállított biológiailag lebomló polimereknek.

3. táblázat Szintetikus bioanyagok felosztása

Szerves bioanyagok	PGA, PLA, PGLA
	PEG
	PVA
	Peptidek
Szervetlen bioanyagok	Kerámiák
	Fémek
	Hidroxiapatit

Szerves bioanyagok

Poliglikolsav-politejsav kopolimer (PGLA). Kevert polimer, mely tejsavat és glikolsavat tartalmaz. Degradábilis anyag, degradációja könnyen befolyásolható. Porc-, ideg-, csont létrehozására alkalmazzák. Nagy hátránya a bomlásakor keletkező savas kémhatású monomerjei.

Polietilén-glikol (PEG). Biokompatibilis polimer, amphofil, ami azt jelenti, hogy egy poláros fejcsoporttal és egy apoláros, változó hosszúságú farki résszel rendelkezik. Jellemző folyamat a gyógyszerek „PEG-iláció”-ja a gyógyszeriparban, amivel a fehérjék bomlását lassítják le a keringésben. PEG alapú gélekkel tárolhatóvá majd irányítottan felszabadítottá válnak a különböző kapcsolni kívánt molekulák, növekedési faktorok (BMP, TGFβ).

Poli (vinil alkohol) (PVA). Vízoldékony és biológiailag lebontható polimer. Oldékonysága a polimerizációfoktól és a hőmérséklettől függ. Tömény, hideg vizes

oldatban gélszerű tulajdonságú és 100 °C fölött elbomlik. Erős szál húzható belőle. A PVA reakcióképes hidroxil csoportjai miatt jelentős a gyógyszerkémiai és élelmiszeripari alkalmazása.

Peptid alapú bioanyagok. Rövid aminosav-szekvenciákból állnak, melyek gyakran amphofil tulajdonsággal rendelkeznek, spontán önszerveződnek (self-assembly). Szekvenciájába könnyen beépíthetők aminosav-motívumok, például IKVAV szekvencia-segíti a neuritképződést, RGD- biztosítja az integrinek kötését [42].

Szervetlen bioanyagok

Kerámia alapú anyagok. Csontszövet előállításához használják. Hővel kialakított, porózus, törékeny anyagok. A hidroxiapatit a csont szervetlen alkotója, ezért a bioüveg biokompatibilis.

Fémek. Elsősorban implantátumok alkotói, leggyakrabban alumíniumot vagy titániumot és ezek ötvözeteit tartalmazzák. Nagy mechanikai igénybevételek esetén - fogpótlás, ízületi protézis, műbillentyűk létrehozásakor- alkalmazzák.

Hidroxiapatit. Az egyik legfontosabb alkotó eleme a csontoknak és a fogaknak, a csontszövet 75%-át teszi ki. Jó bioaktivitása és biokompatibilitása miatt előszeretettel alkalmazzák sebészeti, plasztikai sebészeti és fogászati eljárások során.

2.2. Szövettenyésztés biopolimerek felhasználásával

A szövetek és szervek károsodása lehet veleszületett, vagy kialakulhat betegség következtében, de a kor előrehaladtával is jelentkezhet. Magyarországon ma kb. 1442 regisztrált beteg van a szervtranszplantációra várók listáján (www.ovsz.hu/varolistak). Az élődonoros felajánlás azonban jóval kevesebb a szükséges mennyiségnél. Sajnos mire a várakozók a lista elejére kerülnek, nem minden esetben lesznek már a műtétre alkalmas egészségi állapotban. A műtéti beavatkozással történő szövetpótlás iránti igény tehát világszerte meghaladja a donor szövetek rendelkezésre álló mennyiségét. Ez a tény a kutatókat arra ösztönzi, hogy olyan nanokompozit anyagokat állítsanak elő, melyek képesek a szövetek és szervek regenerálódásának elősegítésére vagy azok újraépítésére a saját testi sejtekből. Ilyen orvosbiológiai scaffoldok az autog-, a xeno- és az

allograftok. A US Food and Drug Administration (FDA) általi szabályozás szempontjából ezeket a scaffoldokat a biokomapatibilitásuk, a graft forrása és a gazdaszövet szerint csoportosítjuk.

Autograft. Saját szövet vagy szerv, például sérült bőr pótlása égési sérültek fedésére. Az autológ beültetés már „gold standardnak" számít. Hátránya azonban, hogy kis mennyiségben áll rendelkezésre.

Allograft. Egy fajon belüli, de nem saját szövet vagy szerv transzplantációja, ilyenkor a genetikai háttér nem teljesen megegyező. Immunszupresszió szükséges.

Izograft. Az egypetéjű ikrek esetében alkalmazható. Előnye, hogy nem alakul ki immunreakció.

Xenograft. Más fajból származó graft. A xenograft nagyobb mennyiségben áll rendelkezésre, de komoly immunreakciót válthat ki. A xenograft feldolgozására kifejlesztett egyik módszer a decellularizáció. Minden szövet vagy szerv sejteket és extracelluláris mátrixot köt le. Az ECM fontos szerepet játszik a mechanikus támogatásban, a jelátvitelben, a szövet/szerv tapadásában. A decellularizáció egy többlépcsős folyamat, amelynek során az összes sejtkomponens eltávolításra kerül a szövetből/szervből, és az ECM ép marad. Minden decellularizációs ágensnek specifikus kötődése van a sejtekhez és az extracelluláris mátrixhoz. Tehát ezeket a szereket kombinálva hatékony decellularizációs folyamatot végezhető el, amely eltávolítja az összes sejtkomponenst és megfordítja a maximális ECM-t. A decellularizáció hatékonysága mindig a szövet vagy szerv típusától függ. Az egyik szer jó detergens lehet az egyik szövet decellularizálására, a másiké viszont nem [43]. A sejtekből származó ECM alkalmazható sejttenyésztés mátrixaként is.

Ilyen decellularizációs oltványok, vagy scaffoldok, a SurgisSIS® (sertés vékonybél submucosa), az Alloderm® (emberi dermis) és az ACell® (sertés húgyhólyag) nyálkahártya és a vékonybél submucosa (small intestinal submucosa: SIS) a nyálkahártya és a muscularis externa közötti submucosa szövet. A SIS kollagénből,

proteoglikánból, glikozaminoglikánból, glikoproteinből és növekedési faktorokból (VEGF, FGF-2) áll. Ezen komponensek többsége az extracelluláris mátrixban is fenntartható. A szövettenyésztési technikában a SIS-t lágyrész-graftként, például artériás graftként is használták már [44, 45].

Két és háromdimenziós szövetstruktúrák

Az ECM támogatja és fokozza a sejtek adhézióját, migrációját, proliferációját, fő tulajdonsága a funkcionális változatossága. A sejtproliferáció pedig ECM-en is értékelhető. Az eredmények azt mutatják, hogy a tenyésztett sejtek gyorsabban kapcsolódtak és szaporodtak az ECM-mel bevont felületeken, mint az ECM nélküli felületeken. A sejtek által létrehozott nanostruktúrák (scaffoldok) hivatottak utánozni az ECM hálózatát. A monolayer (2D) kultúrából létrehozott, tradícionális szövetpótlási eljárás alatt az izolált sejtekből származó egyrétegű kultúrákban felszaporított, majd az aggregált bioreaktorban lévő szerves formálást értjük. A különböző endogén tényezők kedvező hatással lehetnek olyan celluláris funkciókra, mint az életképesség vagy a proliferáció. Ami nem valósítható meg a 2D struktúrában, az a különböző transzport funkciók kialakítása. Ezt hivatott pótolni a 3D szövetkonstrukció egy mesterséges biováz beépítésével. Ezekbe a vázakba már könnyen beépíthetők lesznek a különböző hatóanyag leadó rendszerek, melyek külső inger hatására (hőmérséklet, pH változás, elektromos és mágneses mező, stb.) szabályozott körülmények között képesek adagolni. 1990-ben Lantz és munkatársai a SIS-t (vékonybél submucosa) használták, kis átmérőjű, artériás graftként 18 kutyában. 48 héttel a műtét után 28 vaszkuláris oltványt (75%) kaptak, és a kutyák az implantáció után 76-82 hétig képesek voltak túlélni [46-49].

A felsorolt graftok jelenlegi fő hátránya azonban a trombusképződés, amely általában az implantálás után azonnal bekövetkezik a graft lumenében, illetve a graftok nem megfelelő vaszkularizációja. Ez a folyamat a graft elvesztéséhez vezethet, és veszélyeztetheti a betegek túlélését. Másik nagy problémát a hegesedés jelenti a széli részeknél. Ennek kivédése a jövőben fontos szempont lesz.

2.3. Sebészi hálók bemutatása

2.3.1. Az ideális háló meghatározása

Hasfali sérvrekonstrukcióra alkalmas tökéletes, ideális hálót még nem fejlesztettek ki. Elméletben az ideális háló inert, nem karcinogén, nem mutagén, nem okoz gyulladást, nem változnak meg a szövettel való érintkezés következtében a tulajdonságai, nem okoz allergiás reakciót, illetve ellenálló a sterilizálás fizikai hatásaival szemben.

A sebész szemszögéből, fontos, hogy minimális legyen az adhéziógeneráló hatása, tökéletes legyen a szöveti integrációja, ne gyűrődjön, ne zsugorodjon, ne alakuljon ki fertőzés vagy fistula, valamint alacsony legyen a seroma képződés és a beültetést követően a posztoperatív fájdalom. Az is nagyon fontos, hogy a háló beültetést követően is megfelelő mechanikai tulajdonságokkal rendelkezzen, ne legyen drága, és könnyű legyen méretre vágni vagy formálni a szerkezetét. Az ideális hálónak bírnia kell a perifériás öltések húzó hatását, a köhögés vagy emelés biaxiális feszítő hatását és lehetőséget kell biztosítania a hegszövet kialakítására [50].

2.3.2. A sebészi hálók karakterizálásának lehetőségei

Sebgyógyulás, háló beépülése

A sebgyógyulási folyamatok és a műtét posztoperatív szakaszában jelentkező komplikációk mind egyénfüggőek. A szöveti beépülés a műtétet követő első 2 hétben a legpregnánsabb. Az ezt követő 3 hónapban már csak lassú változások lesznek a szöveti szerkezetben. A különböző sérvhálókra adott biológiai válaszokat morfológiailag a képződött kollagén szövet mennyisége és minősége, a gyulladás, illetve az idegen test generálta reakció, a peritoneum és ér-újdonképződés meghatározásával értékelhetjük. A szöveti válasz mindig függ az alkalmazott háló alapanyagától és pórusméretétől. A sérvháló implantálása utáni neoperitonealizáció kb. 1 hétig tart. A háló adhéziógeneráló hatásának meghatározása ezután történik, a kitapadásokkal fedett hálófelszín %-ban kifejezett értékével.

Pórus méret

A pórusméretet a háló fonalai közötti fenesztráció határozza meg. Pórusméret szerint lehetnek makro (> 75 μm) vagy mikro (10-75 μm) porozitású vagy no-pore (sima

felszínű, pórusmentes) hálók. A mikroporózusú hálók kevesebb adhéziót okoznak a viscerális oldalon, mint makroporózus társaik, mivel dezorganizált neoperitoneum képződést indukálnak. A rendelkezésünkre álló kísérleti adatok alapján kimondhatjuk, hogy pórusméret tekintetében a tökéletes választás a laparoszkópos sérvműtétek során beültetett hálóra egy a parietális peritoneum felszín felé makroporózus, a viscerális oldal felé egy mikro, vagy no-pore anyagok kombinációja jelentené.

Szakítószilárdság

Szakítószilárdsági adatok alapján a beépülés erőssége a háló és a parietális peritoneum között határozandó meg. Minden rendelkezésre álló adat állatkísérletekből származik. Ez alapján megállapíthatjuk, hogy a maximális erő, mely a szakításhoz szükséges 16 N/cm^2. Állatkísérletes tanulmányok alapján a polipropilén hálóknak a legkiválóbb a szöveti beépülése a többi, gyakorlatban is ismert sérvhálóval szemben. Számos adat áll az irodalomban rendelkezésre a poli(tetrafluoro-etilén) (PTFE) hálók körüli tokképződés (encapsuláció) magas kockázatáról.

Polimer erózió és degradáció

A biodegradábilis polimerek lebomlásnak több típusát különböztetjük meg. Történhet termikus úton, aktiválás, fotolízis, radioaktív lebomlás során, oxidáció vagy hidrolízis útján, itt a hidrolízisre érzékeny csoportokra hat, mint az észter, vagy amid csoportok. A természetes poliészterek (kitin, kollagén, keratin) esetében enzimatikus bomlás történik, de akár sugárzással is beindítható a bomlás a hőmérséklet hatására. Illetve mechanikailag indukálható, amikor a kovalens kötések elszakításáról beszélünk és az így keletkező szabad gyökök a polimerlánc további töredezését okozhatják.

Sebészi hálók gazdasági vonatkozásai

A sérvműtétek gazdasági vonatkozásait különböző perspektívákból elemezhetjük. Az első szempont a háló előállítási költsége, ami függ a háló alapanyagától és az előállítás technológiájától. A következő szempont a műtéti költség, ami magába foglalja a kórházi benntartózkodás időtartamát, a műtét utáni felépülés idejét és a kiújulás lehetőségét. A laparoszkópos műtétek kevesebb recidívával járnak. A rövidebb felépülési idő miatt a kezelés költsége alacsonyabb, mint a hagyományos nyitott műtéteké. A

legköltséghatékonyabb megoldás, ha a sebész figyelembe veszi a sérv elhelyezkedését, a háló megfelelő pozícionálását, és az összes fennálló rizikófaktort, így gondosan mérlegelve és személyre szabva tud dönteni.

Hálóinkompatibilitás miatt fellépő komplikációk

A háló biokompatibilitása könnyen mérhető a háló beültetését követően környezete által adott biológiai válaszreakciójával. Úgy, mint a hálóra adott morfológiai válasszal, a képződött kollagén szövet mennyiségével, a gyulladásos reakcióval, az idegen test reakcióval vagy a peritoneum és érképződés mértékével.

A) Hálózsugorodás. Beültetés után a háló akár eredeti méretének 20 %-át is elveszítheti. Ez posztoperatív fájdalommal vagy a háló elvándorlásával is járhat. Ha kitapinthatóvá válik, eltérő konzisztenciát vesz fel, úgy ez a háló eltávolítását vonhatja maga után.

B) Hálókilökődés. Ritkán fordul elő, leginkább infekciós szövődmény miatt.

C) Seroma vagy fistula képződés. A seroma a háló által okozott enyhébb, míg a fistula a háló implantáció súlyos szövődménye. A szövődmény kialakulását a háló peritoneummal vagy valamely belső szervvel történő érintkezése válthatja ki. Kivédhető a visceralis felszín továbbstruktúrálásával (pl. többrétegű: dual mesh, proceed) ami védelmet jelenthet a hasüregi adhéziókkal szemben.

D) Hálóinfekció. A műtéti terület váladékozása, fájdalomérzet utalhat rá. A háló műtéti eltávolítását vonhatja maga után azoknál az implantátumoknál, melyek pórusmérete kisebb, mint 10 mikrométer. Ilyenkor a polymorphonukleáris (PMN) granulociták, a macrophagok és neutrophil granulocyták nem képesek a szűk pórusokon áthaladni, ezért nem tudják a baktériumokat eliminálni. A macrophagok a „mintázatfelismerő” receptoraik (pattern recognition receptors – PRRs) segítségével azonosítják a patogéneket. A PRR-ek közé tartoznak a Tolllike receptorok (TLR) és a NOD-like receptorok (NLR), melyek képesek felismerni és megkötni a ligandokat és mindezek mellett intracelluláris jelátviteli folyamatokban vesznek részt. Az NLR-ek kapcsolódnak

az inflammasomával, mely aktivációja során caspase-1 és proinflammatiós citokinek képződnek. A gyulladásos infiltrátumban $CD8^+$ T-sejtek találhatók, apoptotikus epithelsejtek és granulomák fordulhatnak elő. Bakteriális fertőzésben a PMN sejtek, szepszisben és szisztémás gyulladásos válasz szindrómában (SIRS) az interleukinok (IL-1β, az IL-6) és a TNFα hatásai érvényesülnek.

A gyulladást kiválthatja helyi szövetkárosodás is. Ilyenkor észlelhető egy aspecifikus és komplex válaszreakciója a szervezetnek, melynek biológiai célja a szövetkárosodás okának megszüntetése és következményeinek megelőzése. Ezeknek a humorális és celluláris folyamatoknak, a SIRS beindulását a szöveti sérülésre adott gyulladásos reakció okozza [51]. Az immunválasz alapvető komponense a neutrofil-endothel interakció. A mononukleáris fagociták (monocita, makrofág) és polimorfonukleáris fagociták és granulociták aktivitását fagocitózissal mérhetjük. A gyulladásos válaszreakciók (4. táblázat), mint a humorális proinflammatorikus és antiinflammatorikus faktorok termelése, a szervi hipoperfúzió és reperfúziós folyamatok, a műtét során fellépő immunszupresszió, vagy a kompenzatórikus gyulladásos válaszreakciók elsődleges célja tehát a szervezet integritásának megőrzése és az egyensúlyi állapot visszaállítása. További célja pedig a szövetkárosodás tovaterjedésének megakadályozása, a kórokozók eltávolítása, a károsodott szövetrészek eltávolítása, majd a szövetképződés beindítása [52].

4. táblázat A gyulladásos folyamatok felosztása

Típus	**Akut**	**Krónikus**
Időtartam	maximum 1 hét	1 hétnél hosszabb
Jellegzetesség	exudáció (oedema)	kötőszövetszaporulat, angiogenezis
Fő sejtes elemek	neutrofilek	limfociták, makrofág infiltráció

Steril gyulladás keletkezhet fertőzés nélkül is, amikor a nekrotizált vagy elöregedett sejtekből származó molekulák indítanak el immunválaszt. Az első lépés a steril gyulladás folyamatában az akut sejtkárosodás, amit a károsodással összefüggő molekuláris mintázat (Damage-Associated Molecular Pattern: DAMP) felszabadulása követ, ez aktiválja az inflammasomát a közeli macrophagokban. Égés miatt sérült

sejtekben ATP, másokban DNS, hiszton, nonhiszton protein szabadul fel. Mindezek a ligandok a macrophagok már említett mintázatfelismerő receptoraival (PRR) interakcióba lépve proinflammatorikus hatást fejtenek ki.

A második lépésben a necrosis közelében lévő macrophagok kemokineket termelnek, amelyek kemotaxist indukálnak. A kemotaxis szignált azonban a „necrotaxis" révén a neutrofil sejtek leküzdik, majd a necrosis helyére migrálnak. A gyulladás fázisai az alteráció (szövetkárosodás), vascularis reakció, majd proliferatio (reparatio).

E) Béladhéziók, posztoperatív ileus. Amennyiben a háló rosszul pozícionált, annak különböző műtéti kockázatai lehetnek, mint például adhéziók kialakulása, hegesedés vagy ileus kialakulása.

2.3.3. Jelenleg forgalomban levő sérvhálók

Több mint 70 fajta sérvháló van jelenleg forgalomban a piacon. Ezeket a hálókat szerkezetük és előállítási alapanyagaik alapján a következő kategóriákba sorolhatjuk, első generációs (szintetikus, nem felszívódó hálók), második generációs (kevert vagy vegyes hálók), és harmadik generációs (biológiai hálók). Kevés irodalmi adat található a minimál invazív inguinalis hernia helyreállításához használható hálókról annak ellenére, hogy a sebészek számára sok lehetőség áll rendelkezésre, beleértve a hálók anyagát, típusait és különböző kialakítási módozatát, szövési lehetőségeit. A legfőképp alkalmazott sebészi háló a szintetikus háló, mely jellemzően egy lapként kerül beültetésre. Néhány egyedi szövésű darabjait kifejezetten az inguinalis sérv helyreállítására forgalmaznak jelentős technikai előnyei miatt.

Szintetikus hálók

A polipropilén 1962-es bevezetése óta négy különböző alapanyag (5. táblázat) használata terjedt el a sérvek helyreállítása és a hasfal rekonstrukciója terén. Ezek a PP, PTFE, ePTFE és poliészter. A legnépszerűbb közülük a PP, ami egy rugalmas, erős, könnyen vágható, és könnyen integrálható a környező szövetekbe, illetve ellenáll a fertőzésnek. A PTFE egy kémiailag inert szintetikus fluorpolimer, amelynek negatív töltése magas, ezért a víz és az olajok nem tapadnak hozzá. Ez az anyag nem épül be az

emberi szövetekbe. A PTFE mikroporózus, amely lehetővé teszi a baktériumok átjutását, de megakadályozza a makrofágok átjutását; ezért a fertőzése előfordulhat. Gyenge szöveti beépülése fokozza a sérv recidíváját. Az ePTFE hálók jó adhéziógátló képességgel rendelkeznek, de fertőzés esetén el kell távolítani. Az új típusú szintetikus hálók fejlesztése gyors ütemben halad és széleskörű kínálattal rendelkezik. Az idegen test reakció minimalizálása érdekében a standard pórusú hálók helyett egyre inkább a mega pórusú hálók ajánlottak, annak érdekében, hogy a háló zsugorodása, a fibrotikus hegszövet képződése kivédhető legyen.

Első generációs hálók

Az első generációs hálók (6. táblázat) polipropilén alapúak voltak. Az 1958-ban elsőként beültetett, kispórusú, nagymolekula súlyú háló intenzív fibrotikus reakciót váltott ki, ezért tovább folytatódtak az ideális háló kialakításának kísérletei. Így 1998-ban elkészült egy kismolekula súlyú változata ezen első generációs hálónak, amely nagyobb pórusmérettel rendelkezett. Az első generációs hálók három kategóriába sorolhatók, 1. makropórusú, 2. mikropórusú, 3. makropórusó háló multifilament vagy mikropórusú komponenssel.

5. táblázat Első generációs sebészi hálók

Név	**Alapanyag**
Vicryl®	Poliglactin
Dexon®	Poliglikolsav
Marlex®	PP
3D Max®	PP
Prolene®	PP
Atrium®	PP
Surgipro®	PP
Trelex®	PP
Polysoft®	PP
Prolite®	PP

Második generációs hálók

A második generációs hálók alapja egy szintetikus anyag, illetve azok kompozitjai voltak, melyektől azt várták, hogy a fertőzés kockázatát és a sérvkiújulás esélyét csökkenteni képesek. A hálókat PP, PTFE, illetve titán (Ti), poliglecaprone 25 (PGC-25) és polivinilidén fluorid (PVDF) keverékéből állították elő, szem előtt tartva, hogy a viscerális adhéziók elkerülése érdekében a mikropórusú oldal a viscerális oldalon legyen. Második generációs hálók összefoglalása a 6. táblázatban tekinthető meg.

6. táblázat Második generációs sebészi hálók

Név	**Alapanyag**
Ultrapro®	PP háló
DynaMesh®	PP - PVDF
MycroMesh®	ePTFE
DualMesh®	ePTFE
MotifMesh®	ePTFE
Composix®	PP+ePTFE
Sepramesh®	PP + hialuronsav + carboximetilcellulóz
Parietex®	POL/kollagén
Proceed®	PP/cellulóz
Vypro®	PP/polyglactin
Vypro II® PP - Polyglactin 910	polyglactin

A Vypro® és Vypro II® PP - Polyglactin 910 az első kismolekula súlyú hálók egyike, amely nagy pórus kiképzéssel került forgalomba. A DualMesh® ePTFE esetében nincs pórusméret különbség a két oldal között. A Parietex® POL – Collagen hálónak rövidtávon anti-adhéziós hatása van.

A Composix® PP - ePTFE anti-adhéziós tulajdonságokkal rendelkezik a végeken. A Proceed® PP - Cellulose (ORC) háló oxidatív cellulóz rétege lebomlik, viszont a polidioxanon film nem lebomló. A DynaMesh® PP - PVDF minimális idegen test reakciót okoz a megfigyelések alapján. A Sepramesh® PP - Sodium háló Seprafilm

rétege 48 óra elteltével géllé alakul, és várhatóan 1 hét elteltével elősegíti az epitelizációt. A Monocryl®-nak kisebb inflammációs hatása van a Vicryl®-nél. A makropórusos, többszálasan felszívódó szintetikus háló, a TIGR Matrix Surgical mesh® (Novus Scientific) nemrégiben került piacra. Kétféle szálból áll (gyors és lassan felszívódó rostok), laktid és trimetilén-karbonát kopolimerje, és teljes mértékben felszívódik 3 év alatt.

Újdonság, hogy a Parietex ProGripR® (Medtronics™) ami egy kétkomponensű háló, egyszálú poliészterből és egy politejsav rendszerből áll, ez teszi lehetővé a protézisháló varratlan rögzítését. Mivel a ProGripR® nem igényel további rögzítést, például lágyékcsatorna esetében, ez a megfelelő ágyéki disszekció után perceken belül lezárható lerövidítve így a műtéti időt. A ProGripR® jelentősége tehát a műtéti és a műtét utáni költségek csökkentésében rejlik.

Biológiai vagy harmadik generációs hálók

A fejlesztések előrehaladtával a gyulladási reakciók kiküszöbölése és a mechanikai stabilitás erősítése lett a cél. A biológiai hálók emberi, vagy állati szövetből kivont extracelluláris mátrixok (7. táblázat). Legfontosabb célja a hasfal megtámasztása, amíg a páciens által termelt új egészséges kollagén szövet fel nem épül egy stabil hasfalat eredményezve. Különböző tulajdonságokkal rendelkező hálók vannak jelenleg forgalomban klinikai felhasználás céljából. A koncepció, hogy megfelelő alapot biztosítsanak a különböző sejttípusok megtapadására és szaporodására a beépülés érdekében [53]. Előnyük, hogy nem váltanak ki erős immunreakciót az élő szervezetben, viszont magas előállítási költségük megakadályozza elterjedésüket a gyakorlatban.

7. táblázat Harmadik generációs biológiai hálók

Név	Alapanyag
Alloderm®	Human dermis
Strattice®	Porcine dermis
Permacol®	Porcine dermis
Veritas®	Bovine pericardium
Collamend®	Porcine dermis
Allomax®	Human dermis
Xen matrix®	Porcine dermis
Surgimend®	Bovine dermis
XCM Biologic®	Porcine dermis
Flex HD®	Human dermis
Tutomesh®	Bovine pericardium

2.3.4. A szintetikus sérvhálóval szemben felállított funkcionális elvárások

A szintetikus sérvhálóval szemben felállított funkcionális elvárások tehát a következők: (1) ne legyen toxikus, (2) ne legyen testidegen, (3) legyen biokompatibilis, (4) oldódás nélkül duzzadjanak vizes fázisban (5) fontos a jó mechanikai tulajdonság, (6) fontos a hatékonysága és a (7) tartóssága. (8) Ne roncsolja a környező szöveteket. Amennyiben a megkívánt feltétel a lebomlás, úgy a (9) lebomlása során keletkező mono- és oligomerjeinek is kompatibilisnek kell lennie. (10) Legyen könnyen sterilizálható.

2.3.5. Elektromos szálhúzással előállított poli(vinil alkohol) sérvháló

A polimer hálók szálakból épülnek fel, melyeknek a sebészi felhasználásához számos tulajdonságnak kell megfelelniük. Számos lehetőség van a nanoszálak szövésére, úgy, mint CO_2 lézerrel hevítés, forró levegős szálhúzás vagy elektrosztatikus szálképzés (elektrospinning). A legtöbb irodalmi közlés az elektrospinning technikát írja le, mint legelőnyösebb előállítási módot.

Az „electrospinning” kifejezés több mint 60 éves. Az elektrofonás folyamata során az elektromos tér intenzitásának növekedése miatt a folyadékot tartalmazó fecskendő végén a csepp megnyúlik és kialakul a Taylor-kúp. Ekkor a kezdeti szál számos apróbb

szálra oszlik, amelyek összegyűlnek a gyűjtőfelszínen, ami egy véletlenszerű elrendeződésű, nanométeres vastagságú szálakból álló hálózatot alkot [54]. A polimer alapú hálók porózus szerkezetűek, melyek képesek arra, hogy utánozzák az EMC-t, megkönnyítve a sejtek proliferációját. A szerkezet lehetővé teszi további kötőhelyek kialakítását a növekedési faktorok kapcsolásához. A mesterségesen készített szövetek génexpresszióját a mikrokörnyezettel való számos interakcióval irányíthatjuk, beleértve az adhéziós felszín változtatását, más sejtek, szolubilis növekedési faktorok hozzáadását, vagy mechanikus stimulusokat [55]. Fontos szempont továbbá, hogy a nanoszálak PVA-ból való készítése egy költséghatékony módszer [56].

A PVA vízben 90 °C-on oldható és néhány óra alatt homogén folyadékot lehet kapni. A 5-15 tömegszázalék koncentrációjú oldatból az elektromos erők több ezerszeres mértékben nyújtják meg a szálakat, amelyek így a textilszálaknál egy-két nagyságrenddel vékonyabbak lesznek [57] emiatt a felület-tömeg arány nagy lesz. Az oldószer elpárolgása után a szálak megszilárdulnak. Az eredményül kapott nanoszálak szabálytalan szerkezetű szövetet alkotnak, mely kompakt, körülbelül 1 mm vastagságú lap lesz (4. ábra B). A laborban elkészített hálókat olyan módon kell sterilizálni beültetés előtt, hogy az ne károsítsa a háló struktúráját vagy anyagát [58].

2.4. A polimer rendszerek toxicitásának *in vitro* értékelése

In vitro biológiai tesztelés

In vivo körülmények között, különböző szöveti környezetekben számos sejttípus vizsgálatára van lehetőség. Reaktív, kóros vagy gyulladásos állapotokat lehet így modellezni a nanoanyagok felületaktív molekuláin keresztül. A nanoanyagok kölcsönhatásai a fehérjékkel és a sejtekkel, vagy ezek befolyásolása ezeknek a bioanyagoknak a kompatibilitásán és toxicitásán keresztül lehetséges. Ezáltal vizsgálható a sejt-nanoanyag interakció, mint például a sejtek nanoanyagok felvétele vagy különböző módon történő feldolgozása, a membrán zavarok, a sejtek elektrontranszfer-kaszkádokra gyakorolt hatása, citokinek és kemokinek vagy reaktív oxigéngyökök hatása. A leggyakrabban használt sejtvonalak (kereskedelmi, jellemzően genetikailag módosított) vagy primer sejtek *in vitro* tenyésztése (szövet) műanyag lemezeken, szérummal vagy anélkül is lehetséges. A sejtekkel végzett *in vitro*

vizsgálatok széles lehetőségeinek következetesen tükrözniük kell a sejtek változatosságát a nanorészecskék *in vivo* lehetséges fiziológiai reakcióit és az összes lehetséges sejtfeldolgozási útvonalat. Európában a toxikológiai kockázatértékelésnek (BS 5736 szabványok) régóta szoros kapcsolata van az FDA-val, az Environmental Protection Agency-vel (EPA) és a Munkahelyi Biztonsági és Egészségvédelmi Hivatallal (OSHA). Az ISO 10993 szabványok előírják a biológiai vizsgálatokkal végzett toxikológiai kockázatbecslését az orvosi eszközöknek és anyagoknak, beleértve az anyagok jellemzését és lebomlási vizsgálatát is. Ahhoz, hogy hatékony legyen, a kockázatbecslésnek jól szervezettnek, dokumentáltnak és bizonyítékokon alapulónak kell lennie, hogy a termék vagy anyag biztonságát alá lehessen támasztani.

Sejtvonal megválasztása és felhasználása

Az *in vitro* sejttenyésztés jelentősége az orvosbiológiai kutatásokban fontos szerepet tölt be. Különböző, az állati és humán sejtekre jellemző biokémiai utakat, sejtszintű szabályozásokat lehet így vizsgálni. Ezen kutatások fejlődésével lehetőség nyílt rekombináns fehérjék előállítására, gyógyszer- és vakcinafejlesztésre, monoklonális ellenanyag termeltetésre vagy akár szövetek rekonstrukciójára és regenerálódásának elősegítésére. Jellemzően számos fő sejttípus alkalmazható *in vitro* vizsgálatokhoz, beleértve a fagocita, idegi, máj-, hám-, endotél, vörösvérsejtek és különféle daganatos sejtvonalakat.

Tumor sejtvonalak

Ab ovo transzformáltnak tekintendők a daganatszövetekből indított tenyészetek sejtjei, de a normál szekunder kultúrák is átalakulhatnak. Ennek több jele is van, amelyek közül legfontosabb az ún. immortalizáció. Ez azt jelenti, hogy a sejtek immár korlátlan ideig tenyészthetők *in vitro*. Másrészt megszűnik a kontakt-gátlás, a sejtek több rétegben képesek egymásra nőni (egy bizonyos határig). Megváltozik a transzformált sejtek genomja, akár annyira, hogy ez a kariotípusukban is megnyilvánul (és egy adott tenyészet sejtjei különféle aberrációkat is mutathatnak). Humán petefészekrák sejtekkel (A2780) polimer nanorészecskék felvételét vizsgálhatjuk [59], transzfektálásához humán prosztatarák PC-3 sejteket [60], a humán tüdő carcinoma A549 sejtek, Hela sejtek és B16 melanoma sejtek javasoltak [61].

In vitro toxicitási vizsgálatok

A beültethető eszközök toxicitásának értékelésével [62, 63], mint a biokompatibilitás egyik alapvető szűrési folyamatával az összes kiértékelés közül elsőként kell foglalkozni. Ezt a sejttenyésztési módszert a polimer anyagok toxicitásának hatékony értékelését 1965-ben vezette be Guess és munkatársai, majd később az American Society for Testing and Mareials (ASTM) szabványosította [64]. Megalapozott, hogy az *in vitro* módszerek nagyon jó korrelációt mutatnak az állati vizsgálatokkal, és gyakran érzékenyebbek a toxikus részekre [65]. Kétféle kölcsönhatás létezik a sejtek és a polimerek között. Az egyiket általában polimer toxicitásnak ismerik, amelyet a polimerekből kioldódó vegyi anyagok, például monomerek, oligomerek és a polimerek gyártási folyamatában alkalmazott különféle adalékok okoznak. Ezt indirekt interakciónak nevezzük, mivel a polimerből felszabaduló mérgező vegyi anyagok a tápközegen keresztül reagálnak a sejtekkel. A másik a polimer felület és a sejtek közötti közvetlen vagy direkt kölcsönhatás, amelyet a sejtek felszínhez való kötődése jellemez. Annak ellenére, hogy gyakran hiányzik a kiszámíthatóság az *in vitro* modellek és az *in vivo* megfigyelések között, a sejtmodellek továbbra is keresettek validálás, az anyagok minőségellenőrzésének elemzése céljából. Ezeket a standard *in vitro* vizsgálati módszereket az ISO 10993 [66, 67] határozza meg.

Sejttoxicitás mérhető a jelenlevő citotoxikus hatásokkal, melyek gátolják a sejtek növekedését és a sejtek morfológiája is megváltozhat (pl. óriás sejtek, többmagvú sejtek, szemcsés, egyenetlen megjelenés, vakuolumok a citoplazmában vagy a sejtmagban). Továbbá a sejttoxicitás az életfunkciók elvesztését okozhatja, mértékét különféle viabilitás mérési módszerekkel lehet meghatározni.

2.5. Állatkísérletek megválasztása a nanomedicinában

In vitro körülmények között nem lehetséges minden élettani folyamat modellezése. Ezért szükség van állatmodellek felhasználására, melyek kivitelezése az Európai Unió és tagországainak szigorú szabályozásához kötött (2010/63/EU Irányelv, 40/2013 Kormányrendelet). Célja lehet terápia kidolgozása, megelőzés, új gyógyszerek, vakcinák vagy valamilyen orvos technikai eszköz fejlesztése. Követelmény, hogy a kutatásunkat szakmailag megalapozott irodalomkutatás előzze meg, és nem végezhető ugyanolyan állatkísérlet sem, melyet már egyszer publikáltak. Fontos állatvédelmi

szempontból a „3R” szabályainak betartása és betartatása is. Első lépés egy olyan állatmodell felállítása, mely utánozni képes a jelenség valós lefolyását. Figyelembe kell venni minden esetben, hogy az *in vitro* kísérletek eredményei nem minden esetben vonatkoztathatók az *in vivo* kísérletekre.

A jó állatmodellnek meg kell egyeznie a sejtes és molekuláris tulajdonságokban, biológiai viselkedésben és a terápiára adott válaszban a humán eredményekkel. A szakirodalom áttekintése után kijelenthető, hogy az implantátumok kutatásában előforduló állatmodellek nagyon változatosak. Ezek a modellek nagyfokú különbözősége, úgy, mint állatfajokban, beültetésre kerülő implantátumokban és ezek különböző paramétereinek értékelésében, azt eredményezte, hogy nehéz volt őket egymás között összehasonlítani. A sérvhálók esetében meglévő és új szemléletek növekvő változatossága miatt preklinikai állatkísérletek szükségesek az új háló biokompatibilitásának és hatékonyságának felméréséhez, mielőtt azokat a klinikai gyakorlatban alkalmaznák [68-70]. Ezeket a fontos tulajdonságokat csak állatmodellekkel lehet megfelelően kutatni [71]. Ahhoz azonban, hogy a kísérleti kutatások megfelelő hatást fejtsenek ki, a különböző kutatócsoportok által publikált kutatásoknak összehasonlíthatóknak és reprodukálhatóknak kell lenniük [72, 73].

A sertés az egyik legáltalánosabban használt faj a transzlációs kutatásban, a műtéti modellezésben, de találkozhatunk velük tréning központokban, ahol különböző műtéti eljárások gyakorlására van lehetőség. Számos pozitív előnye van a sertések felhasználásának, mivel nagy a hasonlósága a kardiovaszkuláris, hisztopatológiai és klinikopatológiai tulajdonságainak. A kísérletek során használható mind a házisertés (Sus scrofa domestica), mind a mini változata. Eltérés csupán a méretükben fedezhető fel. Kísérlet tervezésekor figyelembe kell tehát venni a házisertés gyors növekedését, ami a kezdeti 1-2 kilogrammos súlyból akár 100 kilogrammra is nőhet 4 hónapos korára. A velük tervezhető kísérleti intervallum opcionálisan 3-6 hét között lehet. Dermatológiai tanulmányokhoz ajánlott, mivel struktúrájában a sertés bőre hasonlít legjobban a humánhoz, az epidermis vastagsága, és a dermis-epidermis aránya is megfelelő. Ezért sebgyógyulási vizsgálatokhoz megfelelő.

Bár leginkább a nagy állatmodellek (sertések) hasonlítanak az emberi szervezetre, a legtöbb kutatás (a sérvmodellek> 50%-a) patkánymodellekre összpontosít [74, 75]. A műtéti sérv helyreállítása gyakran megköveteli a szöveti hiány pótlását egy beültetett idegen anyag által. Ebben a tekintetben szintetikus és természetes anyagokat is használhatunk a sérv helyreállítására. Számos szintetikus anyag jellemzően nem szívódik fel, és ezek közé tartozik a polipropilén, a polietilén-tereftalát-poliészter és a habosított politetrafluor-etilén, míg más szintetikus implantátumok az egyik nem felszívódó anyagot egy felszívódó polimerrel, például poligalaktinnal kombinálják. A patkányok ilyen vizsgálatokhoz való alkalmazásának előnye, hogy könnyen kezelhető modellt kínálnak, és méretük lehetővé teszi olyan anyagok kiértékelését, amelyek a kísérleti fázisban csekély mértékben állnak rendelkezésre. Továbbá, a patkányokkal járó, más fajokkal szembeni alacsonyabb költségek lehetővé teszik a hasi sérvek helyreállításában felhasználható bioanyagok szűrésére. Bár a patkányok általában nagyon gyorsan felépülnek a műtét után, fennáll bizonyos lehetőség a műtét utáni komplikációkra. Például néhány patkány eltávolítja a bőrvarratokat.

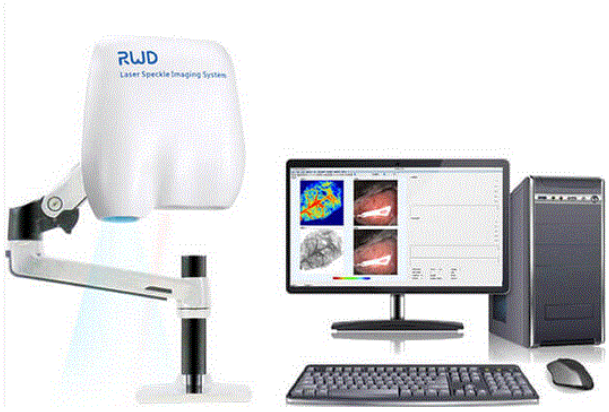
Ugyanakkor el kell ismerni, hogy a hasi sérv modellezése patkányok felhasználása mellett az emberre korlátozza a transzlációt. Továbbá, mivel számos klinikailag releváns sérvről úgy gondolják, hogy társbetegségekkel, például cukorbetegséggel, elhízással és kötőszöveti problémákkal társul, a kiértékelése megnehezítheti a modell transzlációs értékét [76].

2.6. Lézerpont kontraszt képalkotó rendszer (LSIS) használata perfúziós vizsgálatokban

A szív- és érrendszeri betegségek, érelmeszesedés, cukorbetegség és krónikus vénás elégtelenség, különböző funkcionális és morfológiai változásokat okozhat a véráramlásban. A véráramlás dinamikus monitorozása ezért kiemelkedően fontos az élettudományi kutatásokban és klinikumban. Jelenleg az élő szövetek, különösen az erek vizsgálatát a mágneses rezonancia perfúziós képalkotás, a pozitronemissziós tomográfia, a röntgenangiográfia, a fluoreszcencia angiográfia és a lézer Doppler áramlásmérő segíti. Ezek a képalkotó rendszerek azonban leginkább holisztikus képalkotáshoz használhatók. A Doppler-áramlásmérő hátránya, hogy nem nyújt teljes körű kétdimenziós (2D) térképet a véráramlás sebességéről.

Ezzel szemben a LSIS egy non-invazív, érintés nélküli, nagy időfelbontású, nagy térbeli felbontású és teljes mezős gyors képalkotással, valós idejű dinamikus véráramlás-figyelési és -felvételi módszert biztosít élettudományi kutatásokban. A LSIS rendszer folyamatos hullámú (cw) lézerrel biztosítja a 2D teljes sebességű véráramlás eloszlását.

A lézerpont kontrasztos képalkotási rendszer egy egyszerű és minimálinvazív optikai technika a szövetekben történő véráramlás leképezésére. A lézerpont egy véletlenszerű interferencia-minta, amelyet szétszórt fotonok koherens hozzáadása eredményez. Ha a fotonokat mozgó részecskék szórják szét, például mozgó vörösvértestek, akkor a foltmintázat térben és időben egyaránt megváltozik. A pöttyözött minta térbeli és időbeli statisztikája információt nyújt a szétszóródó részecskék mozgásáról. A mozgás számszerűsíthető a pontkontraszt használatával. Ezért az LSIS hasznos eszköz a véráramlás mérésére. A rendszer egy optikai mikroszkópot, egy képrögzítőt, software-t és egy asztali számítógépet tartalmaz (4. ábra) [77].



4. ábra RWD Lézerpont kontraszt képalkotó rendszer

3. CÉLKITŰZÉS

Elsődleges cél egy olyan saját fejlesztésű scaffold létrehozása volt, amellyel lehetséges a károsodott vagy hiányos szövetet pótolni vagy akár újraépíteni. Maga a polimer váz hosszútávon lebomló, térhálós szerkezete rendelkezik a szükséges feltételekkel a sejtkultúrák tenyésztéséhez, utánozva a sejtek eredeti környezetét. A sérült szövet (hasfali hiány) regenerálódása, a szöveti újra épülés után káros metabolitok hátrahagyása nélkül a szervezetből felszívódik.

1. Kutatócsoportunk célja volt elektrospinning technikával poli(vinil alkohol) scaffoldok előállítása, melyben vizsgálni kívántuk a kifejlesztett scaffold és a különböző sejtkultúrák közötti interakciókat. A térhálós szerkezetű géleken a toxicitási vizsgálatokat humán tüdő adenocarcinoma (A549) és humán bőr fibroblaszt (HDFa) sejtvonalakon kívántuk elvégezni.

2. A nanomátrixoknak biokompatibilisnek és biodegradábilisnek kell lenniük az élő szervezetben. Állatkísérletekkel kívántuk igazolni, hogy a klinikai gyakorlatban jelenleg is használt polipropilén háló vagy a felszívódó hálók okoznak -e szövődményeket és ezeknek milyen az aránya, súlyossága.

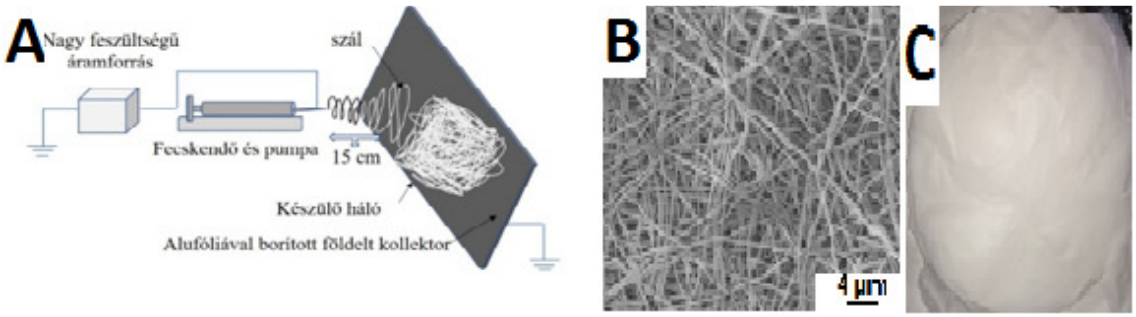
3. Kis- és nagyállatokon végzett *in vivo* kísérletekkel kívántuk a humán műtéthez hasonlóan a hálóbeültetést modellezni a későbbi reprodukálhatóság érdekében.

4. A hálóbeültetések okozta sebgyógyulás és lokális véráramlási viszonyok változásait multifunkcionális lézerpont képalkotó rendszer segítségével kívántuk vizsgálni PP és PVA hálók beültetését követően.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. PVA sebészi háló előállítása

A varrható profilú és jó mechanikai tulajdonságokkal rendelkező PVA biomimetikus scaffoldokat (5. C ábra) kutatócsoportunk állította elő PVA por (Merck-Scuchardt, Hohenbrunn, Németország) felhasználásával (molekulasúly ~ 72 000) hagyományos elektrospinning technika (5. A ábra) alkalmazása mellett. Röviden, a PVA-t 90 ° C-on 2 órán át vízben oldjuk, és 30 percig tartjuk a homogenizáció biztosítása érdekében. A PVA vizes oldat koncentrációja 5-15 tömeg% között változott. A PVA-oldatot üvegfecskendőbe helyeztük (Fortuna Optima, Sigma-Aldrich, USA), és egy nagyfeszültségű (16-20 kV) tápegységből származó elektródát egy fém Hamilton fecskendő hegyéhez rögzítettünk. Ez a technika egy fecskendő csúcsa és egy aljzat, jellemzően alumínium fólia közötti DC-potenciálra támaszkodik, amely egy földelt kollektor felületén volt. A szintetizált háló véletlenszerű, térhálósított és kompakt szerkezetet mutat 1 mm vastagságban (5. B ábra). Jelenlegi beállításunkban a maradék oldószer víz volt, ami nem okoz semmilyen mellékhatást [74]. Sejtkultúrában vagy állatmodellben történő felhasználása előtt a hálókat klór-dioxid (ClO_2) oldatban (Solumium, Sanitaria, Budapest, Magyarország) 2 órán át sterilizáltuk a gyártó protokollja szerint [58]. Mind az *in vitro*, mind az *in vivo* kísérletekben csak sterilizált hálót használtunk (5. ábra C).



5. ábra A) Electrospinning hálókészítés sematikus ábrája, B) PVA szálak SEM fotója, C) varrható PVA nanoháló

4.2. PVA sebészi háló fizikai, mechanikai és prebiológiai tesztelése

A biokompatibilátási kísérletek előtt kritikus szempont a nanohálók előtesztelése minőségellenőrzési szempontból, mely a tisztítási folyamatok, keresztkötések és sterilizálási folyamatok tanulmányozását jelenti. Ezek az előtesztelések jelentős eredményekkel szolgálhatnak a jövőbeni *in vitro* és *in vivo* kísérletekhez [78].

PVA háló sterilizálása és tárolása

A hálók sterilizálását ClO_2 használatával végeztük. A ClO_2-t az 1800-as évek elején fedezte fel Sir Humprey Davy. Szintetikus, zöldes-sárgás vegyület, amely hígítva magas koncentráció mellett erősen redukálja a mikroorganizmusokat. Alkalmazható például olyan vizek fertőtlenítésére, melyeknek nagy a szervesanyag tartalma. A ClO_2 képes áthatolni (permeálni) szilárd polimereken, ugyanakkor ezeken az apoláris fázisokon a vízoldható szervetlen anyagok már nem mennek át. A ClO_2 hipertiszta oldata gyógyászati alkalmazásra is kiváló. Fontos tulajdonsága még, hogy vele szemben a mikrobák nem képesek rezisztenciát kialakítani. A minták tárolása steril pufferolt foszfát sóoldatban (PBS) (pH=7,4), nátrium-azid hozzáadásával történt.

PVA háló degradációs vizsgálata

A PVA háló felületi tulajdonságait pásztázó elektronmikroszkóppal (Scanning Electromicroscope: SEM) vizsgáltuk 15 kV-os gyorsított elektronnyalábon, vákuumban, platina réteggel bevont mintán. Az *in vitro* degradációs teszteket 2% nátrium-azidot (NaN_3) tartalmazó PBS oldattal 37 °C-on, pH = 7,4 mellett végeztük. 6 mintából álló sorozatot használtunk a kísérletekben. Az oldatot 15 naponta kellett feltölteni. A minták előre meghatározott időközönként (30 és 90 nap) eltávolításra kerültek az oldatból, és desztillált vízzel való mosás után, 24 órán át 37 °C-on kerültek szárításra. Szárítás után megmérve, és a kísérlet kezdetén mért értékből kivonva a kezdeti száraz tömeget kiszámítottuk a méretbeli csökkenést, a háló degradációjának mértékét.

Makroszkópos vizsgálatok

Az állatokból nyert mintákat, a háló felületének és a környező szövetek patológiás elváltozásainak kiértékelése alapján vizsgáltuk.

Mechanikai vizsgálatok

A hasi sérv kezelésében széles körben alkalmazzák a polipropilén alapú hálókat, melyeket kísérleteinkben kontrollként használunk. Tulajdonságaikat átfogó vizsgálatoknak vetették alá, melyekről számos tudományos közlemény került leírásra. A kísérleteinkben kontrollként használt hálók képesek ellenállni egy körülbelül 64 N/cm^2-es húzóerőnek, mielőtt megszakadna egy szokásos egytengelyes mérés során, ami több mint elegendő ahhoz, hogy ellenálljon a köhögés vagy ugrás során keletkező átlagos nyomásnak a hasban.

A PVA-háló és a kontroll PP háló mechanikai tulajdonságait együttesen vizsgáltuk meg annak érdekében, hogy megjósolhassuk az implantáció során várható teljesítményüket az *in vivo* kísérletek során, melyek részletes leírásra kerültek az „Anyag és módszer" részben.

Szakítószilárdsági adatok alapján a beépülés erőssége a háló és a parietális peritoneum között határozandó meg. Meghatároztuk azt a maximális erőt, mely az egyes minták elszakításához szükséges. Értékét N/cm^2-ben adtuk meg. A PVA minták mechanikai vizsgálatát alapvetően egy axiális húzópróbával végeztük, ahol a varrhatóságot és maximális erőt a húzóerőkkel szemben vizsgáltuk. A PVA háló szakadási pontját ZWICK Z050 rugalmas modulus mérővel (Ulm, Németország) mértük szobahőmérsékleten. A méréshez 15 × 50 mm-es téglalapokat vágtunk ki és rögzítettük egyszerű bilincsekkel. A mérést 10 mm / perc keresztfej sebességgel, 3 párhuzamos kísérletben végeztük el. A szakítógép ZWICK TestXpert 11.0 programmal kirajzolja a mérési diagramokat [78].

4.3. *In vitro* vizsgálati módszerek

4.3.1. Sejtmorfológiai vizsgálatok

A sejtek inkubációjához (5% CO_2, 37°C) 10% Foetal Bovine Serumot (FBS) (Sigma Aldrich, Budapest, Hungary), 2 mM Glutamint (Sigma Aldrich) és Gentamicint (100 IU/ml and 100 g/ml, Sandoz) tartalmazó médiumot használtunk (DMEM) (Sigma Aldrich), melyet minden második napon cseréltünk a sejtkultúrán. A sejtkultúra konfluenssé válásakor (70 % – 80 %, 2-4x10,000 cells/cm^2), 0,25% Trypsinnel (Sigma

Aldrich) szuszpendáltuk, majd Bürker-kamra segítségével határoztuk meg a megmaradt sejtszámot.

A tenyésztőedény felületéhez tapadt sejteket 4% formaldehid oldattal fixáltuk, majd GIEMSA festéssel vizualizálásra került. Minden izolátumból véletlenszerűen kiválasztásra került 50 darab sejt, melyek hosszanti átmérője Spot Advanced Plus (SPOT Imaging, Diagnostic Instruments Inc., Detroit, USA) program segítségével mértük meg került, majd az értékek számtani átlagát számítottuk ki. Az egyes állapotok sejtadhéziós arányát 72 órás inkubálás után a következő egyenlet segítségével számított ki: Adhéziós arány% = (1-NM / 3,0x104) x 100. Az összes közölt adat, három vizsgálat átlaga volt.

4.3.2. PVA háló *in vitro* biokompatibilitási vizsgálatai A549 sejtvonalon

A sejtek tapadását, morfológiáját humán tüdő adenocarcinoma (A 549) sejtvonalon tanulmányoztuk. A sejtek inkubációjához (5% CO_2, 37°C) 10% Foetal Bovine Serumot (FBS) (Sigma Aldrich, Budapest, Hungary), 2 mM Glutamint (Sigma Aldrich) és Gentamicint (100 IU/ml and 100 g/ml, Sandoz) tartalmazó médiumot használtunk (DMEM) (Sigma Aldrich), melyet minden második napon cseréltünk a sejtkultúrán. A sejtkultúra konfluenssé válásakor (70 % – 80 %, 2-4x10000 sejt/cm^2), 0,25% Trypsinnel (Sigma Aldrich) szuszpendáltuk, majd Bürker-kamra segítségével határoztuk meg a megmaradt sejtszámot.

Az *in vitro* biokompatibilitási tanulmányainkban a PVA-háló lebomlásakor keletkező molekulák toxicitását, illetve a háló-sejt interakciót vizsgáltamuk humán tüdőcarcinoma epitél sejteken (A-549). Először különböző koncentrációjú (10–8–0,8 g/100 g) PVA-oldatok biokompatibilitását mértük. Az oldatot médiumban áztatott PVA-hálóból és glutáraldehidből készítettük (GDA), majd összekevertük a médiummal mielőtt sejteket helyeztünk bele. A GDA keresztkötő szerepet tölt be, ami a polimer vízben való oldásának elkerülése miatt szükséges.

A következő kísérletben a sejtek tapadását és morfológiáját vizsgáltuk PVA hidrogél jelenlétében. A hidrogél elkészítéséhez PVA-oldat, GDA és desztillált víz került

felhasználásra, a gélképződés 2 M-os sósavoldattal lett indukálva. Később a hidrogéleket Petri-csészébe helyeztük, és a sejteket a felületükre pipettáztuk. 192 órás inkubálást követően Olympus CK2 fáziskontraszt fénymikroszkóppal (Olympus Optical Company, Tokyo, Japán) vizsgáltuk a sejtek alakváltozásait, amiről fotókat készítettünk dokumentáció céljából.

Végül a PVA-hálókat, médiumba helyeztük (DMEM 6546, Sigma Aldrich), amihez 10% FBS-t (Kvalitex Kft, Budapest, Magyarország), 4% L-glutamint (Life Technologies, Carlsbad, USA) és gentamicint (Sandoz GmbH, Budapest, Magyarország) adtunk. 24, 48, 72, 96 és 168 órán át inkubáltuk (37 °C, 5% CO_2), majd 24 lyukú plateken (Sarstedt Ltd, Leicester, Nagy-Britannia) vizsgáltuk. A hálókat 2 M sósavoldattal előkezeltük és ClO_2-al sterilizáltuk. A kísérletek azt is igazolták, hogy a ClO_2 nincs negatív hatással a sejtek életképességére és osztódására, baktericid és antiszeptikus hatása jól ismert. A kontroll csoportban A-549 sejteket helyeztünk el médiumban, hálók nélkül. A sejteket tripán-kék festékkel vizualizáltuk, majd digitális fényképezőgéppel (DEM 130, Scope Photo szoftver) fotókat készítettünk [78].

4.3.3. Proliferációs és toxikológiai vizsgálatok HDFa sejtvonalon

Felnőtt humán dermális fibroblast sejteket (Human Dermal Fibroblasts, adult: HDFa) (Thermofisher Scientific, Waltham, USA) az 5. passzusig tenyésztettük, és 3x104 sejt / well koncentrációban a PVA nanoszálas minták tetejére helyeztük. A sejteket 37 °C-on, 5% CO_2-atmoszférájú inkubátorban, specifikus sejttápközegként Médium 106 (Thermofisher Scientific) felhasználásával inkubáltuk. A médium Low Serum Growth Supplement (LSGS) kiegészítő szérumot tartalmazott antibiotikumok nélkül. A vizsgálat céljából a sejteket 24 üreges lemezeken tenyésztettük. A médiumot kétnaponta cseréltük, hogy biztosítsuk a lemezek megfelelő tápanyagellátását. 24, 72, 168 óra elteltével a scaffoldok egy részét (n = 5) Vybrant Dio Cell-jelző oldattal (Thermofisher Scientific) festettük meg a vizualizáció céljából. A hálókat egy éjszakán át 4 °C-on formaldehid-oldatban tartottuk, és 60% etanollal dehidratáltuk. Ezek után a scaffoldok felületéhez letapadt sejtek morfológiáját kielemeztük. A kontroll csoport HDFa sejteket és nanoszálas minták nélküli médiumot tartalmazott. A fényképeket digitális fényképezőgéppel (DEM 130, Scope Photo szoftver) és fluoreszcens mikroszkóppal

(Nikon Eclipse 80i, Nikon Instruments Inc., New York, USA) készítettük.

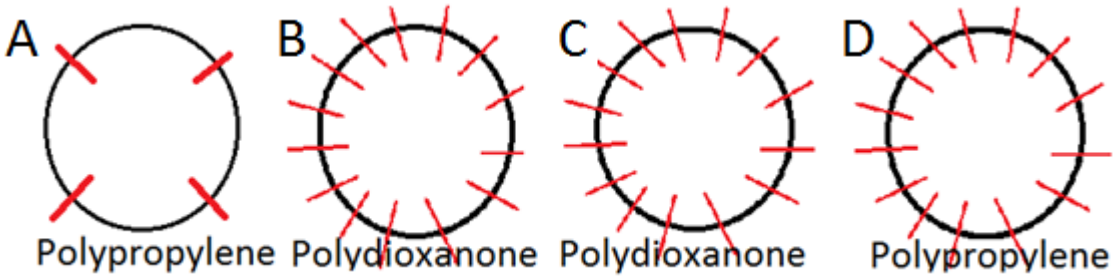
4.4. A hálók *in vivo* beültetése

4.4.1. Előkísérletek

A PVA hálók beültetésének különböző módozatait hím Wistar patkányokon (testsúly: 250 ± 50 g) vizsgáltuk. Az állatokat itatóüveggel ellátott patkány kennelekben (maximum négy állat kennelenként) standard laboratóriumi körülmények között (20–22 °C-os hőmérsékleten, 50–60%-os relatív páratartalomban, 12 órás világos-sötét ciklusokkal) tartottuk. Pellet formátumú tápot kaptak és szabadon hozzáférhettek az élelemhez és a vízhez. Az összes állatkísérleti eljárást a Magyar Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (22.1/1244/3/2011 számú) engedélye szerint végeztük. A Wistar patkányokat ketamin (70 mg / testtömeg kg, Calypsol 50 mg / ml injekció) és xilazin (10 mg / testtömeg kg, CP-xilazin 2% injekció AUV) injekcióval altattuk (Richter Gedeon Kft., Budapest, Magyarország), ezek 4:1 arányú keverékét intraperitoneálisan adtuk be.

Műtéti protokoll

Előkísérleteinkben a patkányok négy csoportba lettek osztva, csoportonként (n=15) különböző technikával lettek a PVA hálók implantálva (6. ábra). Az I. csoport (6. ábra A) esetében 15 patkánynál művi sérvkapú képzése nélkül ültettük be a hálókat a hasfalra 4 darab egyszerű csomós öltéssel rögzítve, 4/0-ás PP nem lebomló fonal felhasználásával. A II. csoportban (6. ábra B), művi sérvkapu képzése után (d=2 cm) a PVA hálókat 4/0-ás PDO lebomló fonallal rögzítettük, egyszerű tovafutó öltéssorral. A III. csoportban művi sérvkapu képzése nélkül, a hasfalra ugyancsak egyszerű tovafutó öltéssorral rögzítettük a hálókat 4/0-ás PDO lebomló fonallal (6. ábra C). Míg a IV. csoportban művi sérvkapu képzése (d=2 cm) után a hálók ugyancsak 4/0-ás PP, nem lebomló fonallal, egyszerű tovafutó öltéssorral kerültek rögzítésre. A kontroll csoportban nem történt hálóbeültetés, hanem minden esetben egy paramedian metszést követően zártuk a hasfali sebet az operált állatokhoz hasonlóan. A hasfalat több rétegben zártuk, az izomzatot egyszerű tovafutó öltéssorral 4/0-ás PDO lebomló fonallal zártuk, majd a bőr varratához, egyszerű csomós öltéseket alkalmaztunk ugyanezzel a fonallal.



6. ábra A) Az I. csoport esetében 15 patkánynál művi sérvkapu képzése nélkül ültettük be a hálókat a hasfalra 4 darab egyszerű csomós öltéssel rögzítve (4/0-ás PP nem lebomló fonal). B) A II. csoportban művi sérvkapu képzése után (d=2 cm) a PVA hálókat egyszerű tovafutó öltéssorral (4/0-ás PDO lebomló fonallal) rögzítettük. C) A III. csoportban művi sérvkapu képzése nélkül a hasfalra ugyancsak egyszerű tovafutó öltéssorral rögzítettük a hálókat (4/0-ás PDO lebomló fonallal). D) A IV. csoportban művi sérvkapu képzése (d=2 cm) után a hálók ugyancsak (4/0-ás PP, nem lebomló fonallal) egyszerű tovafutó öltéssorral kerültek rögzítésre.

Az állatok a 7., 14., 28. és 90. posztoperatív napokon kerültek terminálásra. A termináláskor makroszkóposan vizsgáltuk a hálók által kiváltott lehetséges idegentest reakciókat, illetve a hálók beépülését, majd a hálók és a környező szövetek eltávolításra és mikroszkópos vizsgálatra kerültek.

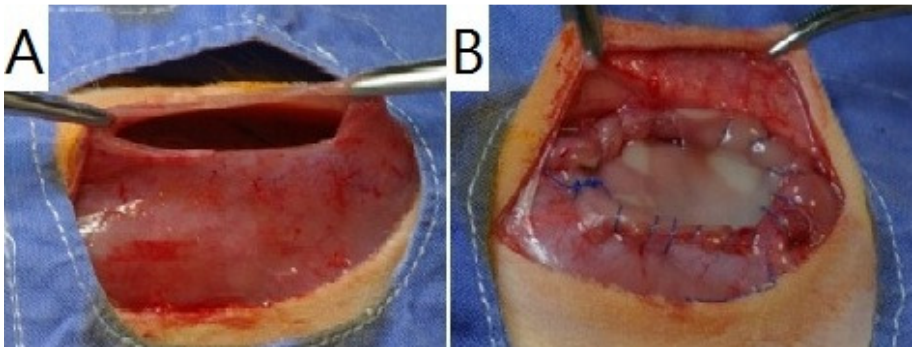
4.4.2. Kisállat modell rövid és hosszútávú kísérletei

A PVA hálók beültetésére kisállat modellt hoztunk létre. Rövid és hosszú távú kísérletekben vizsgáltuk az elektromos szálhúzással készített PVA minták biokompatibilitását és biológiai lebonthatóságát. Erre hím Wistar patkányokat használtunk, amelyek tömege 250 ± 50 g volt. Az állatok tartási és altatási protokollja megegyezett a 4.4. pontban leírtakkal.

Műtéti protokoll

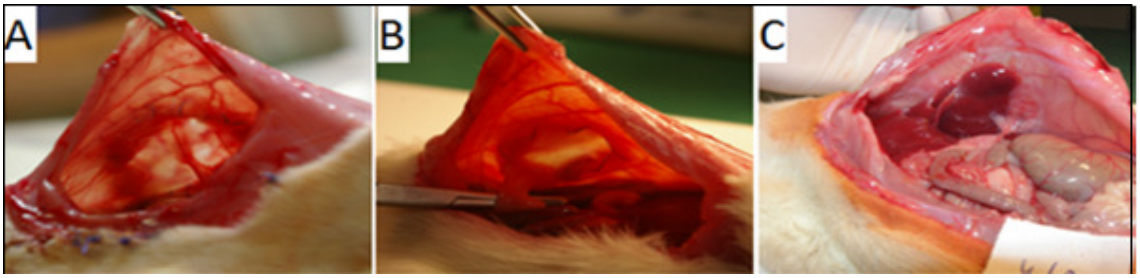
A kisállat modellhez az állatokat véletlenszerűen választottuk ki és 10 csoportra (n=3) osztottuk őket, a háló beépülésének utánkövetési ideje szerint. A sérv modellben a bőr paramedián bemetszését követően a hasfal jobb oldalán egy szövethiányt hoztunk létre (d= 2 cm) (7. A ábra). A hiányt PVA hálóval fedtük (d= 2,5 cm) (7. B ábra)., a hálót

pedig egyszerű tovafutó varrattal, 4/0-s PP nem felszívódó varróanyaggal rögzítettük. A bőrt egyszerű csomós varrattal zártuk be ugyanezzel a varróanyaggal. A kontroll állatokban (n=10) egy 4 cm-es median laparotomiát végeztünk, majd kétrétegű zárást alkalmaztunk 4/0-ás varróanyaggal. Reoperációra a következő posztoperatív napokon került sor: 1. (n= 3), 2. (n=3), 3. (n=2), 4. (n=3), 5. (n=3), 7. (n=3), 14. (n=1), 28. (n=3), 90. (n=3), és 180 (n=2). A paramedian feltárás után az adhéziókat makroszkóposan típusuk, méretük és helyük szerint dokumentáltuk.



7. ábra A) hasfali hiány képzése, B) beültetett PVA háló

A kitapadások mértékét félkvantitatív módon értékeltük Diamond klasszifikáció [79] (7. táblázat) szerint, valamint alak és méret szerint. Az alak megállapítása az összetapadt felszín 2 dimenziós mérésével történik, az alábbi kategóriák szerint: oszlopos (az összetapadt felszín kisebb, mint 0,5x0,5cm) (8. A ábra), függönyszerű (az összetapadt felszínek hossza> 0,5cm, de szélességük <0,5cm) (8. B ábra), és teljes felületi (az összetapadt felszínek nagyobbak, mint 0,5x0,5cm) (8. C ábra).



8. ábra A) oszlopos adhézió, B) függönyszerű adhézió, C) teljes felületű adhézió

Három fokozatra osztottuk az adhéziók erősségét: instabil, közepesen tartós és tartós. Az instabil kategóriába tartoznak azok az adhéziók, melynél a felszínek a reoperáció és

a mintavétel során könnyen, különösebb húzás nélkül, esetleg maguktól is elválnak egymástól. A közepesen tartós kategóriába azok az adhéziók tartoznak, melyek a reoperáció és a mintavétel során összetapadva maradnak, de közepes húzással elválaszthatóak, nagyobb szövetroncsolás vagy vérzés nélkül. A tartós kategóriába azok az adhéziók tartoznak, melyeket még erős húzással sem lehet elválasztani egymástól, ezeket csak éles preparálással, és potenciális súlyos vérzés veszélye mellett lehet eltávolítani. A lokális reakciót makroszkóposan és szövettanilag is értékeltük. A hálókat a környező szövettel együtt 10%-os formaldehid-oldatban fixáltuk a terminálás után. Minden mintát fénymikroszkópos vizsgálatnak vetettünk alá és morphometrikus módszerrel kvantitatívan is értékeltük.

Értékelésre kerültek a gyulladásos és lágyszöveti reakciók is. Célunk volt a biokompatibilitás vizsgálata mind a korai, mind a késői fázisban, az adhéziós, gyulladásos és kötőszöveti válaszreakciók mérésével is ezt kívántuk meghatározni.

A más közlemények eredményivel való összehasonlítás megkönnyítése érdekében az adhézió kialakulását Vandendael-pontszám alapján is pontoztuk, ahol megszámoltuk az egyes tapadási szálak mennyiségét, szélességét, vastagságát és szilárdságát. Az 1-4-ig terjedő pontot tekintünk enyhe adhéziós foknak, 5-8 pontot mérsékeltnek, 9-12 pont esetén súlyosnak mondható az összenövés (8. táblázat) [80].

8. táblázat Vandendale és Diamond-féle kiértékelés

Pont	Mérték	Erősség	Erezettség	Hossz (mm)	Vastagság	Sub. tartósság
0	0	nincs	nincs ér	-	-	-
1	<25	gyenge	áttetsző	<2	<1	+
2	25-50	gyenge	nincs ér	2-10	1-3	++
3	50-75	erős	kis mértékű érképzés	>10	>3	+++
4	>75	erős	jó erezettség	-	-	-

Vandendael: 0=nincs, 1= enyhe (1-4), 2= mérsékelt (5-8), 3= súlyos (9-12)

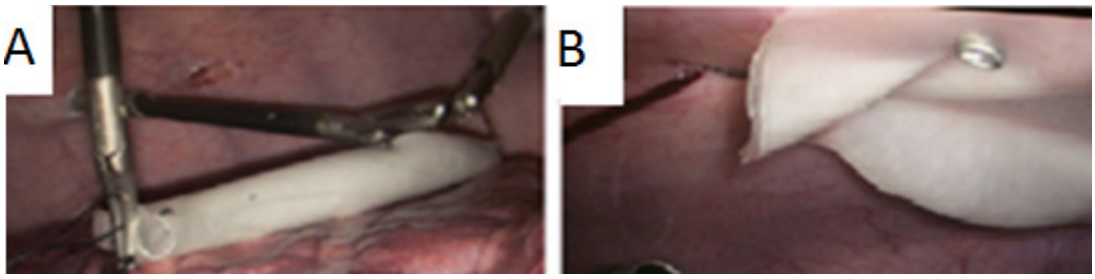
+ (erezettség jelen van) és – (nincs erezettség)

4.4.3. Nagyállat modell – 5 hetes utánkövetés

Nagyállat modellként előkísérlet céljából házi sertéseket (n = 4) használtunk, átlagosan 30 ± 5 kg testtömeggel. Az állatok standard istállói körülmények között voltak tartva, és szabadon hozzáférhettek az élelemhez és a vízhez. Az összes állatkísérleti eljárást a Magyar Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (22.1/1244/3/2011.) engedélye szerint végeztük. A műtéti beavatkozás előtt a sertéseknek premedikációt adtunk ketamin (5 ml / 35 kg testtömeg, Calypsol 50 mg / ml injekcióban), xylazin (5 ml / 35 kg testtömeg, CP-Xylazine 2% injektálva, AUV) és atropin (1 ml / 35 kg testtömeg) elegyével. Az általános érzéstelenítéshez intratracheális tubuson keresztül izoflurán (2,5-3,5% v / v) gázt és oxigént adtunk.

Műtéti protokoll

A sertés modellen (n = 4) hasfalhiány képzése nélkül történtek a vizsgálatok. A felszívódó PVA-hálót (d = 8 cm) (9. A-B ábra) és a nem felszívódó hálókat (d = 8 cm) laparoszkóposan ültettük be és intraperitonálisan rögzítettük mindegyik állatban a bal és a jobb oldalon szimmetrikusan a patietalis peritoneummal bélelt hasfalra. ProTack™ Fixation Device (Covidien - Medtronik, Dublin, Írország) 5 mm-es rögzítőelemeivel történt a hálóknak az izmokhoz való fixálása. Öt héttel a műtét után valamennyi sertésből eltávolítottuk a hálókat, makroszkóposan értékeltük a szöveti reakciót, úgy, mint a kitapadás kialakulása, a szöveti integráció, a diszlokáció, a seromák, a gyulladás jelenléte, illetve a háló zsugorodása. A minták a hálót, a hasizmot, a fasciát és a bőrt is tartalmazták, melyeket 10% -os pufferolt formaldehid-oldatban szövettani vizsgálatra kerültek. A hisztológiai kiértékelést 2 egymástól független patológus végezte el. Mikroszkóposan meghatározásra került a gyulladásos sejtek, a fibroblastok és a szöveti reakciók jelenléte.



9. ábra PVA háló implantálása: A) behelyezett és kibontott PVA háló a hasüregben, B) beültetett és rögzített PVA háló

4.5. Perfúziós vizsgálatok PVA és PP hálók beültetését követően Lézerpont kontrasztos képalkotó rendszer (LSIS) használatával

Képalkotó rendszer

A többfunkciós képalkotó rendszer esetében a forrás a 640 nm-es szilárdtestű egyfrekvenciás lézer, amelynek koherenciahossza> 300 m (RCL-025-640-S, CystaLaser, 25 mW). Egy félhullámos lemezt és egy polarizáló sugárosztót használ a minta megvilágításához. Továbbá található benne egy hengeres lencse (ACY254-050-A, gyújtótávolság 50 mm), ami a fény egy dimenzióban történő sűrítésére szolgál. A vonalas szkenneléshez 1-D Galvo tükröt (Thorlab, GVS011) használunk. A mintából visszaszórt fotonokat a lencse gyűjti össze, leeresztve, tükröződik az érzékelő karon a polarizáló fénysugárral a kamera felé. A polarizátort a kamera lencséje elé helyezzük lineárisan, és annak helyzetét merőlegesen állítjuk be úgy, hogy a fénysugár polarizációja elnyomja a minta tükröződését. A kamera középvonala (Andor, Zyla 5.5 tudományos CMOS) úgy van beállítva, hogy konjugálódjon a megvilágítási vonal a mintán. NI PCI-6115 adatgyűjtő kártyát és Labview programot használunk a Galvo tükör és a kamera szinkronizálásához.

Két üzemmód használata lehetséges: az egyik a felületi megvilágító lézerpont kontrasztos képalkotás (SI-LSIS). A hengerlencse eltávolításával a minta felülete világít, és a kamerát 100 kép / mp sebességgel, teljes képpel rögzítik 2560 x 2160 pixel felbontás. A képfelvétel sebessége tovább növelhető csökkentve a benyújtott nézetet. A másik mód a vonalas letapogatású lézeres foltkontraszt képalkotás (LS-LSIS), ahol a hengeres lencse benne van a megvilágítás fényútjában, és a kamera úgy működik, mint egy vonalkamera. Ebben az üzemmódban a kameraérzékelő értékelési tartománya (ROI)

760-ra 2560 közötti pixelre van állítva. A megvilágítási vonalat a Galvo tükör pásztázza a vízszintes mentén, 500 lépcsőn az SI-LSIS-vel megegyező képalkotó terület bal oldalától a jobb széléig.

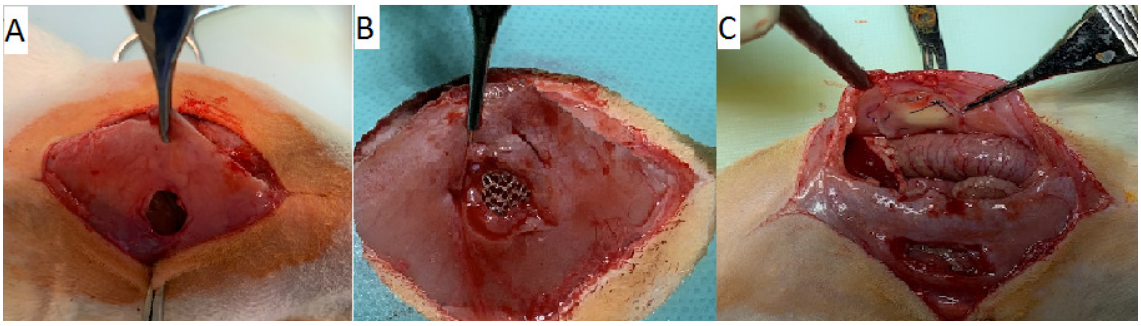
Használható bármely szabadon álló felszíni ér mikrocirkulációjának mérésére, mint például az agykéreg, a mesenterium, az alsó végtagok és a gerincvelő. Előnye, hogy nem invazív az eljárás. Valós idejű, teljes mezős nagyfelbontású képet ad. Beépített, nagyteljesítményű Basler kamerával rendelkezik (2048x2048 pixel felbontású) és akár 120 képkocka / másodperces felvételi sebességre képes. Jobb felbontást és gyorsabb képalkotást eredményezve. A Thorlabs lézer biztosítja az alapadatok stabilitását és a vér perfúziójának valós idejű ingadozási adatainak detektálását. A véráramlásmérő (a vér perfúziójának térfogata hagyományos PU egységben kifejezve) megkönnyíti a véráramlás sebességének relatív változásainak megfigyelését a képadatok és a perfúziós adatok kombinálásával. A globális PU érték a vér perfúziójának számszerűsítését és a véráramlás sebességének objektív változásainak mérését teszi lehetővé. A képadatok és a perfúziós adatok kombinálásával a képeken megfigyelhető a véráramlás sebessége, a véráramlás relatív sebessége pedig a különböző színek alapján különböztethető meg (perfúziós egység).

Kísérleti állatok

A PVA hálók beépülését, a szöveti perfúziós vizsgálatokon keresztül hím Wistar patkányokon vizsgáltuk (250 ± 50 g). Az állatok tartási és altatási protokollja megegyezett a 4.4. pontban leírtakkal.

Műtéti protokoll

Művi sérvkapu képzése után az állatokat három csoportra osztottuk. Az I. csoportban (n=3) PP háló (10. B ábra), a II. csoportban (n=3) PVA háló került beültetésre (10. C ábra), míg a III. csoportban (n=3) a művi sérvkapu képzése után a saját szövet került visszaültetésre (10. A ábra). A 7. nap elteltével reoperációra került sor, amikor újra a lézerpont képalkotó rendszerrel került kiértékelésre a különböző hálók körüli szövetek perfúziója.



10. ábra A) művi sérvkapu képzése patkány modellben, B) PP háló beültetése, PVA háló beültetése

4.6. Szöveti beépülés és hálóelmozdulás vizsgálata

A háló beépülésének mértéke a termináláskor a háló csipesszel történő meghúzásával került értékelésre. Kiválóan integrálodott implantátum (szövetnövekedés > felület 75% -a) 1, a jól integrált implantátum (a felület 75% -áig) 2, míg mérsékelt integráció (nincs vagy kevesebb a szövetnövekedés < 50%) esetén 3 pontnak értékeltük. Reoperációt követően a hálók diszlokációját is vizsgáltuk. Ha a háló az eredeti helyen volt, a pontszám 1, ha a háló elmozdult, a pontszám 2 volt.

4.7. Szövettani kiértékelés

A reoperációt követően a beültetett hálómintákat a környező szövetekkel együtt eltávolítottuk, konzerváltuk és szövettani kiértékelésre küldtük. A hálót és az összes réteget tartalmazó mintákat paraffinba ágyaztuk. 4 um-os metszeteket vágtunk és Hematoxylinnal és Eosinnal (H&E) festettük. Az üveg tárgylemezeket Panoramic Scan (3DHISTECH, Budapest, Magyarország) segítségével szkenneltük. Plan-Apochromat 20x nagyítású objektívvel, 1,6x-os kamera adapter-nagyítással és 1x Optovar nagyítással CIS VCC-FC60FR19CL kamerával (0,24 µm / pixel felbontás) fotóztuk. A gyulladásos reakciót a reakció típusának és intenzitásának megfelelően számszerűsítettük. A kiértékelést két egymástól független patológus bevonásával végeztük el.

5. EREDMÉNYEK

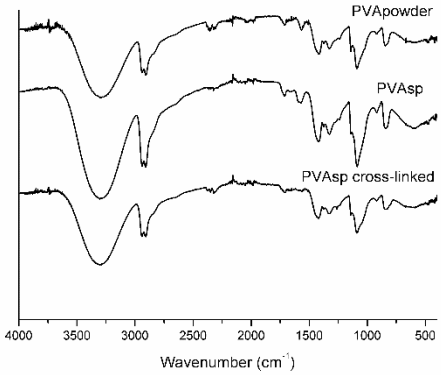
5.1. PVA sebészi háló fizikai, mechanikai és prebiológiai tesztelésének eredményei

5.1.1. Degradációs vizsgálat eredménye

A SEM által alkotott kép szerint az elektrospinning technikájával, sima és egyenletes szálakat kapunk. Ezek átlagos átmérője 390 ± 20 nm. Minden minta 10 %-ot veszített eredeti méretéből.

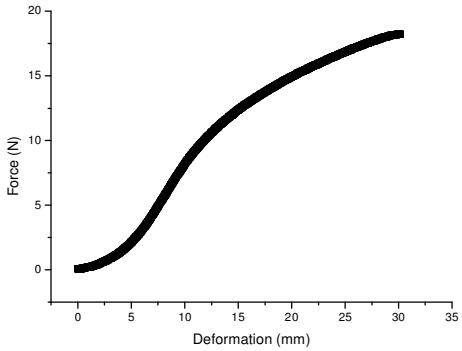
5.1.2. Mechanikai vizsgálatok eredményei

A hidrogélek természetüknél fogva képesek megváltoztatni a környezeti hatásoktól függően a duzzadási fokukat. Emellett a gélszálak könnyen ki is száradhatnak. Mechanikai méréseink során a duzzadási és száradási folyamatok kinetikája azt mutatta, hogy a vizsgálat során nem történt térfogatváltozás. Kísérleteink során a PVA háló gélszerű állapotban volt, foszfát alapú puffer sóoldatban tartottuk az implantáció előtt. A vízfelvevő képességgel nem volt probléma. Megmértük a PVA por, az elektrospinninggel előállított PVA (PVAsp az alábbi grafikonon) és a térhálósított PVA (PVAsp az alábbi grafikonon térhálósítva) FT-IR (gyémánt ATR) spektrumait, azonban a spektrumokban nem volt látható különbség (11. ábra). A PVA háló töréspontját öltések nélkül is megmértük. Ilyenkor a maximális megnyúlás minden esetben 4 cm volt, amikor a húzóerő elérte a 30 N-t, a háló elszakadt.



11. ábra A PVA por, gél és keresztkötött formáinak tesztelése

Az intraabdominális nyomás a varratvonalra is hat, nemcsak magára a hálóra, ezért elengedhetetlen az öltések mechanikai tulajdonságokra gyakorolt hatásának vizsgálata, annak érdekében, hogy az *in vivo* kísérletekben megjósolhassuk teljesítményüket az implantáció során. A maximális meghosszabbítás minden esetben 3 cm volt, és amikor az erő elérte a 17 N-t, a háló elszakadt. Az intraabdominális nyomás azonban nemcsak a hálóra, hanem a varratvonalra is hat, ezért elengedhetetlen az öltések mechanikai tulajdonságokra gyakorolt hatásának vizsgálata. Az erő hatására a PP háló hasonlóan viselkedett, azonban nem volt megfigyelhető szakadás vagy sérülés, csak enyhe deformáció.



12. ábra A) 5 N szakítóerő a PVA hálón

13,85 N-nál volt a kritikus pont a PVA háló esetében, ahol a varratsort kitépte a hálóból a kifejtett erő. Mindkét mintában a hasítás ugyanazt a cikk-cakk mintát képezte, jelezve a tű behatolási pontjainak „völgyeit” a minták varrása során. A PP háló szignifikánsan erősebb volt, töréspontja elérte a 90 N-t, ahol nem a háló, hanem ugyancsak a varrat szakadt meg [78].

5.2. *In vitro* vizsgálati módszerek eredményei

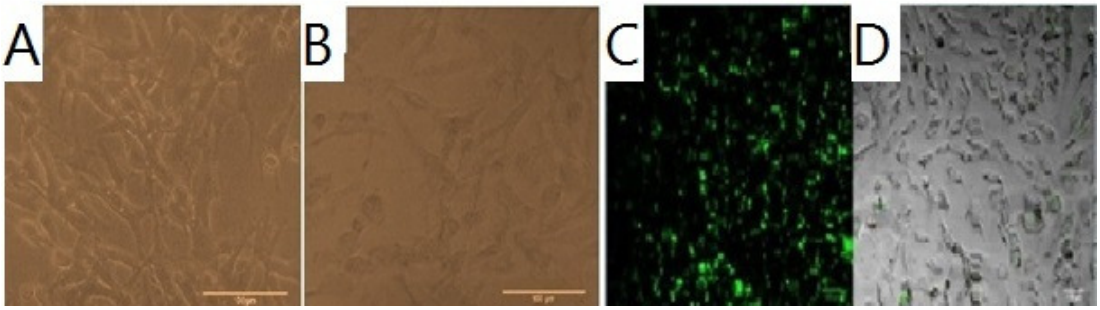
5.2.1. Sejtmorfológiai vizsgálat eredménye

A különböző körülmények között lévő sejteket a tenyésztő tápközegben a PVA-scaffoldon, illetve scaffold nélkül 72 órás inkubálás után megszámoltuk. A sejtadhéziós teszt azt mutatta, hogy a tapadási arány 168 óra elteltével nem volt szignifikánsan magasabb PVA scaffoldok nélkül, mint PVA jelenlétében. Az eredmények három

vizsgálat átlagaként lettek összegezve.

5.2.2. PVA háló *in vitro* biokompatibilitási vizsgálat eredményei A549 sejtvonalon

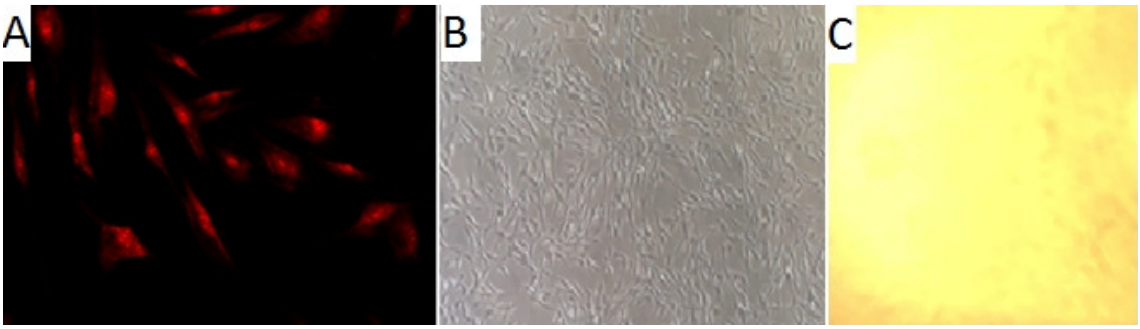
24 óra elteltével a PVA-oldatban a sejtek normális morfológiával rendelkeztek, a hidrogél felszínén nem találtunk sejteket. 192 órát követően a sejtek a PVA géleken konfluensek voltak (13. A ábra), és a hidrogél jelenlétében is a sejtvonalra jellemző alak volt látható (13. B ábra). A PVA hálókat 24 lyukú plate-ken vizsgáltuk. Itt a tapasztalatok azt mutatták, hogy a sejtek nem tapadnak a háló felszínére, de a plate-ek alján csoportokban felfedezhetők voltak (13. C-D ábra). A sejtek képesek voltak túlélni az implantátum miliőjében és közvetíteni a regenerációt. Továbbá képesek voltak fenntartani az életképességet és a működést a megfelelő anatómia elérésével.



13. ábra A-B) A549 sejtek a PVA oldatban és gélen 192 óra elteltével, C-D) A549 sejtek a PVA háló jelenlétében 192 órás inkubáció után, vizualizáció megvalósítása Vybrant Did festéssel

Proliferációs és toxikológiai vizsgálatok eredményei HDFa sejtvonalon

Eredményeink azt mutatták, hogy a HDFa (14. ábra A-B) sejtek normális morfológiával rendelkeznek és a sejtek megfelelő arányban szaporodtak a PVA hidrogélekkel és a PVA hálókon. A 24 órás periódus után csak néhány lekerekedett sejtet figyeltünk meg. A 168 órás inkubációs idő után a sejtek konfluenssé váltak és kiváló biokompatibilitással rendelkeztek.



14. ábra HDFa sejtek a PVA membránon: A) Konfokális mikroszóp képe a HDFa sejtekről Medium 106-ban a PVA hálón 72 óra inkubációt követően, B) HDFa sejtek PVA hálón 168 óra elteltével, C) PVA háló széli részébe integrálódott sejtek

A PVA hálók vizsgálata azt eredményezte, hogy a sejtek kitapadása a háló felszínén viszonylag gyenge volt (8. táblázat), ami igazolja a háló anti-adhéziós tulajdonságát. A sejtes válaszok nem mutatják a toxicitás jeleit. 168 óra elteltével azt tapasztaltuk, hogy a sejtek könnyen tapadnak a hálók alatt a wellekre, és csak néhány sejt nő a minták szélére, ami sejtes migrációra utal (14. C. ábra és 9. táblázat). Eredményeink szerint a PVA hálónak nem volt toxikus hatása a sejtekre. Megfigyeltük, hogy a PVA háló megakadályozza a sejtek tapadását a felszínen. Ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy ez a háló nagy potenciált jelenthet az anti-adhezív háló fejlesztésben, különösen a sérvek helyreállításában [81].

9. táblázat 24-lyukú platen, PVA membrán és HDFa sejtek között végbemenő interakciók által végzett proliferációs és toxikológiai teszt eredmények

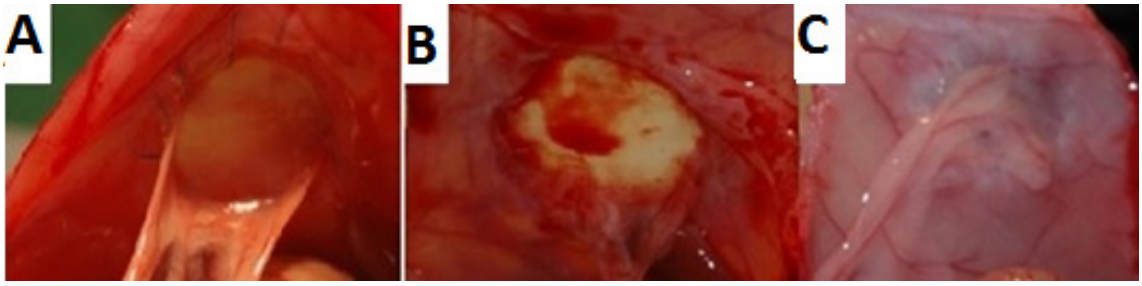
Minták	Kitapadás/ Morfológia	Kitapadás/ Morfológia2	Kitapadás/ Morfológia3
Kontroll	+/+	+/+	+/+
Felszíni kitapadás	+/-	-/-	-/-
Háló alatti sejtek	+/+	+/-	+/+

(+) sejtek kitapadnak a felszínhez, jól szaporodnak; (-) sejtek nem tapadtak, lekerekedett, lebegő sejtek; (+/-) vegyes eredmények

5.3. A hálók *in vivo* beültetésének eredményei

5.3.1. Előkísérletek eredményei

Minden műtéti beavatkozást nehézségek nélkül végeztünk. A háló rögzítését nem akadályozta a háló puha textúrája. Könnyen kezelhető, jól varrható anyagnak minősült. Nem volt műtét utáni elhullás, kivéve egy állatot, amely technikai problémák miatt pusztult el. A sebgyógyulás normális, komplikációk nélküli volt. Az állatok terminálása után a hálókat különösebb gyulladásos reakció nélkül találtuk. A hálók intaktak voltak, a környező szövetekbe szépen beépültek. Általánosságban elmondható, hogy az adhéziók többsége a hálók felszínének maximum 30%-át borították. A csoportok közül a polipropilén varratsorhoz kitapadva találtuk a legtöbb adhéziót (15. ábra A-B), a háló felszínéhez csupán egy esetben tapadt ki belső szerv (15. ábra C). Valószínűleg a nem megfelelő sebészi technika és a szervek közelsége miatt.



15. ábra A) függönyszerű adhézió, B) oszlopos adhézió, C) teljes felületi adhézió patkány modellben

5.3.2. Kisállat modell kísérleti eredményei

Minden állat túlélte a műtétet és fertőzést nem tapasztaltunk a kísérlet időtartama alatt. A rövid és hosszú távú modellekben is egyaránt a fogadó szervezet viselkedésének monitorozása volt a cél. Öt állatban kevés serosus folyadékot fedeztünk fel a háló és a bőr között az 1. (n = 1), 2. (n = 2) és a 3. (n = 2) posztoperatív napon. A bőr eltávolítása után láthatóvá vált, hogy a háló jól integrálódott a környező szövetekbe. A rövid távú beültetések esetében 1 szálagos, 2 függönyszerű és 1 nagy kiterjedésű adhéziót találtunk. Többségük (n = 8) a varrathoz tapadt és csak egy esetben a hálóhoz, a hosszútávú beültetéseknél a legtöbb esetben kevesebb, mint a felszín egyharmadát borították be. Az adhéziókat alkotó fő szerv a nagy cseplesz volt, de közelsége miatt néhány (n = 2) alkalommal a máj is részt vett a kialakításukban.

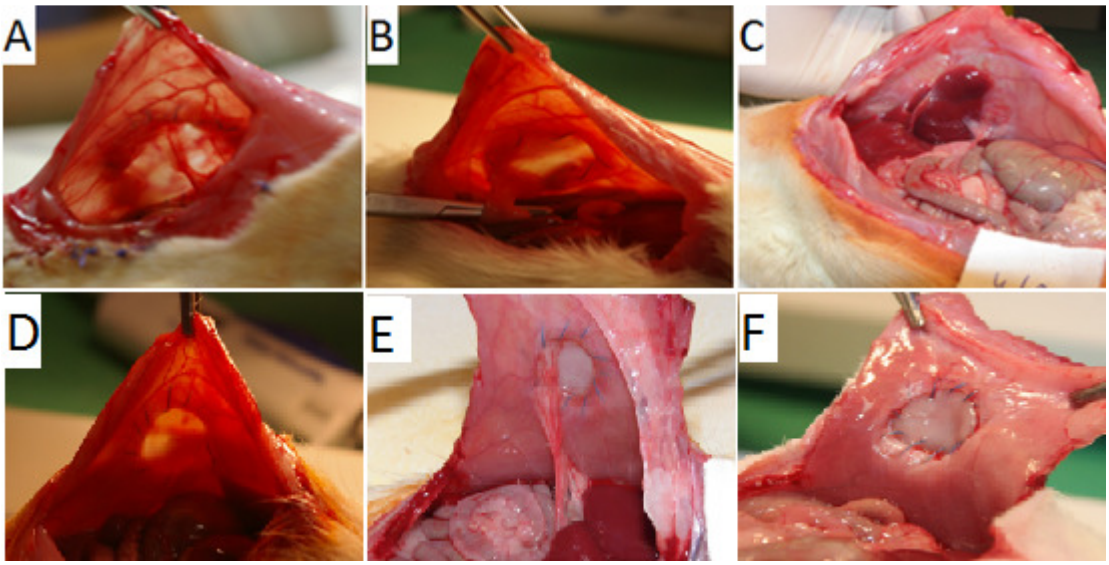
Az adhéziók tartósságát a mintavétel közben enyhe vagy erős húzással értékeltük. Az adhézió 6 esetben volt instabil, főleg a korai posztoperatív (1-3.) napokban. Erősebb húzás kellett a közepesen stabil adhéziók (n = 13) szétválasztásához, ami a 3. és 5. posztoperatív napon dominált. Nyolc esetben találtunk stabil adhéziót, ahol még erős húzásra sem váltak el egymástól az összetapadt felszínek, ez főleg a késői posztoperatív szakban volt jellemző.

A kontroll csoportban nem volt jellemző az adhézió. Mindössze két állatnál találtunk függönyszerű adhéziót, mindkét esetben a cseplesz tapadt keskeny vonalban a metszéshez.

A hosszú távú kísérletben mind a három, adhéziós forma megjelent a beültetett PVA hálók körül. A hasfal feltárása után a szövetmintákat makroszkóposan értékeltük. A PVA háló környezetében egyetlen állatnál sem találtunk fertőzésre utaló jeleket. Ugyan 2 állatban kevés serosus folyadék detektálható volt a PVA háló és a bőr között, ennél nem volt jele erősebb idegentest reakciónak. A szövetminták eltávolítása során a 7. napon oszlopos (16. A ábra) és függönyszerű kitapadást (16. B ábra), a 14. napon nagy felületi adhéziót (16. C ábra) detektáltunk.

Két héttel később az adhéziók csak a nem-felszívódó varratsoron jelentkeztek, jelentős oszlopos kitapadásokat eredményezve. A későbbi posztoperatív fázisban a 90. (16. ábra D-E), és 180. napon a háló teljesen beilleszkedett a környező szövetekbe (16. F ábra). A kitapadások lokalizációjának meghatározása során kiderült, hogy a legtöbb adhézió a nem felszívódó varróanyaghoz (n = 7), kevesebb a PVA háló felületéhez (n = 2) volt rögzülve. A háló felületéhez tapadt adhéziók a teljes felület 30% -a volt. A fő szerv a nagy omentum volt, ami szerepet játszott az adhéziókképződésben az állatoknál. Erősebb tapadás szükséges a mérsékelt stabil tapadás (n = 13) eltávolításához, 6 esetben a tapadás instabil volt, különösen a korai posztoperatív napokban. A Diamond és Vandendael skálák szerinti értékelést a 10. táblázatban tüntettük fel. A sérvhálók a kísérletek végére sem veszítették el méretüket, súlyukat vagy összetételüket. A beültetésen átesett csoportokban az adhéziók többsége 0 és 25 % között volt. Hat állatban a 25-50 % között voltak, és három esetben nagy adhéziós képződményt

detektáltunk a háló felületén a máj kitapadása miatt (16. ábra C) [79].



16. ábra A) Varratsorhoz kitapadt oszlopos és B) függönyszerű adhéziók a 7. napon, C) teljes szerv kitapadás (máj) a 28. napon, D) varratsorhoz tapadt cseplesz a 90. napon, E) varratsorhoz tapadt függönyszerű adhézió a 180. napon, F) komplikációmentes, a környező szövetekbe beépült PVA háló 180. napon

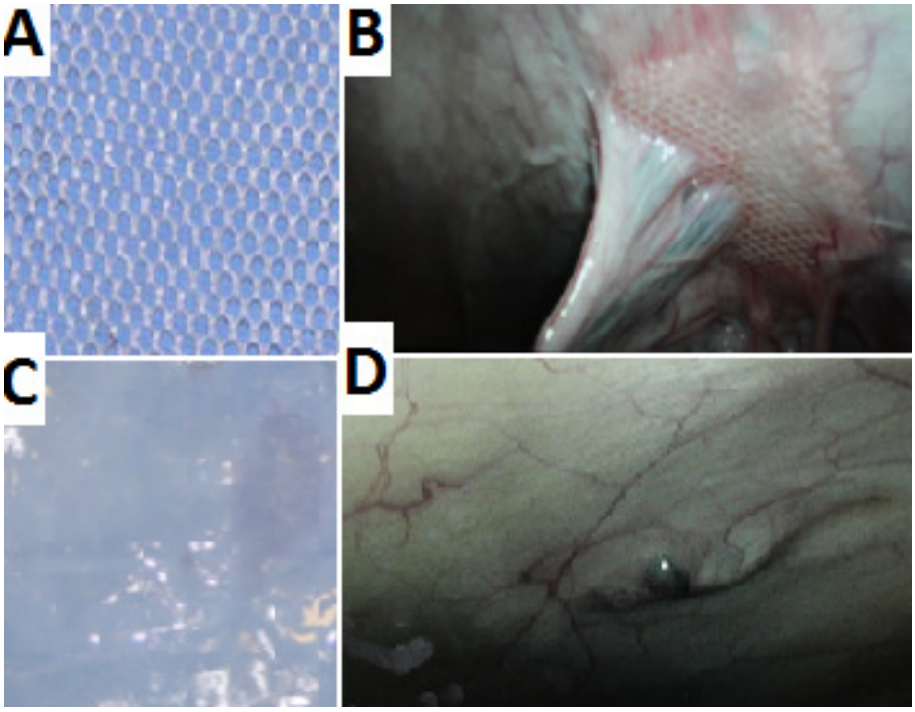
10. táblázat Diamond és Vandendael Skála szerinti kiértékelése az adhéziók kialakulásának arányával

Pont	Állatszám	Méret (%)	Tartósság	Típus
Diamond				
0	3	0	-	-
1	9	<25	gyenge	-
2	11	25-50	gyenge	kis erezettség
3	1	51-75	erős	kis erezettség
4	2	>75	erős	nagy erezettség

Vandendael	Állatszám	Hossza	Sub. tartósság
1	11	<2	+
2	10	2-10	++
3	3	>10	+++

5.3.3. Nagyállat modell - 5 hetes utánkövetés

Nagyállat modellünkben a felszívódó PVA polimer hálót laparoszkóposan a hasfal belső felszínére helyeztük anélkül, hogy hasfalhiányt képeztünk volna. Önkontrollként, minden állatba polipropilén hálókat helyeztünk el baloldalon ugyanazzal a protokollal (17. A ábra). A mikroszkópos eredmények új mesotheliális réteget mutattak (mint új hashártya) a PVA hálókon, ezek megfelelő módon integrálódtak a fogadó szövetekbe. A PP háló intraperitoneális felszíne kitapadással volt fedve, míg a PVA hálók esetében egyáltalán nem detektáltunk adhéziókat. Az adhézióképződést az Anyag és Módszer fejezetben leírtak alapján Vandendeal és Diamond skálarendszerei alapján értékeltük. A legtöbb kitapadás tehát a PP hálóhoz kapcsolódott (17. B ábra) adhéziógeneráló hatása jelentősnek bizonyult. A PVA háló adhéziógeneráló hatása jelentéktelen volt és ugyancsak kevesebb volt az óriássejtek és leukociták jelenléte a háló környező szöveteiben is. Mikroszkópos eredményeink azt mutatták, hogy a makrofágok stimulálni tudják a fibroblasztokat, ami a 4. fázisban a kollagén képződését segíti [79].

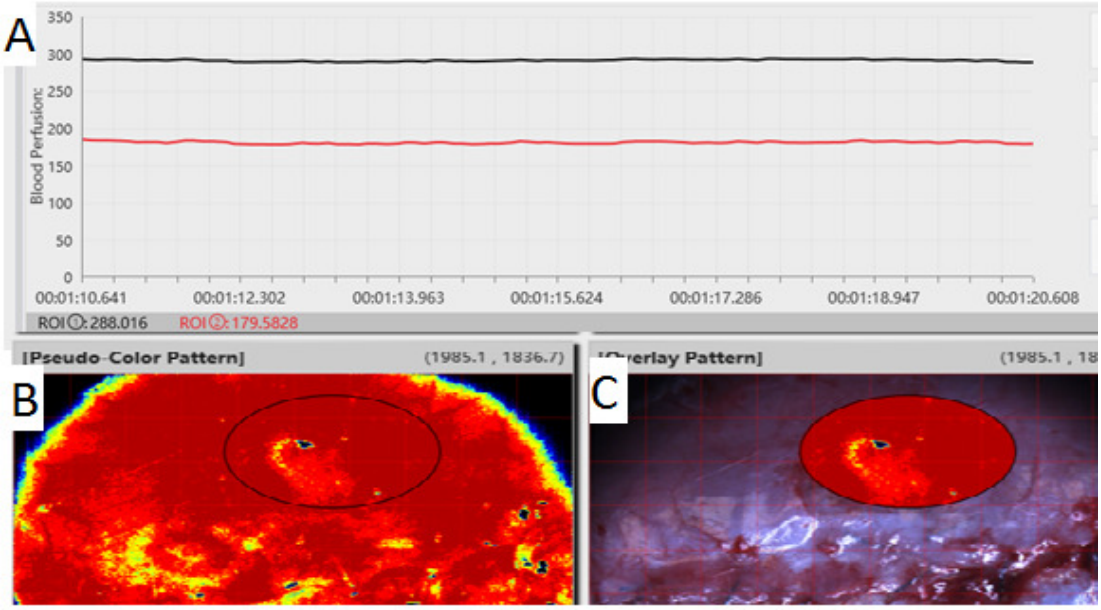


17. ábra A) PP háló, B) A PP-háló laparoszkópos nézete 5 hetes beültetés után a hasfal bal oldalán, C) PVA háló a beültetés előtt, D) PVA háló a hasfal jobb oldalán 5 hetes beültetés után

5.4 Perfúziós vizsgálatok eredményei, PVA és PP hálók beültetését követően LSIS rendszer használatával

A mikrovaszkuláris perfúzió megváltozik az idegen test (sebészi háló) beültetését követően. A műtét után a lézerpont kontraszt segítségével megmértük a háló körüli szövet perfúziójának változásait. Viszonylag magas volt a kezdeti perfúzió, majd a maximum után lassú csökkenést tapasztaltunk. Különböző régiók kijelölésével (Regions of interest: ROI) meghatározhatóvá váltak a vizsgálni kívánt területek perfúziós értékei, úgy, mint a vizsgálat előtt, alatt vagy után. Így a lézeres képalkotó rendszer által lehetővé vált a „nem sérült szövet" referenciaterületeinek meghatározása és összehasonlítása a „sérült szövetekkel". A sebgyógyulás időtartamától függően a legnagyobb különbségek a 4. napon voltak mérhetők. Eredményeink szerint a beültetés után 96 órával látható a legerősebb asszociációval történő gyógyulás.

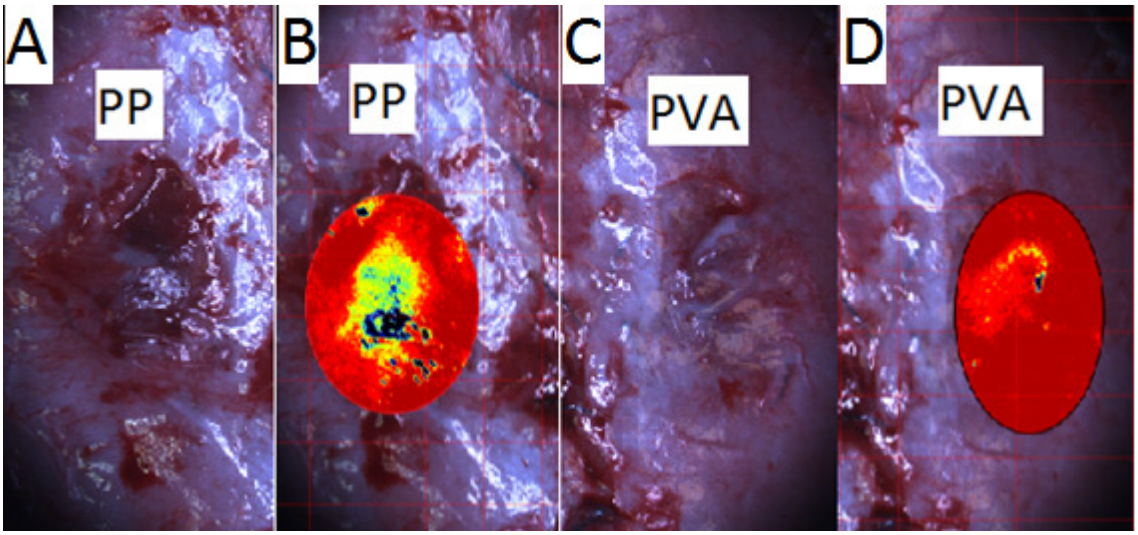
A műtétet követően az első nap során 6 órás, majd ezt követően 24 órás intervallumokban rögzítettük a képeket. A 16. ábra a hálók implantációját követő perfúzióját mutatja be. Általában a perfúzió fordítottan kapcsolódott a gyógyulás időtartamához. Az első 24 óra alatt alig változott a perfúzió, aztán volt egy növekedés, amely a csúcspontját a 72-96 órával a sérülés után érte el (471 116 PU). A 18. A-B képeken összehasonlítottuk a részleges patkány hasfal (7. nap) bejelölt kontrasztképeit, amelyeket LSIS-vel nyertünk. Itt a vér sebessége helyett a foltkontrasztot használtuk, mivel ez tisztább képet nyújt a mikrovaszkuláris morfológiáról.



18. ábra A) ábrán az intenzitásprofilok láthatók, amelyeket a B) és C) ábrán ugyanazon vonal mentén kijelölt területek véráramlásának sebességét mutatják patkány hasfal modellben.

Az LSIS képeken észlelhető legfinomabb erek átmérője nagyjából 40 mikrométer. A véráramlás ezekben lokalizálható, mennyiségileg meghatározható és megkülönböztethető. A gyógyulási idő 3-4 nap, amelyben a perfúzió viszonylag alacsony volt az első szakaszban vizsgálva, 6–12 órával a műtétet követően (218 48 PU), mint 96 óra elteltével (245 34 PU) amikor erősebben láthatóvá vált.

A vizsgálatokból megállapítható, hogy a 7 napos utánkövetés alatt a PP háló és PVA hálók beépülését illetően szignifikáns különbség a hálók felszínén látható (19. B és D ábra). Eredményeink szerint, a háló beültetése után 96 órával látható a legerősebb asszociációval történő gyógyulás. A PP háló közepén kimutatható szövet kitapadás, míg a PVA háló anti-adhezív felszínén jelentős színeltérés nem volt tapasztalható.



19. ábra PP és PVA hálók perfúziós képe 7 napos utánkövetés után, A) reoperációkor nyert kép a beültetett PP hálóról, B) részben látható a részleges patkány hasfal (7. nap) bejelölt kontrasztképe, amit LSIS-vel nyertünk. Itt a vér sebessége helyett a foltkontrasztot használtam, mivel ez tisztább képet nyújt a mikrovaszkuláris morfológiáról, C) reoperációkor készült kép a beültetett PVA hálóról 7. napon, D) PVA háló LSCI-vel nyert kontrasztképe

5.5. Szöveti beépülés és háló elmozdulásának vizsgálati eredményei

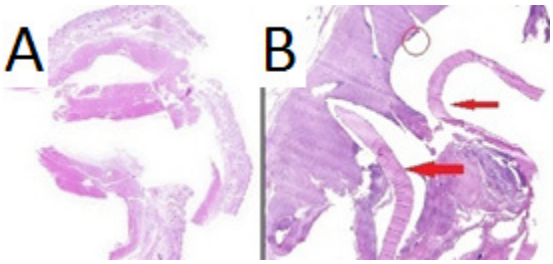
Ha a háló beépülése a környező szövetekbe kitűnő volt (> 75%), akkor azt 1-sel jelöltük. Ha jól integrálódott (75%-ig), akkor 2-es jelölést kapott, míg a mérsékelt integrációt (nincs szövetnövekedés, <50%) 3-nak értékeltünk. Minden háló és varrat a helyén volt, és nem tapasztaltunk hálóelmozdulást. A pontszám tehát minden esetben 1 volt.

5.6. Szövettani kiértékelés eredménye

5.6.1. Előkísérletek szövettani kiértékelése

A PVA háló és a peritoneum közötti interakciót a mintákon patológus vizsgálta. A beültetett háló környékén az első néhány napban várható mértékű akut gyulladásos reakció volt jelen, ami nem különbözött számottevően a kontroll állatokon a metszés környezetében tapasztaltaktól (1-3. posztoperatív napok). Szignifikáns eltérés a vizsgált területek összehasonlításában nem volt. Egy hét eltelte után a jól ismert idegen test reakció jeleit lehetett érzékelni a háló körül gyulladásos reakcióban részt vevő sejtek

voltak láthatók, mint neutrofil granulociták és limfociták. Ahogy a terminálási idő növekedett, ezek a jelek fordított arányosságot mutattak, és kezdtek eltűnni. Helyüket a fibroblastok által létrehozott kollagén rostok vették át, ahogy beindult a neovaskularizáció és az angiogenezis folyamata. Kísérleteinkben a PVA scaffold megfelelő környezetet teremtett a növekedéshez, miközben megakadályozta a hegképződést, amely általában a korai stádiumban jelentkezik (20. B ábra).



20. ábra A) kontroll, B) szövetminta PVA hálóval 7 POD után (piros nyilak) (Bar = 5000 μ)

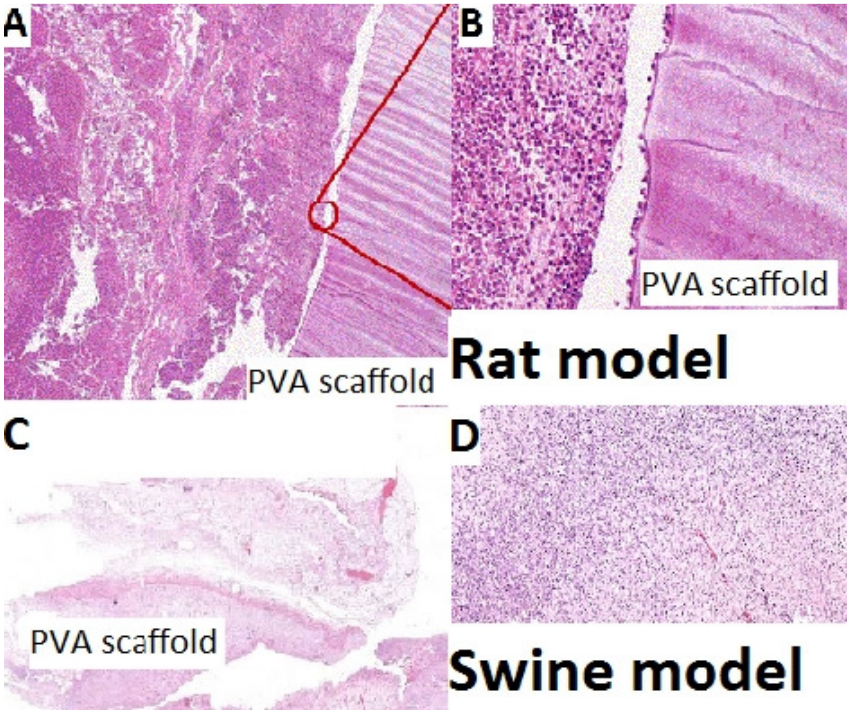
5.6.2. Kisállat modell (patkány kísérletek) szövettani kiértékelése

A rövidtávú patkány kísérletek során a szövettani kiértékelését követően (21. A-B ábra) elmondható, hogy az egy hetes implantációt követően, neutrofileket és limfocitákat figyelhettünk meg a PVA minták körül. 14 napos időszak után a gyulladásos reakció intenzitása csökkent, néhány leukocita továbbra is jelen volt. Valószínűleg közvetlen kölcsönhatás alakult ki a PVA háló, mint extracelluláris mátrix és a minta mindkét oldalán lévő szövet között. Ezek a struktúrák olyan scaffoldot hoztak létre, amely csatlakozott a minta mindkét oldalához, lehetővé téve a sejtek mozgását a mintán belül [79]. A 90 és 180 napos intervallum alatti mintákon jól kivehető volt, ahogy a granulációs szövet, érett fibrotikus szövetté alakult.

5.6.3. Nagyállat modell (sertés) szövettani kiértékelése

Sertésekben 5 hetes protokollidő után granulációs szövetekkel körülvett implantátumokat találtunk. Néhány gyulladásos és óriássejt még mindig jelen volt, miközben a fibroblasztok kollagénrostokat kezdtek termelni. Az eredmények hasonlóságot mutatnak az összes elemzett mintában. A korábban említett félkvantitatív szövettani paramétereket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget a

minták között. Fokozott angiogenezist és kevesebb gyulladás jeleit figyeltük meg a PVA hálóval (21. C-D ábra), fokozott ödéma és adhézióképződés volt a PP hálóval fedett oldalon az állatoknál [79].



21. ábra H&E reprezentatív képei a háló-szövet határfelületen: A-B) patkánymodellben, PVA háló a 14. POD-on, sejtvándorlás a PVA nanohálóban, C-D) PVA scaffold beültetése sertésben, 5 hetes utánkövetés után sejtes beszűrődés látható a háló felületén

5.7 Statisztika

5.7.1. *In vitro* statisztikai értékelés

Minden adatot átlag ± S.E.M. értékként adtunk meg, kivéve a permeabilitási adatokat, ahol átlag ± S.D. szerepelt (Graphpad Prism 5.0 program). A $p < 0{,}05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak. A párhuzamos minták száma minden esetben három volt.

5.7.2. *In vivo* statisztikai értékelés

Valamennyi kvantitatív eredményt átlag ± szórásként fejeztünk ki (n = 5). Az adatokat statisztikailag szignifikáns értékekkel elemeztük, amelyeket p Student 0,05-nek határoztunk meg, a Student T-tesztje alapján, és egyirányú ANOVA-t használtunk.

Feltételezve azt, hogy 0,05-nél kisebb p érték statisztikailag szignifikáns különbséget mutat. Az adatok grafikus megjelenítését Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerikai Egyesült Államok) szoftver segítségével végeztük el.

5.7.3. LSIS perfúziós vizsgálatok statisztikai eredményei

A különböző gyógyulási időkkel rendelkező sebek perfúziójának különbségeit a Student-féle t tesztekkel elemeztük. Az adatokat átlagként (SD) fejeztük ki, és a 0,05-nél kisebb valószínűségeket tekinthetőek szignifikánsnak. Az adatok grafikus megjelenítését Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Amerikai Egyesült Államok) szoftver segítségével végeztem el.

6. MEGBESZÉLÉS

A hasi sérvműtét az egyik leggyakrabban végzett műtéti beavatkozás az általános sebészetben. Az utóbbi két évtizedben jelentős fejlődés ment végbe mind a sebészi technikák, mind a sebészi hálók fejlesztésében vagy akár a hálók rögzítése terén. Ezek új képalkotó rendszerek kidolgozásának alapjait teremthetik meg, melyekkel lehetővé válik a hasfal biomechanikai tulajdonságainak jobb megértésére és leképezése. Összességében egy betegcentrikusabb, tapasztalatokon alapuló korszerű és hatékony sérvsebészet érhető így el, mely mind az egyén számára fontos, mind nemzetgazdasási értéket hordoz.

A sérv méretétől, illetve a beteg általános állapotától függően különböző műtéti eljárások kerültek kidolgozásra. A sérv ellátásának tehát személyre szabottnak kell lennie, a következő szempontok figyelembevételével. (1.) Tekintettel kell lenni az összes kockázati tényezőre, melyekkel megelőzhető vagy csökkenthető a sérv kialakulása. (2.) Tünetmentes sérveknél is fel kell kínálni a helyreállítás lehetőségét. (3.) Elsődleges hasi sérvek esetében, amikor a hiány 2 centiméternél nagyobb, háló használata javasolt. (4.) Elsődleges sérveknél, amikor a hiány 2 centiméternél kisebb, de fennáll egy esetleges új sérv kialakulásának lehetősége, akkor ugyancsak háló beültetése javasolt. (5.) Laparoszkópos feltárás javasolt abban az esetben, ha a beteg BMI értéke nagyobb, mint 35 kg/m^2. (6.) Komplikációmentes extraperitonealis műtét esetében nagy pórusú PP háló használata javasolt. (7.) Intraperitonealis hálóbeültetés esetén kompozit háló javasolt. (8.) A minimális háló-szövet átfedésnek 5 centiméteresnek kell lennie. (9.) Fertőzött seb esetén kerülni kell a PP háló használatát, mivel szeptikus komplikáció kialakulását idézheti elő. (10.) hálóbeültetés előtt, közben és után ellenőrizni kell a belek állapotát. (11.) Stómával rendelkező beteg esetén háló beültetése javasolt.

Korábban a legnépszerűbb a Mayo duplikáló varrat volt, azonban a varrat feszülése gyakran recidívával járt. A sérvkapu feszülésmentesítése, illetve a felépülő hegszövet megtámasztása érdekében először 1958-ban ültettek be sérvhálót. Napjainkra a kereskedelmi forgalomba került sérvhálók száma meghaladja a hetvenet, melyek között megtalálhatók lebomló és nem-lebomló típusok is. Az első generációs, szintetikus hálók

jelentősen csökkentették ugyan a relapsusok és reoperációk korábbi magas számát, azonban az intraperitonealisan elhelyezett idegentest miatt megjelentek új korai szövődmények (seroma, haematoma, posztoperatív ileus) és késői szövődmények (sérvkiújulás, vékonybél elzáródás, enterocutan fisztula) egyaránt. A második generációs hálók összetételének megválasztásakor már szem előtt tartották az ismert új szövődmények megelőzését. Azonban a hasüregi szervek közelsége miatt gyakori volt a szervek vagy egyéb szövetek kitapadása, amivel jelentősen nőtt a posztoperatív adhéziók gyakorisága.

A PP hálók egyik nagy hátránya, hogy a belső szervekkel érintkezve ileust vagy fistula kialakulását idézhetik elő. A PTFE hálók speciális felszíne megakadályozza ugyan ezeknek a negatívumoknak a kialakulását, viszont magas előállítási költségük miatt nem rutinszerű a használatuk. Ezen negatív hatások megelőzése érdekében a kutatások célja ma is új, biokompatibilis és biológiailag lebontható szintetikus anyagok fejlesztése [81, 82].

Szükségessé vált ezért olyan anyagok előállítása, melyek alkalmasak a különböző szövetpótlási eljárásokra, továbbá citokompatibilitási, mechanikai, fizikai tulajdonságaik kimagaslóan jobbak a nem lebomló társaikhoz képest. Ezeknek az anyagoknak nagy előnye a 3D struktúrája, mely a sejtek közötti ECM hálózatot képes utánozni, teret biztosítva a sejteknek a megtapadáshoz, proliferációhoz, differenciációhoz úgy, hogy közben pótolják a hiányos szövetet, amíg a nanoanyagból készült váz folyamatosan lebomlik az élő szervezetben. Az ECM egyik legfontosabb tulajdonsága a funkcionális változatosság. Napjaink modern társadalmában az életkor növekedése vagy akár a veleszületett megbetegedések olyan szervi elváltozásokat okozhatnak, melyek által az emberi test diszfunkcionális szöveteit vagy szerveit pótolni kell. Az ilyen szövetek és szervek rendelkezésre álló forrása azonban korlátozott. Ezért a mesterséges szövetek és szervek létrehozása mára egy fejlődő tudományággá vált. A természetes és mesterséges eredetű bioanyagokból kialakított graftok fejlesztése elengedhetetlen a klinikai alkalmazásokban, mivel képesek támogatni a sejtek szaporodását, biológiai lebonthatóságát és a szövetek átalakítását. A bioanyagokból előállított eszközök jelenleg nem elégítik ki az elvárt követelményeket, ezért világszerte

intenzív kutatások folynak ezen a területen.

A bioanyagokat eredetük alapján két nagy csoportra oszthatjuk. Lehetnek természetes, illetve szintetikusan előállított, azaz mesterséges bioanyagok. A szövetpótláshoz felhasználni kívánt anyagoknak, akár természetes, akár szintetikusan előállítottak szigorú szabályoknak kell megfelelniük. Ilyen feltételek például a biokompatibilitás (ne váltsanak ki immunreakciót a beültetés után), legyenek biodegradábilisak (a kívánt rendelkezésre állási idő után szívódjanak fel), viszont a szervezet regenerálódásáig rendelkezzenek stabil szerkezettel (a lebomlási ideje legyen befolyásolható), plusz a scaffold felszínén legyen lehetőség egyéb molekulák kapcsolására (RGD motívumok, növekedési faktorok). Fontos megemlíteni a beépíteni kívánt scaffold porozitását, ugyanis ettől függ a környező és migráló sejtek eloszlása, illetve a későbbi vaszkularizáció is. A biodegradábilitás szabályozásának lehetősége kényes kérdés a szövetpótlási eljárások felhasználásában. Ez a beépített „idegen" anyag fokozatos lebomlását jelenti, mire a szervezet felépíti a hiányzó szövetrészt, legyen ez egy hasfalhiány vagy akár egy bélszakasz a szervezetben. A bomlás során keletkező metabolitoknak ugyancsak biokompatibilisnak kell lenniük a szervezettel, majd természetes úton távozniuk kell, hogy ne okozzanak idegentest reakciót.

A biológiailag lebomló műanyagokat és polimereket az 1980-as években vezették be. Jelenleg kétféle változat létezik a piacon, a szintetikus és a természetes polimer. Ezeknek a szintetikus polimereknek a biológiai lebomlása a polimer töredezése vagy mikroorganizmus általi lebontása révén megy végbe kémiai szerkezetüktől [83, 84] és a feldolgozás jellemzőitől [85, 86] függően. A legtöbb polimer oxidációs folyamat útján lebomlik, oxidálható funkciós csoportot tartalmaz [87].

A mesterséges graftok lehetnek természetes és szintetikus scaffoldok. A szintetikus graftok tartalmazhatnak lebonthatatlan polimereket, például Dacron, ePTFE, és lebontható polimereket, például politejsavat (PLA) és poliglikolsavat (PGA). A szintetikus polimerek bizonyos előnyei a könnyű feldolgozás, a magas kezdeti szilárdság, azonban vannak hátrányaik is, mint például a lassú recellularizáció, az új hegszövetek kialakításának gyenge képessége. A biológiai scaffoldok vagy érrendszeri

graftok natív fehérjéit (kollagén, elasztin) az erek decellularizálásával nyerik. Az ilyen decellularizált natív vaszkuláris ereknek vannak olyan előnyei, mint az alacsony költségek, a graft kilökődésének kisebb kockázata és az enyhébb immunreakció [88].

Az ideális hasüregi implantációra alkalmas hálóval szembeni elvárás, hogy kémiailag inert legyen, fizikai és mechanikai tulajdonságait ne változtassák meg a beültetést követően a környező szöveti hatások. Továbbá fontos szempont a sterilizálhatósága, szakítószilárdságának pedig a hasfalhoz viszonyított paraméterekkel megegyezőnek kell lennie. Elvárás még, hogy ne legyen karcinogén, ne okozzon allergiás reakciót, illetve az általa kiváltott idegentest reakció minimális legyen. A laparoszkópos feltárás lehetőséget nyújt új technikák kidolgozására a hasfal rekonstrukciójához, minimalizálva az adhéziók kialakulásának kockázatát. A megfelelő háló típus és műtéti technika kiválasztása tehát közvetlen szerepet játszik a későbbi adhéziók kialakulásában. Számos tanulmány egyetért abban, hogy a beültetésre kerülő bioanyagok egyik legfontosabb tulajdonsága azok szerkezete és ezen belül is a pórusok mérete. A nanoszálas rendszerek ezért potenciális lehetőséget nyújtanak a következő generációs sebészi hálók fejlesztésében.

A poli(vinil alkohol)-t széles körben használják vízben való jó oldhatósága miatt, és mert a mikroorganizmusok és enzimek révén könnyen lebomlik [86]. A biológiailag lebontható polimerek alkalmazásában nemcsak farmakológiai eszközök, mint enzimimobilizációs mátrixok és szabályozott felszabadulású eszközök [90], hanem a szöveti technika terápiás eszközei is szerepelnek. A biológiailag lebomló bioanyagokat nemrégiben felülvizsgálták [91, 92]. A szintetikus biológiailag lebontható polimereknek három fontos tulajdonsággal kell rendelkezniük: biokompatibilitás, bioabszorpció és mechanikai ellenállás. A biológiailag lebomló poliésztereket porózus szerkezetként széles körben alkalmazzák a szövetpótlásban, mivel jellemzően jó szilárdságúak és beállítható lebomlási sebességgel rendelkeznek [93, 94]. Ezért ezek az anyagok az elmúlt évtizedekben nagyobb figyelmet kaptak. A közelmúltban számos nanoszálat vizsgáltak és széles körben használtak orvosbiológiai alkalmazásokban, egyedülálló tulajdonságaik, például porózus szerkezetük miatt, amely képes támogatni a sejteket és utánozza az extracelluláris mátrixot [95, 96]. A biológiailag lebomló polimerek

tulajdonságainak javítása érdekében számos módszert fejlesztettek ki. Ezek a módszerek mind a biodegradációs sebességet, mind a végtermékek mechanikai tulajdonságait javítják. A polimer anyagok területén a jövőbeni fejlődési kilátások is ígéretesek, a lebomló scaffoldok használata az utóbbi években egyre növekszik. Számos új eszközt (stenteket, mesterséges szerveket, bioszenzorokat, scaffoldokat a szövetpótláshoz stb.) fejlesztettek ki a betegekbe történő beültetéshez, azonban legtöbbjük nem olyan jól teljesít, mint várták. A laparoszkópos műtét lehetővé tette új technikák bevezetését a hasfal hibáinak kijavítására, minimalizálva az adhéziók kialakulását [97].

A PVA megalkotásával egy olyan szintetikus anyag használata vált lehetségessé, amely az ideális varróanyag felé támasztott közel minden követelménynek megfelel. A PVA nanoháló porózus szerkezetének kialakítására többféle módszert lehetséges, ezek egyike az elektrospinning. Az elektrospinning során nagy erősségű elektromos teret hozunk létre a fecskendő végén lévő felületi feszültség által tartott polimer oldat és a gyűjtő felület (kollektor) között. A hálós szálak morfológiáját különböző paraméterek befolyásolják beleértve a folyadék viszkozitást, a molekulatömeget, a felületi feszültséget, vagy a környezet páratartalmát és hőmérsékletét. Az elektrospinning technika révén sima és egyenletes szálakat kapunk, átlagos átmérőjük 390 ± 20 nm, pórusmérete 450 μm. A szintetizált háló véletlenszerű, térhálósított és kompakt szerkezetet mutatott 1 mm vastagságban. Sejtkultúrában vagy állatmodellben történő felhasználása előtt a hálókat ClO_2-ban sterilizáltuk a gyártó által megadott protokoll szerint.

A „biodegradáció” a természetben lejátszódó biotikus és abiotikus folyamatok szinergikus hatása a szerves anyagok lebontására. A degradációhoz szükséges energia különböző eredetű lehet: termikus, mechanikai, kémiai és biológiai. A polimer anyagok élettartamának becsléséhez ezért szükség van ezen viszonyok vizsgálatára. A mechanikus lebomlást a mechanikai károsodások aktiválhatják vagy felgyorsíthatják. A hidrolízis olyan paraméterektől függ, mint a hőmérséklet, a pH és az idő.

A von Burkersroda munkacsoport, a hőre lágyuló polimerek biológiai állapotának romlása következtében lejátszódó felületi erózió kialakulását vizsgálta [98]. Ők azt

tapasztalták, hogy a felszíni erózióban az anyag elvész, de a mátrix polimerjeinek molekulatömege nem változik. Ha a bioanyag diffúziója a mátrix egészében jelen van, a polimer kötéseket hasítja, akkor a polimer tömeges erózión megy keresztül. Ha a kötések hasítása gyorsabb, mint a vegyi anyagok diffúziója, akkor a folyamat főleg a mátrix felszínén megy végbe. A szétaprózódás olyan litikus jelenség, amely szükséges az asszimilációhoz. Amikor a specifikus enzimek által okozott hasadási reakciók nehézkesek (azaz kristályos terület, hidrofób zónák és szterikus akadályok), akkor más enzimek is szerepet játszanak a molekuláris szerkezetek átalakításában [99].

A biodegradáció mint látjuk egy természetes komplex jelenség. Ezért biológiai lebonthatósági tesztekre van szükség a bioanyagok felhasználása előtt. Számos publikáció kétlépcsős folyamatot írnak le a PVA biodegradációjáról. Néhány baktérium extracelluláris PVA-oxidázt választ ki, oxidált PVA-t eredményezve, amely részben spontán depolimerizáció alatt áll, és tovább metabolizálódik a második lépés enzimje (hidroláz) által.

Kutatócsoportunk megvizsgálta a PVA háló felületi tulajdonságait pásztázó elektronmikroszkóppal. A kísérlet kezdetén mért értékből kivonva a kezdeti száraz tömeget kiszámítottuk a méretbeli csökkenést, a háló degradációjának mértékét. Több degradációs tanulmány is született, melyek PVA biopolimer lebomlásával foglalkoztak. Bhattacharjee és mtsai. [100] SF és PVA nanoszálas scaffoldok lebomlási profilját tanulmányozták, melyeket PBS-ben 20 napig vizsgáltak. Az SF PVA biodegradációs sebessége a keverék PVA koncentrációjától függött. Ennek oka, hogy a PVA-nak több –OH csoportja van. Pillai MM és kutatócsoportjának leírása alapján, akik 35 napon keresztül figyeltek meg *in vitro* degradációs vizsgálatukban térhálósított és nem térhálósított PVA scaffoldokat, azt tapasztalták, hogy a nanoszálas kötegek tömege 8–12%-os csökkenést mutatott az első 7 napon. A kísérlet végéig még további 20%-ot veszített a tömegéből. A térhálósított nanoszálak mechanikai stabilitása jobb volt a nem térhálósított változatokénál. Ugyanis a térhálósítás megakadályozta a hidrolízis általi gyors lebomlásukat, a térhálósított nanoszálas scaffoldon belül a lebomlási sebesség statisztikailag nem volt szignifikáns (p 0,05) [101]. A tudományos közlemények egységesen a PVA degradálódásáról számoltak be, mely esetünkben 90 napos

utánkövetés alatt 10 %-os méretbeli csökkenést eredményezett.

A hasi sérv kezelésében széles körben alkalmazzák a polipropilén alapú hálókat, melyeket kísérleteinkben kontrollként használtunk. Tulajdonságaikat átfogó vizsgálatoknak vetették alá, melyekről számos tudományos közlemény került leírásra. A kísérleteinkben kontrollként használt hálók képesek ellenállni egy körülbelül 64 N/cm^2-es húzóerőnek, mielőtt megszakadna egy szokásos egytengelyes mérés során, ami több mint elegendő ahhoz, hogy ellenálljon a köhögés vagy ugrás során keletkező átlagos nyomásnak a hasban. Szakítószilárdsági adatok alapján a beépülés erőssége a háló és a parietális peritoneum között határozandó meg.

Egy nemrégiben végzett modellező tanulmányban kimutatták, hogy a biaxiális relatív erők keresztirányban körülbelül 40 N / cm-t, hosszanti irányban pedig 10–20 N / cm-t fejtenek ki a linea alba-ra [76]. Biomechanikai eredményeik alapján az intraperitoneálisan beültetett háló behúzódása felelős lehet a kiújulásokért és a fájdalomért. Ennek az eredménynek a relevanciája azonban továbbra is megkérdőjelezhető.

Kutatócsoportunk a PVA háló és a kontroll PP háló mechanikai tulajdonságait együttesen vizsgálta meg annak érdekében, hogy megjósolhassuk az implantáció során várható teljesítményüket az *in vivo* kísérletek során. Meghatároztuk azt a maximális erőt, mely az egyes minták elszakításához szükséges. Értékét N/cm^2-ben adtuk meg. A PVA minták mechanikai vizsgálatát alapvetően egy axiális húzópróbával végeztük, ahol a varrhatóságot és maximális erőt a húzóerőkkel szemben vizsgáltuk. Mechanikai méréseink során azt tapasztaltuk, hogy a duzzadási és száradási folyamatok során nem történt térfogatváltozás. Megmértük a PVA por, az elektrospinninggel előállított PVA (PVAsp az alábbi grafikonon) és a térhálósított PVA (PVAsp az alábbi grafikonon térhálósítva) spektrumait és az öltések nélküli PVA háló töréspontját. A maximális megnyúlás minden esetben 4 cm volt, és amikor a húzóerő elérte a 30 N-t, a háló elszakadt.

A mechanikai mérések során mindkét minta (PVA és PP) 5 N terhelésnél enyhén

elszakadt. A húzás során a PP háló hasonlóan viselkedett, azonban nem volt megfigyelhető szakadás vagy sérülés, csak enyhe deformáció. 13,85 N-nál volt a kritikus pont a PVA háló esetében, ahol a varratsort kitépte a hálóból a kifejtett erő. Mindkét mintában a hasítás ugyanazt a cikk-cakk mintát képezte, jelezve a tű behatolási pontjainak „völgyeit" a minták varrása során. A PP háló szignifikánsan erősebb volt, töréspontja elérte a 90 N-t, ahol nem a háló, hanem ugyancsak a varrat szakadt meg.

Kutatásaink az elektrospinniggel létrehozott, PVA sérvháló szerkezetének, a háló toxicitási profiljának és a háló jelenlétében a sejtek proliferációs képességének vizsgálataira összpontosított. A549 sejtvonalon végzett *in vitro* toxicitási vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a PVA háló degradálásakor semmilyen toxikus hatás nem éri a sejteket a hálóból kiváló mono- és oligomerek által. A549 sejtvonalon végzett előkísérletekkel igazoltuk, hogy a háló sterilizálására használt ClO_2 anyag semmilyen toxikus hatással nincsen a sejtekre. HDFa sejtvonalon végzett kísérletekkel igazoltuk, hogy a fibroblastok jó proliferációs tulajdonságokkal rendelkeznek és életképesek a háló környezetében. HDFa sejtvonalon végzett *in vitro* kísérletekkel igazoltuk, hogy a PVA háló felszínére nem tapadnak ki a sejtek, mutatva a háló anti-adhezív tulajdonságát.

Kyu-Oh és kutatócsoportja [102], illetve saját *in vitro* eredményeinket összevetve elmondható, hogy a PVA nanoszálak kiváló biokompatibilitással rendelkeztek. Számos mikrovillust figyeltek meg a nanoszálas szövetek felületén. Esetükben a 24 órás tenyésztés után a PVA hidrogél nanoszálak környezetében a MC3T3-E1 sejtek jó proliferációs képességgel rendelkeztek. A tiszta PVA és a PVA / HA hidrogél nanoszálakon, kb. 6 óra áztatási idő alatt gyors duzzadás volt tapasztalható. Ez az érték viszont a PVA / HA hidrogél nanoszálak esetében mindig magasabb értékeket mutattak, mint ami a tiszta PVA hidrogél nanoszálakon volt tapasztalható.

Tapasztalataink szerint 24 óra elteltével a PVA oldatban a sejtek normális morfológiával rendelkeztek, a hidrogél felszínén nem találtunk sejteket. 192 órát követően a sejtek a PVA géleken konfluensek voltak, és a hidrogél jelenlétében is a sejtvonalra jellemző alak volt látható. A PVA hálókat 24 üreges lemezeken vizsgáltuk. Itt a tapasztalatok azt mutatták, hogy a sejtek nem tapadnak a háló felszínére, de a plate-

ek alján csoportokban felfedezhetők voltak. A sejtek képesek voltak túlélni az implantátum miliőjében és közvetíteni a regenerációt. Továbbá képesek voltak fenntartani az életképességet és a működést a megfelelő anatómia elérésével. Eredményeink azt mutatták, hogy a HDFa sejtek normális morfológiával rendelkeznek és a sejtek megfelelő arányban szaporodtak a PVA hidrogélekkel és a PVA hálókon. A 24 órás periódus után csak néhány lekerekedett sejtet figyeltünk meg. A 168 órás inkubációs idő után a sejtek konfluenssé váltak és kiváló biokompatibilitással rendelkeztek.

A PVA hálók vizsgálata azt eredményezte, hogy a sejtek kitapadása a háló felszínén viszonylag gyenge volt, ami igazolja a háló anti-adhéziós tulajdonságát. A sejtes válaszok nem mutatják a toxicitás jeleit. 168 óra elteltével azt tapasztaltuk, hogy a sejtek könnyen tapadnak a hálók alatt a wellekre, és csak néhány sejt nő a minták szélére, ami sejtes migrációra utal. Eredményeink szerint a PVA hálónak nem volt toxikus hatása a sejtekre. Megfigyeltük, hogy a PVA háló megakadályozza a sejtek tapadását a felszínen. Ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy ez a háló alapanyag nagy potenciált jelenthet az anti-adhezív célú hálófejlesztésekben, különösen a sérvek helyreállításában.

A PVA hálók beültetésének különböző módozatait hím Wistar patkányokon vizsgáltuk. Előkísérleteinkben a patkányok négy csoportba lettek osztva, csoportonként különböző technikával kerültek a PVA hálók beültetésre. Művi sérvkapu képzése nélkül egyszerű csomós öltéssel rögzítettük PP nem lebomló fonal felhasználásával, majd művi sérvkapu képzése után és anélkül rögzítettük a PVA hálókat PDO lebomló fonallal egyszerű tovafutó öltéssorral. Illetve sérvkapu képzése után a hálók ugyancsak PP nem lebomló fonallal, egyszerű tovafutó öltéssorral kerültek rögzítésre. Az állatok a termináláskor makroszkóposan vizsgáltuk a hálók által kiváltott lehetséges idegentest reakciókat, illetve a hálók beépülését, majd a hálók és a környező szövetek eltávolításra és mikroszkópos vizsgálatra kerültek.

A nyílt hasi műtéten átesett betegek 50–95%-ánál fordulnak elő adhéziók. A mechanikai trauma (serosaréteg sérülése), a termikus sérülés (szöveti kiszáradás), a fertőzés, a

szöveti ischaemia és az idegen anyagok jelentik a legfontosabb szerepet az adhézió kialakulásában. Liakakos és munkatársai beszámoltak arról, hogy az idegen testek a posztoperatív adhéziók 61–69% -át okozzák. Az adhéziók többsége a közvetlen posztoperatív periódusban alakul ki. Az adhéziók kialakulása fiziológiai folyamat a normál szövetfelületek helyreállítása és rekonstrukciója során. Mindazonáltal az intraperitoneális kitapadás kialakulásának végső közös útját az oldhatatlan fibrin gélmátrix képződésének azonosították [103].

Minden műtéti beavatkozást nehézségek nélkül végeztünk. Nem volt műtét utáni elhullás, kivéve egy állatot. A PVA háló körüli sebgyógyulás komplikációk nélküli volt. Az állatok terminálása után a hálókat különösebb gyulladásos reakció nélkül találtuk. A hálók intaktak voltak, a környező szövetekbe szépen beépültek. Általánosságban elmondható, hogy az adhéziók többsége a hálók felszínének maximum 30%-át borították. A csoportok közül a polipropilén varratsorhoz kitapadva találtuk a legtöbb adhéziót, a háló felszínéhez csupán egy esetben tapadt ki belső szerv. Szignifikáns különbség a felhasznált PP és PDO varróanyagok által generált szöveti reakcióban nem volt látható.

Tanulmányunkban áttekintettük az új fejlesztésű PVA sérvhálónk rövid- és hosszútávú adhéziógeneráló hatását és a PVA hálók biokompatibilitását és biológiai lebonthatóságát. A kisállat modellben az állatokat a háló beépülésének utánkövetési ideje szerint csoportosítottuk. Ennek alapján az 1., 2., 3., 4., 5., 7., 14., 28., 90., és 180. posztoperatív napon vizsgáltuk az implantátumokat és környezetüket. A kitapadások mértékét félkvantitatív módon értékeltük Diamond klasszifikáció szerint, valamint alak és méret szerint. Emellett három fokozatra osztottuk az adhéziók erősségét: instabil, közepesen tartós és tartós. A lokális reakciót makroszkóposan és szövettanilag is értékeltük. Célunk volt a biokompatibilitás vizsgálata mind a korai, mind a késői fázisban, az adhéziós, gyulladásos és kötőszöveti válaszreakciók mérésével is ezt kívántuk meghatározni.

A más közlemények eredményivel való összehasonlítás megkönnyítése érdekében az adhézió kialakulását Vandendael-pontszám alapján is pontoztuk, ahol megszámoltuk az

egyes tapadási szálak mennyiségét, szélességét, vastagságát és szilárdságát.

Az adhéziók képződés elleni homeosztatikus mechanizmus az intraperitoneális fibrinolízis. Ez úgy valósul meg, hogy a szöveti plazminogén aktivátor (tPA) felszabadul a mezoteliális sejtekből. A tPA felszabadulása felelős az adhesiolysisért [104]. A fibrinolízist gátló tényezők, például a varratokból származó peritonealis ischaemia, a mesothél sejtek növekedése és szaporodása elősegítik a vaszkuláris adhézió kialakulását. A gyulladásos válaszok az egyes hálók egyedi tulajdonságaitól (porozitás, elektromos töltés, felületi kémia, textúra) függenek [105]. A makropórusos biológiai anyagok, mint például a polipropilén, hajlamosak az adhéziós képződés magas gyakoriságát előidézni, ha az intraabdominális zsigerek közelében helyezik el őket. Ez részben annak köszönhető, hogy a makroporózus protézisek a peritonealis hasüregben helyezkednek el a rendezetlen neoperitoneumban [106]. A polipropilén beilleszkedik a környező szövetbe, kialakítva egy mezoteliális monoréteget, ami felelős lehet a kitapadásokért [107]. Bár a minimál invazív technika kiküszöböli a nyitott technikákkal szembeni széles fasciális roncsolást, minimalizálja a seb szövődményeit és morbiditását, de az intraperitoneális háló potenciális szövődményeket okozhat [108, 109]. Az intraperitoneális háló elhelyezésével kapcsolatos hosszú távú szövődmények jól dokumentáltak, és magukban foglalják az adhéziókat, a bélelzáródást, a háló zsigerekbe való eróziót, a háló transzmigrációját és a fisztula képződését. Az adhézió kialakulása bonyolult folyamat, amely lényegében a gyulladásos válasz összes sejtkomponensét és mediátorát magába foglalja. A leukocitákról, a mesothelialis sejtekről, a koagulációs kaszkádról, a citokinekről, a növekedési faktorokról és a celluláris metabolitokról úgy tűnik, hogy létfontosságú szerepet játszanak [110, 111].

Az ideális protézishálót nem változtathatja meg fizikailag a szöveti folyadék és nem okozhat idegen test reakciót sem. Kémiailag inertnek kell lennie, fontos, hogy ne allergizáljon és ne legyen karcinogén. Mechanikai tulajdonságainak a kívánt ideig stabilnak kell lennie, és alkalmasnak kell lennie sterilizálásra anélkül, hogy a tulajdonságait megváltoztatná. Annak ellenére, hogy az elmúlt három évtizedben számos hálóprotézist fejlesztettek és teszteltek, még mindig nem értenek egyet az implantáció ideális kialakításával kapcsolatban. A háló kialakításának kritikus pontja a

pórus mérete és alakja. A bioanyag szövetbe integrálódása arányos lehet a porozitás mértékével [112, 113].

Kísérletünkben minden állat túlélte a műtétet és jelentős fertőzést nem tapasztaltunk a kísérlet időtartama alatt. A rövid távú beültetések esetében 1 szálagos, 2 függönyszerű és 1 nagy kiterjedésű adhéziót találtunk. Többségük (n = 8) a varrathoz tapadt és csak egy esetben a hálóhoz, a hosszútávú beültetéseknél a legtöbb esetben kevesebb, mint a felszín egyharmadát borították be. Az adhéziókat alkotó fő szerv a nagy cseplesz volt, de közelsége miatt néhány (n = 2) alkalommal a máj is részt vett a kialakításukban.

Az adhéziók tartóssága 6 esetben volt instabil, főleg a korai posztoperatív (1-3.) napokban. Erősebb húzás kellett a közepesen stabil adhéziók (n = 13) szétválasztásához, ami a 3. és 5. posztoperatív napon dominált. Nyolc esetben találtunk stabil adhéziót, ahol még erős húzásra sem váltak el egymástól az összetapadt felszínek, ez főleg a késői posztoperatív szakban volt jellemző. A kontroll csoportban nem volt jellemző az adhézió. Mindössze két állatnál találtunk függönyszerű adhéziót, mindkét esetben a cseplesz tapadt keskeny vonalban a metszéshez.

A hosszú távú kísérletben mind a három, adhéziós forma megjelent a beültetett PVA hálók körül. A szövetminták eltávolítása során a 7. napon oszlopos és függönyszerű kitapadást, a 14. napon nagy felületi adhéziót detektáltunk. Két héttel később az adhéziók csak a nem felszívódó varratsoron jelentkeztek, jelentős oszlopos kitapadásokat eredményezve. A későbbi posztoperatív fázisban a 90. és 180. napon a háló teljesen beilleszkedett a környező szövetekbe. A kitapadások lokalizációjának meghatározása során kiderült, hogy a legtöbb adhézió a nem felszívódó varróanyaghoz (n = 7), kevesebb a PVA háló felületéhez (n = 2) volt rögzülve. A háló felületéhez kitapadt adhéziók a teljes felület 30% -a volt. A fő szerv a nagy omentum volt, ami szerepet játszott az adhéziókképződésben az állatoknál. A beültetésen átesett csoportokban az adhéziók többsége 0 és 25 % között volt. Hat állatban a 25-50 % között voltak, és három esetben nagy adhéziós képződményt detektáltunk a háló felületén a máj kitapadása miatt.

A PVA háló adhéziógátló tulajdonságának megfigyelésére és a biokompatibilitás

vizsgálatára nagyállat modellt (sertést) használtunk. A sertéseket az elmúlt 20 évben gyakran használták sebészeti modellként orvosi kutatásokban [114, 115]. Ez az állatmodell anatómiai és fiziológiai tulajdonságaiban nagyon sok hasonlóságot mutat az emberrel. A sertés és az emberi epidermis vastagsága és a dermis-epidermis aránya is nagy hasonlóságot mutat. Ez teszi lehetővé például a sertést, a sebgyógyulással kapcsolatos kutatásokban történő alkalmazására [116].

Sertés modellünkben hasfalhiány képzése nélkül történt a vizsgálat. A felszívódó PVA hálót és a nem felszívódó PP hálókat laparoszkóposan ültettük be és intraperitonálisan rögzítettük mindegyik állatban a bal és a jobb oldalon szimmetrikusan a patietalis peritoneummal bélelt hasfalra. Öt-héttel a műtét után valamennyi sertésből eltávolítottuk a hálókat, makroszkóposan értékeltük a szöveti reakciót, úgy, mint a kitapadás kialakulása, a szöveti integráció, a diszlokáció, a seromák, a gyulladás jelenléte, illetve a háló zsugorodása.

Matthews BD és társai [117] vizsgálatában a PP hálók 55% -ánál a termináláskor vékonybél kitapadást találtak az omentumra, szemben a Dual Mesh 30% -ával és a módosított Dual Mesh 20% -ával. A polipropilén háló biztosította a polietilén összes előnyét, autokláv segítségével könnyen sterilizálható. Jó stressztűrő képességgel, 20% nyújthatósággal rendelkezik. Hosszú távú tanulmányok azt mutatják, hogy a szövetbe beültetett polipropilén szakítószilárdsága az idők során változatlan. Az egyes polipropilénrostok felületének enyhébb érdessége, valamint a szövetszálak szerkezete stimulálja a fibropláziát és elősegíti a szöveti beilleszkedést, viszont adhéziógeneráló hatása esetükben is jelentős volt.

Az irodalomban leírt eredmények szoros összhangban vannak saját eredményeinkkel, jelezve, hogy a PP, mint kontrollháló jó összehasonlítási alapot adott a klinikumból ismert negatív és ezzel együtt kijavítandó tulajdonságaival. Kísérleteink során a PVA háló megfelelő környezetet teremtett a sejtek növekedéséhez, miközben megakadályozta a hegképződést, amely általában a korai stádiumban jelentkezik. A scaffoldok mechanikai tulajdonságai a kísérletek befejező időpontjáig megfelelőek voltak, jól integrálódtak a környező szövetekbe. Ezek az adatok ismétlődtek a nagyállat modellel, ahol a hasfal rekonstrukciós műtét integrációját és biomechanikai hatásait

tanulmányoztuk két különböző hálóval. Az 5-hetes utánkövetés során már új mesotheliális réteg megjelenését láttuk a hisztológiai feldolgozás során, minimális idegen test reakcióval a PVA hálók körül. A szövettani megfigyelések szerint a hálók a szerkezetük megtartása mellett beépültek a környező szövetekbe. Idegentest granulomát nem találtunk, ami alátámasztja az *in vitro* kísérletekben tapasztalt biokompatibilitást.

Konerding és mtsai. [118] kutatásának célja egy újszerű könnyű háló biomechanikai tulajdonságainak kiértékelése volt az intraabdominális sérv helyreállításakor. Ezt a vizsgálatot 12 hetes utánkövetési idővel hajtották végre a háló-szövet kölcsönhatás vizsgálatának érdekében. Véleménye szerint a nagy porózus hálók rugalmasabbak és jobb szövetintegrációt mutatnak. Az adhéziók többsége összekapcsolta az omentum részeket a középvonal metszésével a linea alba-val és a hálóval. A háló zsugorodása 1-3% -os tartományban mozgott. Az újonnan képződött szövetrétegek átlagos vastagsága nem korrelált a biomechanikai eredményekkel. Azt tapasztalta, hogy a kollagén összmennyisége nem releváns a nagy szakítószilárdság szempontjából, hanem a szálak típusa és orientációja, valamint a térhálósodás mértéke a döntő. A kényelmi modulus, amelyet az erő-elmozdulás görbe érintőjeként határoztak meg 2 N, és a biztonsági modulus, amelyet a görbe érintője határoz meg 40 N volt. Kijelentették, hogy a makroporozitás és az alacsony tömeg javíthatja a háló integrációját. A beépülés főként a háló szerkezetétől függ, nem pedig az érintett bioanyag kémiai összetételétől.

Eredményeink szerint megállapítható, hogy a felszívódó PVA polimer hálót laparoszkóposan a hasfal belső felszínére helyezve nem váltott ki adhéziót. Az önkontrollként beültetett polipropilén hálók azonban erős adhéziógeneráló hatással rendelkeztek. Korrelálva az eddig leírtakkal a mikroszkópos eredmények új mesotheliális réteget mutattak (mint új hashártya) a PVA hálókon, ezek megfelelő módon integrálódtak a fogadó szövetekbe. A legtöbb kitapadás tehát a PP hálóhoz kapcsolódott adhéziógeneráló hatása jelentősnek bizonyult. A PVA háló adhéziógeneráló hatása jelentéktelen volt és ugyancsak kevesebb volt az óriássejtek és leukociták jelenléte a háló környező szöveteiben is.

A PVA hálók beépülésének dinamikáját a szöveti perfúzió változásának vizsgálatával is

nyomon kívántuk követni Wistar patkányokon. Művi sérvkapu képzése után PP és PVA háló került beültetésre, valamint a saját szövet került visszaültetésre. A 7. posztoperatív nap lézerpont képalkotó rendszerrel mértük a különböző hálók körüli szöveti perfúziót.

A lézerpont kontraszt képalkotó rendszere használható bármely szabadon álló felszíni ér mikrocirkulációjának mérésére. Előnye, hogy nem invazív az eljárás. Valós idejű, teljes mezős nagyfelbontású képet ad. A lézerpont egy véletlenszerű interferencia minta, melyet szétszórt fotonok koherens hozzáadása eredményez. Ha a fotonokat mozgó részecskék szórják szét, például mozgó vörösvértestek, akkor a pontmintázat térben és időben egyaránt megváltozik. A minta térbeli és időbeli statisztikája információt nyújt a szétszóródó részecskék mozgásáról. A mozgás számszerűsíthető a foltkontraszt használatával. Ezért az LSCI hasznos eszköz a szöveti véráramlás mérésére és vizualizálására.

S. M. Shams Kazmi [119] szerint a vaszkuláris áramlások hagyományos pontkontraszt képe a sebesség és az érátmérő szorzata. Chen és kutatócsoportja kifejlesztett egy olyan optikai módszert, amelyben az LSCI-t mikroendoszkópiával kombinálják az egér agyának mélyrégióiban az időintervallumú véráramlás detektálására. Ennek ellenére az LSCI bizonyos korlátai továbbra is fennállnak, mint a felületi érzékelés és mérés limitje.

Magának a módszernek kevés kísérleti eredménye van még, az első közlemények 2016-ban jelentek meg. Az összehasonlíthatóság érdekében Du E kutatócsoportjának [120] a képalkotó rendszerrel kapott eredményeit vettük alapul. Ebben a tudományos közleményben egy többfunkciós képalkotó rendszerről számol be a szerző. Az LSCI előnyeinek bemutatására kísérleteket hajtottak végre a képalkotó teljesítmények összehasonlítására a kontraszt és a térbeli felbontás tekintetében 3. napos csirke embrió véráramlási sebességét vizsgálva. Eredményei az LSCI segítségével, sokkal jobb kontraszt és hatékony térbeli felbontás alapján vizualizálható és számszerűsíthető.

Az LSCI képeken észlelhető legfinomabb erek átmérője nagyjából 40 mikron. A véráramlás jobban lokalizálható, mennyiségileg meghatározható és differenciálható a környező szövetektől LSCI képen. Arról is beszámolnak, hogy az LSCI jobb áramlási

kvantifikációt, térbeli felbontást és behatolási mélységet eredményez a hagyományos felbontásokhoz képest. Összefoglalva, az LSCI egy olyan multifunkcionális lézerspecifikus képalkotó rendszer, amely könnyen váltható két képalkotó mód között. Nem találtunk olyan publikált tudományos közleményt, amely sérvháló beültetést vizsgált volna, ezért összehasonlító elemzésre nem volt lehetőségünk.

Eredményeink azt mutatták, hogy a mikrovaszkuláris perfúzió megváltozik az idegen test (sebészi háló) beültetését követően. A műtét után a lézerpont kontraszt segítségével megmértük a háló körüli szövet perfúziójának változásait. Viszonylag magas volt a kezdeti perfúzió, majd a maximum után lassú csökkenést tapasztaltunk. Különböző régiók kijelölésével (ROI) meghatározhatóvá váltak a vizsgálni kívánt területek perfúziós értékei, úgy, mint a vizsgálat előtt, alatt vagy után. Így a lézeres képalkotó rendszer által lehetővé vált a „nem sérült szövet" referenciaterületeinek meghatározása és összehasonlítása a „sérült szövetekkel". A sebgyógyulás időtartamától függően a legnagyobb különbségek a 4. napon voltak mérhetők, mely feltehetően a sérülést követően a sebgyógyulás granulációs-proliferációs fázisának intenzív angiogenezisével magyarázható. Eredményeink szerint, a háló beültetése után 96 órával látható a legdinamikusabb gyógyulás. A PP háló közepén kimutatható szövet kitapadás, míg a PVA háló anti-adhezív felszínén jelentős színeltérés nem volt tapasztalható.

A háló beépülésének mértéke a termináláskor a háló csipesszel történő meghúzásával került értékelésre. Kiválóan integrálódott implantátum (szövetnövekedés> felület 75% - a) 1, a jól integrált implantátum (a felület 75%-áig) 2, míg mérsékelt integráció (nincs vagy kevesebb a szövetnövekedés <50%) esetén 3 pontnak értékeltük. Reoperációt követően a hálók diszlokációját is vizsgáltuk. Ha a háló az eredeti helyen volt, a pontszám 1, ha a háló elmozdult, a pontszám 2 volt.

A reoperációt követően a beültetett hálómintákat a környező szövetekkel együtt eltávolítottuk, konzerváltuk és a HE festett metszeteken szövettani kiértékelést végeztünk. A beültetett háló környékén az első néhány napban várható mértékű akut gyulladásos reakció volt jelen, ami nem különbözött számottevően a kontroll állatokon a metszés környezetében tapasztaltaktól (1-3. posztoperatív napok). Szignifikáns eltérés

a vizsgált területek összehasonlításában nem volt. Egy hét eltelte után a jól ismert idegen test reakció jeleit lehetett érzékelni, a háló körül gyulladásos reakcióban részt vevő sejtek voltak láthatók, mint neutrofil granulociták és limfociták. Ahogy a terminálási idő növekedett, ezek a jelek fordított arányosságot mutattak, és kezdtek eltűnni. Helyüket a fibroblastok által létrehozott kollagén rostok vették át, ahogy beindult a neovaskularizáció és az angiogenezis folyamata. Kísérleteinkben a PVA scaffold megfelelő környezetet teremtett a növekedéshez, miközben megakadályozta a hegképződést, amely általában a korai stádiumban jelentkezik. A 90 és 180 napos intervallum alatti mintákon jól kivehető volt, ahogy a granulációs szövet, érett fibrotikus szövetté alakult.

A rövidtávú patkány kísérletek során a szövettani kiértékelését követően elmondható, hogy az egy hetes implantációt követően, neutrofileket és limfocitákat figyelhettünk meg a PVA minták körül. 14 napos időszak után a gyulladásos reakció intenzitása csökkent, néhány leukocita továbbra is jelen volt. A hosszútávú eredmények is hasonlóak voltak, hosszú távú kísérletünkben szignifikánsan több kitapadást találtunk a varratokhoz, mint a háló felületéhez.

Sertésekben 5 hetes protokollidő után granulációs szövetekkel körülvett implantátumokat találtunk. Néhány gyulladásos és óriássejt még mindig jelen volt, miközben a fibroblasztok kollagénrostokat kezdtek termelni. Az eredmények hasonlóságot mutatnak az összes elemzett mintában. A korábban említett félkvantitatív szövettani paramétereket összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget a minták között. Fokozott angiogenezist és kevesebb gyulladás jeleit figyeltük meg a PVA hálóval, fokozott ödéma és adhéziókképződés volt a PP hálóval fedett oldalon az állatoknál.

Mathews és kutatócsoportja [121] tapasztalatai szerint az alkalmazott implantátumok együtt nőttek a peritoneális réteggel. Mathews leírta, hogy valamennyi implantátum felszínén látható volt a mezotheliális lefedettség. Az anti-CD31 festés minden implantátumban fokozott angiogenetikus aktivitást mutatott.

Kísérletünk esetében a szövettani értékelés azt mutatta, hogy a vaszkularizáció és az angiogenezis megkezdődött, miután fibroblast által termelt kollagén rostokat találtunk a minták környező szöveteiben, demonstrálva a sejtvándorlást a nanomembránok peremén.

Összességében Doktori értekezésem a poli(vinil alkohol) szálas membránok előállítását, valamint azok *in vitro* és *in vivo* viselkedését mutatja be. A PVA-háló jó biokompatibilitással és *in vivo* anti-adhezív tulajdonságokkal rendelkezik, amit különböző állatmodellekben bizonyítottunk. Az elvárt paraméterekre a PVA háló jobb eredményeket mutatott a PP hálóval szemben [79]. Kutatócsoportunk kimutatta, hogy a varratsor óriási hatással lehet a sérvműtétre. Nagyállat modellen bizonyítottuk, hogy a beültetett PVA háló mikrostruktúrája lehetővé teszi felhasználását, mint sérvháló. Továbbá kimutatásra került, hogy az új fejlesztésű PVA háló laparoszkóposan intraperitoneális beültetésre is alkalmas, kiváló szöveti beépülést, elfogadható mértékű adhéziót és minimális idegentest típusú gyulladást generált. Az irodalmi adatokra támaszkodva, összefoglalva tehát megállapíthatjuk, hogy az intraperitoneális sérvműtét biztonságosan végezhető biomátrixok felhasználásával. A hálóbeültetés laparoszkóposan kivitelezhető és a perioperatív komplikációk aránya jelentősen kisebb, mint a hagyományos polipropilén hálók használata mellett. Az átlagos gyógyulási időben szignifikáns különbség nem volt tapasztalható.

Összegezve megállapítható, hogy a PVA háló jó alternatíva lehet az adhéziók kialakulásának megelőzésére hasi sérvrekonstrukciós műtéteknél.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

Kutatócsoportunk célja volt elektrospinning technikával poli(vinil alkohol) scaffoldok előállítása.

1. Választ kerestünk arra vonatkozóan, hogy a kifejlesztett scaffold és a különböző sejtkultúrák között milyen interakciók játszódnak le.

Következtetések

Az *in vitro* kísérletek azt mutatták, hogy a sejtek kitapadása a háló felszínén viszonylag gyenge volt, ami igazolja a háló anti-adhéziós tulajdonságát. A sejtes válaszok nem mutatják a toxicitás jeleit. 168 óra elteltével azt tapasztaltuk, hogy a sejtek könnyen tapadnak a hálók alatt a tenyésztőedény aljára és csak néhány sejt nő a minták szélére, ami sejtes migrációra utal. Eredményeink szerint a PVA hálónak nem volt toxikus hatása a sejtekre. Megfigyeltük, hogy a PVA háló megakadályozza a sejtek tapadását a felszínen. Ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy ez a háló nagy potenciált jelenthet az anti-adhezív háló fejlesztésben, különösen a sérvek helyreállításában.

2. A nanomátrixoknak biokompatibilisnek és biodegradábilisnek kell lenniük az élő szervezetben. Választ kerestünk arra, hogy a saját fejlesztésű scaffoldunk alkalmazásával lehetséges-e a károsodott vagy hiányos szövetet pótolni vagy akár újraépíteni. Kis- és nagyállatokon végzett *in vivo* kísérletekkel modelleztük a humán műtéthez hasonlóan a hálóbeültetést. Annak érdekében, hogy kimutathassuk, a klinikai gyakorlatban jelenleg is használt polipropilén háló vagy a felszívódó hálók okoznak -e szövődményeket és ezeknek milyen az aránya, súlyossága.

Következtetések

Az intraperitonealisan sertés modellbe beültetett polipropilén háló értékelése során kiderült, hogy 5 hét elteltével szignifikánsan (P 0,02) nagyobb volt a kitapadás a polipropilén hálónál, összehasonlítva a PVA hálóval. A makroporózus polipropilén háló elősegítette az adhézió kialakulását, míg a mikroporózus PVA háló gátolta az adhéziók kialakulását. A PVA anti-adhezív felületi jellege magyarázhatja a felületére történő alacsonyabb kitapadási arányt.

3. A hálóbeültetések okozta sebgyógyulás és lokális véráramlási viszonyok változásait multifunkcionális lézerpont képalkotó rendszer a segítségével kívántuk vizsgálni, hogy megtudjuk milyen mikrocirkulációs különbségek tapasztalhatók a PP és a PVA hálók beültetését követően.

Következtetések

Eredményeink azt mutatták, hogy a mikrovaszkuláris perfúzió megváltozik az idegen test (sebészi háló) beültetését követően. A műtét után magas volt a kezdeti perfúzió, majd a maximum után lassú csökkenést tapasztaltunk. A sebgyógyulás időtartamától függően a legnagyobb különbségek a 4. napon voltak mérhetők. Eredményeink szerint, a háló beültetése után 96 órával látható a legdinamikusabban történő gyógyulás. A PP háló közepén kimutatható szöveti kitapadás, míg a PVA háló anti-adhezív felszínén jelentős színeltérés nem volt tapasztalható.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A sérvháló speciális funkcióval rendelkezik a beültetést követő gyógyulási folyamatban. Manapság az általánosan használt, nem felszívódó sérvhálók gyakran súlyos szövődményeket okoznak, például fertőzést, adhéziós képződést, háló- elvándorlást, krónikus fájdalmat, sőt bélperforációt.

Munkám során megvizsgáltam az új fejlesztésű, elektrospinning módszerrel előállított PVA nanoszálas hálóink biokompatibilitását különböző sejtvonalakban. A tanulmány érzékenysége sejtmorfológiai megfigyeléseken alapul, miután a polimer anyagok legfontosabb kritériuma a citotoxikológiai profil. Az *in vitro* kísérletek azt mutatták, hogy a sejtek nem tudtak kitapadni a háló felszínén, de a háló szélén megtalálhatóAk voltak, utalva a sejtmigráció jelenlétére.

Számos vizsgálatot végeznek a mechanikai tulajdonságokkal kapcsolatban, de nincs olyan leírás, mint ez a kutatás, amely a sérvháló teljesítményére összpontosítana. Az intraperitoneálisan elhelyezkedő PVA sebészi háló biológiai hatásainak értékelését szintén a jelentősnek kell tekinteni, amely gondos jellemzést igényel az élő rendszer adhézió képződése révén. Állatkísérleteink során PVA hálókat használtunk a hasfal rekonstrukciójára kis- és nagyállat modellekben. A hálók mechanikai és fizikai tulajdonságai a kísérletek végéig megfelelőek voltak. Könnyen integrálódtak a környező szövetekbe, és nem generáltak adhéziót.

A jelen disszertáció az új fejlesztésű poli(vinil alkohol) szálas sebészi háló előállítását, valamint az *in vitro* és *in vivo* viselkedését mutatja be. Bizonyítást nyert a háló jó biokompatibilitása és biológiai lebonthatósága, továbbá *in vivo* anti-adhéziós tulajdonságának felhasználhatósága. Állatkísérletekkel igazoltuk, hogy a PVA háló minimális gyulladásos reakcióval integrálódik a szöveti környezetébe. A disszertáció újdonsága, hogy a sertésekbe beültetett PVA háló jó mechanikai tulajdonságokkal és anti-adhézív felszínnel rendelkezik, amely fontos szerepet játszik a sérvműtétekben.

9. SUMMARY

Hernia mesh has a specialized function in the healing process after its implantation. Nowadays commonly used non-degradable surgical meshes often cause serious complications, such as infection, adhesion formations, mesh migration, chronic pain, moreover intestinal perforation.

My thesis examined the biocompatibility in cell lines of our PVA nanofibre meshes which were produced by electrospun method. The sensitivity of my thesis based on observation of the cell morphology. In that case, the most important criteria for polymer materials are their cytotoxicological profile. The *in vitro* experiments showed that the cells could not attach to the surface, but they could be found in the edge of the meshes.

There are numerous investigations on the mechanical properties, but there is no description like our research which is focusing on the performance as a hernia mesh. The evaluation of biological effects of intraperitoneal positioned PVA mesh should also be considered as most significant that requires careful characterization through adhesion formation in the living system. In our animal studies the PVA scaffolds were used to reconstruct the abdominal wall in small and large animal models. The scaffolds had normal physiology and could integrate to the surrounding tissues, and we still could not find adhesion on the surface of the samples.

This thesis mainly presents the preparation of electrospun poly (vinyl alcohol) fibre membranes and their *in vitro* and *in vivo* behaviours. The meshes show good biocompatibility and biodegradability and the useability of their *in vivo* anti-adhesion properties is presented. The animal experiments demonstrated that PVA meshes can integrate into the surrounding area with minimal inflammatory reaction. The novelty in this paper is the microstructure of the PVA mesh implanted to the swine would promote good mechanical properties as a hernia mesh and could be an anti-adhesive barrier, which is an important role in hernia surgery.

10. SAJÁT EREDMÉNYEK

1. Az elektrospinning technika révén sima és egyenletes szálakat kapunk, átlagos átmérőjük 390 ± 20 nm. *In vitro* degradációs vizsgálattal igazoltuk, hogy a PVA háló degradálódása során, 90 napos utánkövetés alatt, a minták átlagosan egy millimétert veszítettek az átmérőjükből.
2. A549 sejtvonalon végzett *in vitro* toxicitási vizsgálatokkal igazoltuk, hogy a PVA háló degradálásakor semmilyen toxikus hatás nem éri a sejteket a hálóból kiváló mono- és oligomerek által.
3. A549 sejtvonalon végzett előkísérletekkel igazoltuk, hogy a háló sterilizálására használt ClO_2 anyag semmilyen toxikus hatással nincsen a sejtekre.
4. HDFa sejtvonalon végzett *in vitro* kísérletekkel igazoltuk, hogy a fibroblastok jó proliferációs és életképes tulajdonságokkal rendelkeznek a háló környezetében.
5. HDFa sejtvonalon végzett *in vitro* kísérletekkel igazoltuk, hogy a PVA háló felszínére nem tapadnak ki a sejtek, mutatva a háló anti-adhezív tulajdonságát.
6. Rövid és hosszú távú kisállat modellen igazoltuk, hogy a PVA háló kiválóan integrálódik a szöveti környezetbe.
7. Kimutattuk LSCI segítségével, hogy a 7 napos után követés alatt szignifikáns különbség látható a PP háló és PVA hálók felszínén. A PVA háló felszínén nem volt szövetkitapadás detektálható.
8. Kimutattuk, hogy az új fejlesztésű PVA háló laparoszkóposan intraperitoneális beültetésre is alkalmas sérvháló. Kiváló szöveti beépülést, elfogadható mértékű adhéziót és minimális idegentest típusú gyulladást generált.

11. IRODALOMJEGYZÉK

[1]Bátorfi J. (2010) A lágyéktáji és hasfali sérvek laparoscopos műtétei - áttekintés [Repairs of inguinofemoral and ventral hernias--review]. Magy Seb. 63(5):316-26. Hungarian. doi: 10.1556/MaSeb.63.2010.5.5. PMID: 20965865.

[2]Bosanquet DC, Ansell J, Abdelrahman T, Cornish J, Harries R, Stimpson A, Davies L, Glasbey JC, Frewer KA, Frewer NC, Russell D, Russell I, Torkington J. (2015) Systematic Review and Meta-Regression of Factors Affecting Midline Incisional Hernia Rates: Analysis of 14,618 Patients. PLoS One. 10(9):e0138745. doi: 10.1371/journal.pone.0138745. PMID: 26389785; PMCID: PMC4577082.

[3]Blatnik JA, Michael Brunt L. (2019) Controversies and Techniques in the Repair of Abdominal Wall Hernias. J Gastrointest Surg. 23(4):837-845. doi: 10.1007/s11605-018-3989-1. Epub 2018 Oct 18. PMID: 30338444.

[4]Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M, Bouillot JL, Campanelli G, Conze J, de Lange D, Fortelny R, Heikkinen T, Kingsnorth A, Kukleta J, Morales-Conde S, Nordin P, Schumpelick V, Smedberg S, Smietanski M, Weber G, Miserez M. (2009) European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. Hernia. 13(4):343-403. doi: 10.1007/s10029-009-0529-7. Epub 2009 Jul 28. PMID: 19636493; PMCID: PMC2719730.

[5]Miserez M, Peeters E, Aufenacker T, Bouillot JL, Campanelli G, Conze J, Fortelny R, Heikkinen T, Jorgensen LN, Kukleta J, Morales-Conde S, Nordin P, Schumpelick V, Smedberg S, Smietanski M, Weber G, Simons MP. (2014) Update with level 1 studies of the European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients. Hernia. 18(2):151-63. doi: 10.1007/s10029-014-1236-6. Epub 2014 Mar 20. Erratum in: Hernia. 2014 Jun;18(3):443-4. PMID: 24647885.

[6]Egészségügyi Közlöny 2009;21:3552-76

[7]Luijendijk RW, Hop WC, van den Tol MP, de Lange DC, Braaksma MM, IJzermans JN, Boelhouwer RU, de Vries BC, Salu MK, Wereldsma JC, Bruijninckx CM, Jeekel J. (2000) A comparison of suture repair with mesh repair for incisional hernia. N Engl J Med. 10;343(6):392-8. doi: 10.1056/NEJM200008103430603. PMID: 10933738.

[8]Ramirez OM, Ruas E, Dellon AL. (1990) "Components separation" method for closure of abdominal-wall defects: an anatomic and clinical study. Plast Reconstr Surg. 86(3):519-26. doi: 10.1097/00006534-199009000-00023. PMID: 2143588.

[9]Tastaldi L, Blatnik JA, Krpata DM, Petro CC, Fafaj A, Alkhatib H, Svestka M, Rosenblatt S, Prabhu AS, Rosen MJ. (2019) Posterior component separation with transversus abdominis release (TAR) for repair of complex incisional hernias after orthotopic liver transplantation. Hernia. 23(2):363-373. doi: 10.1007/s10029-019-01918-8. Epub 2019 Feb 21. PMID: 30790084.

[10]Con J, Zarain L, Gogna S, Samson DJ, Prabhakaran K, Gashi S, Tilley E, Latifi R. (2020) A novel tool to evaluate bias in literature on use of biologic mesh in abdominal wall hernia repair. Hernia. 24(1):23-30. doi: 10.1007/s10029-019-01935-7. Epub 2019 Apr 8. PMID: 30963425.

[11]Weber G, Kassai M, Csontos Z, Czuczor C, Horváth PO. (1999) First Hungarian, internet-based prospective, multicenter study: the hernia-project. Acta Chir Hung. 38(2):219-20. PMID: 10596334.

[12]Baracs J, Takács I, Sajjadi SG, Horváth OP, Wéber G (2012) Which mesh is appropriate for laparoscopic use? Prevention of adhesions to macroporous mesh, a rabbit model. Eur Surg 44:319-324

[13]WGy Sérvek sebészete. In: Dr. Horváth Örs Péter és Dr. Oláh Attila (szerk) Sebészeti tankönyv, Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest, 2017.

[14]Cobb WS, Peindl RM, Zerey M, Carbonell AM, Heniford BT. (2009) Mesh terminology 101. Hernia. 13(1):1-6. doi: 10.1007/s10029-008-0428-3. Epub 2008 Sep 16. PMID: 18795413.

[15]Halm JA, de Wall LL, Steyerberg EW, Jeekel J, Lange JF. (2007) Intraperitoneal polypropylene mesh hernia repair complicates subsequent abdominal surgery. World J Surg. 31(2):423-9; discussion 430. doi: 10.1007/s00268-006-0317-9. PMID: 17180562.

[16]Novitsky YW, Harrell AG, Hope WW, Kercher KW, Heniford BT. (2007) Meshes in hernia repair. Surg Technol Int. 16:123-7. PMID: 17429779.

[17]Zhang L, Rodriguez J, Raez J, Myles AJ, Fenniri H, Webster TJ. (2009) Biologically inspired rosette nanotubes and nanocrystalline hydroxyapatite hydrogel nanocomposites as improved bone substitutes. Nanotechnology. 29;20(17):175101.

doi: 10.1088/0957-4484/20/17/175101. Epub 2009 Apr 3. PMID: 19420581.

[18]Langer R, Vacanti JP. (1993) Tissue engineering. Science. 14;260(5110):920-6. doi: 10.1126/science.8493529. PMID: 8493529.

[19]Braun B., Die modernen Kunststoffe und ihre Anwendung in der Chirurgie. B.Braun Dexon, 1954.

[20]Wéber Gy., Ferencz A., Sándor J. (2015) Műtéttan.

[21]Zhang L., Webster T.J., (2009) Nanotechnology and nanomaterials: promises for improved tissue regeneration, Nano Today; 4:66-80.

[22]West ER, Xu M, Woodruff TK, Shea LD (2007) Physical properties of alginate hydrogels and their effects on in vitro follicle development. Biomaterials. 28(30):4439-48. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.001. Epub 2007 Jul 23. PMID: 17643486; PMCID: PMC2034204.

[23]Cheesborough JE, Dumanian GA. (2015) Simultaneous prosthetic mesh abdominal wall reconstruction with abdominoplasty for ventral hernia and severe rectus diastasis repairs. Plast Reconstr Surg. 135(1):268-276. doi: 10.1097/PRS.0000000000000840. PMID: 25539311; PMCID: PMC4280273.

[24]Nandakumar A, Fernandes H, de Boer J, Moroni L, Habibovic P, van Blitterswijk CA. (2010) Fabrication of bioactive composite scaffolds by electrospinning for bone regeneration. Macromol Biosci. 10;10(11):1365-73. doi: 10.1002/mabi.201000145. PMID: 20799255.

[25]Huang Z-M, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. Compos Sci Technol 63:22-23

[26]Zrinyi M, Gyenes T, Juriga D, Kim JH. (2013) Volume change of double cross-linked poly(aspartic acid) hydrogels induced by cleavage of one of the crosslinks. Acta Biomater. 9(2):5122-31. doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.046. Epub 2012 Sep 10. PMID: 22975627.

[27]Guo W, Tao J, Yang C, Song C, Geng W, Li Q, Wang Y, Kong M, Wang S. (2012) Introduction of environmentally degradable parameters to evaluate the biodegradability of biodegradable polymers. PLoS One. 7(5):e38341. doi: 10.1371/journal.pone.0038341. Epub 2012 May 31. PMID: 22675455; PMCID: PMC3365006.

[28]Gunatillake P, Mayadunne R, Adhikari R. (2006) Recent developments in biodegradable synthetic polymers. Biotechnol Annu Rev. 12:301-47. doi: 10.1016/S1387-2656(06)12009-8. PMID: 17045198.

[29]Pachence JM, Bohrer P, Kohn J, Robert L, Joseph V (2007) Biodegradable polymers. In: Principles of Tissue Engineering, 3rd ed. Academic; Burlington, pp. 323-339

[30]Tran Le Bao Ha, To Minh Quan, Doan Nguyen Vu and Do Minh Si (2013). Naturally Derived Biomaterials: Preparation and Application, Regenerative Medicine and Tissue Engineering, Jose A. Andrades, IntechOpen, DOI: 10.5772/55668.

[31]Khosravimelal S, Momeni M, Gholipur M, Kundu SC, Gholipourmalekabadi M. (2020) Methods Cell Biol. 157:37-47. doi: 10.1016/bs.mcb.2019.11.004. Epub 2019 Dec 18. PMID: 32334719

[32]Loss M, Wedler V, Künzi W, Meuli-Simmen C, Meyer VE. (2000) Artificial skin, split-thickness autograft and cultured autologous keratinocytes combined to treat a severe burn injury of 93% of TBSA. Burns. 26(7):644-52. doi: 10.1016/s0305-4179(00)00045-0. PMID: 10925189.

[33]Branski LK, Herndon DN, Celis MM, Norbury WB, Masters OE, Jeschke MG. (2008) Amnion in the treatment of pediatric partial-thickness facial burns. Burns. 34(3):393-9. doi: 10.1016/j.burns.2007.06.007. Epub 2007 Oct 24. PMID: 17920202.

[34]Altman GH, Diaz F, Jakuba C, Calabro T, Horan RL, Chen J, Lu H, Richmond J, Kaplan DL. (2003) Biomaterials. 24(3):401-16. doi: 10.1016/s0142-9612(02)00353-8. PMID: 12423595

[35]Svensson A, Nicklasson E, Harrah T, Panilaitis B, Kaplan DL, Brittberg M, Gatenholm P. (2005) Biomaterials. 26(4):419-31. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.02.049. PMID: 15275816

[36]Ertesvåg H, Erlien F, Skjåk-Braek G, Rehm BH, Valla S. J (1998) Bacteriol. 180(15):3779-84. doi: 10.1128/JB.180.15.3779-3784.1998. PMID: 9683471

[37]Madhavan K, Belchenko D, Motta A, Tan W. Acta Biomater. 2010 Apr;6(4):1413-22. doi: 10.1016/j.actbio.2009.09.028. Epub 2009 Oct 6. PMID: 19815100

[38]Bae YH, Vernon B, Han CK, Kim SW. (1998) Extracellular matrix for a rechargeable cell delivery system. J Control Release. 53(1-3):249-58. doi: 10.1016/s0168-3659(97)00258-7. PMID: 9741932.

[39]D. Saraydın, S. Ünver-Saraydın, E. Karada, E. Koptagel, O. Güven (2004) Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 217 281.

[40]E. W. Hansen, K. H Holm, D. M. Jahr, K. Olafsen, A. Stori, (1997) Polymer, 38 4863.

[41]D. R. Kioussis, P. Kofinas (2005) Polymer, 46 (2005) 9342; / 5. P. Liu, J. Peng, J. Li, J. Wu, Rad Phys and Chem , 2 (2005) 635.

[42]Bartis D, Pongrácz J (2011) Háromdimenziós szövettenyésztés, Pécsi Tudományegyetem

[43]Gilbert TW, Sellaro TL, Badylak SF. (2006) Decellularization of tissues and organs. Biomaterials. 27(19):3675-83. doi: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.014. Epub 2006 Mar 7. PMID: 16519932.

[44]Hodde J. (2002) Naturally occurring scaffolds for soft tissue repair and regeneration. Tissue Eng. 8(2):295-308. doi: 10.1089/107632702753725058. PMID: 12031118.

[45]VéroniqueL. (2012) RHeart Disease and Stroke Statistics- 2012Update: A Report from the Amercian Heart Association. Circulation

[46]KennethM. YCurrent Protocols in Cell Biology. John Wiley & Sons, Inc. 2003110

[47] Yi S, Ding F, Gong L, Gu X. (2017) Extracellular Matrix Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. Curr Stem Cell Res Ther. 12(3):233-246. doi: 10.2174/1574888X11666160905092513. PMID: 27593448.

[48]ChenR. NHoH. OTsaiY. TSheuM. (2004) Process development of an acellular dermal matrix (ADM) for biomedical application. Biomaterials 20042526792686

[49]Jin CZ, Park SR, Choi BH, Park K, Min BH. (2007) In vivo cartilage tissue engineering using a cell-derived extracellular matrix scaffold. Artif Organs. 31(3):183-92. doi: 10.1111/j.1525-1594.2007.00363.x. PMID: 17343693.

[50]Bendavid, R.; Abrahamson, J.; Arregui, M.E.; Flamant, J.B.; Philips, E.H. (2001) Abdominal Wall Hernias: Pronciples and Managment, 1st ed.; Springer: New York, Ny, USA

[51]Davies MG, Hagen PO. (1997) Systemic inflammatory response syndrome. Br J Surg. 84(7):920-35. doi: 10.1002/bjs.1800840707. PMID: 9240130.

[52]Bone RC. (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine

regulation. Crit Care Med. 24(1):163-72. doi: 10.1097/00003246-199601000-00026. PMID: 8565523.

[53]Zogbi, L. (2008) The Use of Biomaterials to Treat Abdominal Hernias. In Biomaterials Applications for Nanomedicine, 1sst. ed.; Pignatello, R., Ed., Intech: Rijeka, Croatia, Volume 18, pp.359-382.

[54]Tsukruk VV, Reneker DH. (1995) Periodic surface instabilities in stressed polymer solids. Phys Rev B Condens Matter. 1;51(9):6089-6092. doi: 10.1103/physrevb.51.6089. PMID: 9979527.

[55]Jedlovszky-Hajdú A. (2012) Biokompatibilis anyagok: mesterséges mátrixok és nanoanyagok, Magyar tudomány

[56]Kenawy, E. R., El-Newehy, M. H., Abdel-Hay, F. I. (2014) Synthesis and biocidal activity of modified poly(vinyl alcohol). Arabian J. Chem. 7(3), 355–361.

[57]Ziabari, M., Mottaghitalab, V., Haghi, A. K. (2009) Application of direct tracking method for measuring electrospun nanofiber diameter. Braz. J. Chem. Eng. 26(1), 53–62.

[58]Noszticzius Z, Wittmann M, Kály-Kullai K, Beregvári Z, Kiss I, Rosivall L, Szegedi J. (2013) Chlorine dioxide is a size-selective antimicrobial agent. PLoS One. 8(11):e79157. doi: 10.1371/journal.pone.0079157. PMID: 24223899; PMCID: PMC3818415.

[59]Khandare JJ, Jayant S, Singh A, Chandna P, Wang Y, Vorsa N, Minko T. (2006) Dendrimer versus linear conjugate: Influence of polymeric architecture on the delivery and anticancer effect of paclitaxel. Bioconjug Chem. 17(6):1464-72. doi: 10.1021/bc060240p. PMID: 17105225.

[60]Sahoo SK, Panyam J, Prabha S, Labhasetwar V. (2002) Residual polyvinyl alcohol associated with poly (D,L-lactide-co-glycolide) nanoparticles affects their physical properties and cellular uptake. J Control Release. 82(1):105-14. doi: 10.1016/s0168-3659(02)00127-x. PMID: 12106981.

[61]Fajac I, Allo JC, Souil E, Merten M, Pichon C, Figarella C, Monsigny M, Briand P, Midoux P. (2000) Histidylated polylysine as a synthetic vector for gene transfer into immortalized cystic fibrosis airway surface and airway gland serous cells. J Gene Med. 2(5):368-78. doi: 10.1002/1521-2254(200009/10)2:5<368::AID-JGM118>3.0.CO;2-F. PMID: 11045431.

[62]Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. (2006) Toxic potential of materials at the nanolevel. Science. 3;311(5761):622-7. doi: 10.1126/science.1114397. PMID: 16456071.

[63]Sato T, Ishii T, Okahata Y. (2001) In vitro gene delivery mediated by chitosan. effect of pH, serum, and molecular mass of chitosan on the transfection efficiency. Biomaterials. 22(15):2075-80. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00385-9. PMID: 11432586.

[64]Lewinski N, Colvin V, Drezek R. (2008) Cytotoxicity of nanoparticles. Small. 4(1):26-49. doi: 10.1002/smll.200700595. PMID: 18165959.

[65]Lewis AL, Driver M. (2002) Blending in with the body. J Chem Educ. 79(3):321–326.

[66]Stern ST, McNeil SE. (2008) Nanotechnology safety concerns revisited. Toxicol Sci. 101(1):4-21. doi: 10.1093/toxsci/kfm169. Epub 2007 Jun 30. PMID: 17602205.

[67]"Biological Evaluation of Medical Devices," ISO 10993, parts 1–12. Geneva: International Organization for Standardization, various dates

[68]Bittner R, Bingener-Casey J, Dietz U, Fabian M, Ferzli GS, Fortelny RH, Köckerling F, Kukleta J, LeBlanc K, Lomanto D, Misra MC, Morales-Conde S, Ramshaw B, Reinpold W, Rim S, Rohr M, Schrittwieser R, Simon T, Smietanski M, Stechemesser B, Timoney M, Chowbey P. (2014) Guidelines for laparoscopic treatment of ventral and incisional abdominal wall hernias (International Endohernia Society [IEHS])—Part 2. Surg Endosc. 28(2):353-79. doi: 10.1007/s00464-013-3171-5. PMID: 24232044; PMCID: PMC3936125.

[69]Bringman S, Conze J, Cuccurullo D, Deprest J, Junge K, Klosterhalfen B, Parra-Davila E, Ramshaw B, Schumpelick V. (2010) Hernia repair: the search for ideal meshes. Hernia. 14(1):81-7. doi: 10.1007/s10029-009-0587-x. Epub 2009 Dec 11. PMID: 20012333; PMCID: PMC2815300.

[70]Schreinemacher M, Henatsch D, van Barneveld K, Bouvy N. (2010) The need for standardised animal models and scoring systems in assessing mesh biocompatibility. Hernia. 14(3):335-6. doi: 10.1007/s10029-010-0642-7. Epub 2010 Mar 1. PMID: 20191394; PMCID: PMC2878450.

[71]Eriksen JR, Gögenur I, Rosenberg J. (2007) Choice of mesh for laparoscopic ventral hernia repair. Hernia. 11(6):481-92. doi: 10.1007/s10029-007-0282-8. Epub 2007Sep 11. PMID: 17846703.

[72]Cobb WS, Peindl RM, Zerey M, Carbonell AM, Heniford BT. (2009) Mesh terminology 101. Hernia. 13(1):1-6. doi: 10.1007/s10029-008-0428-3. Epub 2008 Sep 16. PMID: 18795413.

[73]Kimmelman J, Mogil JS, Dirnagl U. (2014) Distinguishing between exploratory and confirmatory preclinical research will improve translation. PLoS Biol. 20;12(5):e1001863. doi: 10.1371/journal.pbio.1001863. PMID: 24844265; PMCID: PMC4028181.

[74]Bittner R, Bingener-Casey J, Dietz U, Fabian M, Ferzli GS, Fortelny RH et al (2014) Guidelines for laparoscopic treatment of ventral and incisional abdominal wall hernias (International Endohernia Society [IEHS])-Part 2. Surg Endosc 28(2):353–379

[75]Penttinen R, Grönroos JM. (2008) Mesh repair of common abdominal hernias: a review on experimental and clinical studies. Hernia. 12(4):337-44. doi: 10.1007/s10029-008-0362-4. Epub 2008 Mar 20. PMID: 18351432.

[76]Suckow MA, Duke Boynton FD, Johnson C. (2017) Use of a Rat Model to Study Ventral Abdominal Hernia Repair. J Vis Exp. 2;(128):53587. doi: 10.3791/53587. PMID: 28994802; PMCID: PMC5752351.

[77] https://www.rwdstco.com/product-item/laser-speckle-imaging-system/

[78]Molnar K, Voniatis C, Feher D, Ferencz A, Fonyad L, Reiniger L, Zrinyi M, Weber Gy, Jedlovszky-Hajdu A, (2018) Biocompatibility study of poly(vinyl alcohol)-based electrospun scaffold for hernia repair, EXPRESS POLYMER LETTERS 12 : 8 pp. 676-687., 12 p.

[79]Diamond MP, Freeman ML. (2001) Clinical implications of postsurgical adhesions. Hum Reprod Update. 7(6):567-76. doi: 10.1093/humupd/7.6.567. PMID: 11727865.

[80]Vandendael A, Struwig D, Nel JT, et al. Efficacy of fibrin sealant in prevention of adhesion formation on ovar surgical wounds in rabbit model. Gyn End 1996;169.

[81]Fehér D, Ferencz A, Szabó G, Juhos K, Csukás D, Voniatis C, Reininger L, Molnár K, Jedlovszky-Hajdú A, Wéber Gy (2020) Early and late effects of absorbable poly (vinyl alcohol) hernia mesh to tissue reconstruction. *IET Nanobiotechnol.*;1:10. https://doi.org/10.1049/ nbt2.12015

[81]Halm JA, de Wall LL, Steyerberg EW, Jeekel J, Lange JF. Intraperitoneal polypropylene mesh hernia repair complicates subsequent abdominal surgery. World J Surg. 2007 Feb;31(2):423-9; discussion 430. doi: 10.1007/s00268-006-0317-9. PMID: 17180562.

[82]Ibim SE, Ambrosio AM, Kwon MS, El-Amin SF, Allcock HR, Laurencin CT. (1997) Novel polyphosphazene/poly(lactide-co-glycolide) blends: miscibility and degradation studies. Biomaterials. 18(23):1565-9. doi: 10.1016/s0142-9612(97)80009-9. PMID: 9430340.

[83]Lucas, N.; Bienaime, C.; Belloy, C.; Queneudec, M.; Silvestre, F.; Nava-Saucedo, J.E. (2008) Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. Chemosphere. 73, 429-442

[84]Briassoulis, D. (2006) Mechanical behaviour of biodegradable agricultural films under real field conditions. Polym. Deg. Stab. 91, 1256-1272.

[85]Chandra, R.; Rustgi, R. (1998) Biodegradable polymers. Progr. Polym. Sci. 23, 1273-1335.

[86]Watanabe Y, Hamada N, Morita M, Tsujisaka Y. (1976) Purification and properties of a polyvinyl alcohol-degrading enzyme produced by a strain of Pseudomonas. Arch Biochem Biophys. Jun;174(2):575-81. doi: 10.1016/0003-9861(76)90386-6. PMID: 820265.

[87]Catro, G.; Panilaitis, B.; Kaplan, D. (2008) Emulsan tailorable biopolymer for controlled release. Bioresour. Technol. 99, 4566-4571.

[88]ChrysanthiWEngineering of Small Diamter Vessels. Therapeutic applications: tissue therapy; 10001013

[89]Nair, L.S.; Laurencin, C.T. (2007) Biodegradable polymers as biomaterials. Progr. Polym. Sci. 32, 762-798.

[90]Saad, B.; Suter. (2008) U.W. Biodegradable polymeric materials. Encyclopedia Mater. Sci. Technol, 551-555.

[91]Malafaya PB, Silva GA, Reis RL. (2007) Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. Adv Drug Deliv Rev. May 30;59(4-5):207-33. doi: 10.1016/j.addr.2007.03.012. Epub 2007 Apr 6. PMID: 17482309.

[92]Pachence, J.M.; Bohrer, M.P.; KohnNewly, J. (2007) Biodegradable polymers. In

Principles of Tissue Engineering, 3rd Ed.; Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J., Eds.; Elsevier: Amsterdam, Netherlands; Chaptor 23, pp. 323-339.

[93]Middleton, J.C.; Tipton, A.J. (2009) Synthetic biodegradable polymers as medical devices. Med. Plastics Biomater. Mag. 1998, 3, 30; Available online: http://www.devicelink.com/mpb/archive/- 98/03/002.html

[94]Bellón JM, Rodríguez M, García-Honduvilla N, Pascual G, Buján J. (2007) Partially absorbable meshes for hernia repair offer advantages over nonabsorbable meshes. Am J Surg. Jul;194(1):68-74. doi: 10.1016/j.amjsurg.2006.11.016. PMID: 17560912.

[95]Scholten E, Bromberg L, Rutledge GC, Hatton TA. (2011) Electrospun polyurethane fibers for absorption of volatile organic compounds from air. ACS Appl Mater Interfaces. Oct;3(10):3902-9. doi: 10.1021/am200748y. Epub 2011 Sep 20. PMID: 21888418.

[96]Morales-Conde S, Barreiro Morandeira F. (2008) Cirugía de la hernia: nuevos conceptos y nuevas perspectivas [Hernia surgery: new concepts and new perspectives]. Cir Esp. Apr;83(4):165-6. Spanish. doi: 10.1016/s0009-739x(08)70541-4. PMID: 18358174.

[97]Köckerling F, Alam NN, Antoniou SA, Daniels IR, Famiglietti F, Fortelny RH, Heiss MM, Kallinowski F, Kyle-Leinhase I, Mayer F, Miserez M, Montgomery A, Morales-Conde S, Muysoms F, Narang SK, Petter-Puchner A, Reinpold W, Scheuerlein H, Smietanski M, Stechemesser B, Strey C, Woeste G, Smart NJ. (2018) What is the evidence for the use of biologic or biosynthetic meshes in abdominal wall reconstruction? Hernia. Apr;22(2):249-269. doi: 10.1007/s10029-018-1735-y. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29388080; PMCID: PMC5978919.

[98]von Burkersroda F, Schedl L, Göpferich A. (2002) Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. Biomaterials. Nov;23(21):4221-31. doi: 10.1016/s0142-9612(02)00170-9. PMID: 12194525.

[99]Lucas N, Bienaime C, Belloy C, Queneudec M, Silvestre F, Nava-Saucedo JE. (2008) Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques. Chemosphere. Sep;73(4):429-42. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064. Epub 2008 Aug 23. PMID: 18723204.

[100]Bhattacharjee P, Kundu B, Naskar D, Maiti TK, Bhattacharya D, Kundu SC.

(2015) Nanofibrous nonmulberry silk/PVA scaffold for osteoinduction and osseointegration. Biopolymers. May;103(5):271-84. doi: 10.1002/bip.22594. PMID: 25418966.

[101]Pillai MM, Gopinathan J, Indumathi B, Manjoosha YR, Santosh Sahanand K, Dinakar Rai BK, Selvakumar R, Bhattacharyya A. (2016) Silk-PVA Hybrid Nanofibrous Scaffolds for Enhanced Primary Human Meniscal Cell Proliferation. J Membr Biol. Dec;249(6):813-822. doi: 10.1007/s00232-016-9932-z. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27730256.

[102]K. Kim, Y. Akada, W. Kai, B. Kim and I. Kim. (2011) "Cells Attachment Property of PVA Hydrogel Nanofibers Incorporating Hyaluronic Acid for Tissue Engineering," *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, Vol. 2 No. 4, pp. 353-360. doi: 10.4236/jbnb.2011.24044.

[103]Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. (2001) Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. Dig Surg. 18(4):260-73. doi: 10.1159/000050149. PMID: 11528133.

[104]Falk K, Björquist P, Strömqvist M, Holmdahl L. (2001) Reduction of experimental adhesion formation by inhibition of plasminogen activator inhibitor type 1. Br J Surg. Feb;88(2):286-9. doi: 10.1046/j.1365-2168.2001.01647.x. PMID: 11167882.

[105]Kossovsky, N., Freiman, C. J., and Howarth, D. (2001) BiomaterialPatholgy. In R. Bendavid (Ed.),Abdominal Wall Hernias. NewYork: Springer-Verlag Inc. Pp. 221–234.

[106]Bellón JM, García-Carranza A, Jurado F, García-Honduvilla N, Carrera-San Martin A, Buján J. (2001) Peritoneal regeneration after implant of a composite prosthesis in the abdominal wall. World J Surg. Feb;25(2):147-52. doi: 10.1007/s002680020069. PMID: 11338014.

[107]Bellón JM, Contreras LA, Buján J, Carrera-San Martín A. (1997) The use of biomaterials in the repair of abdominal wall defects: a comparative study between polypropylene meshes (Marlex) and a new polytetrafluoroethylene prosthesis (Dual Mesh). J Biomater Appl. Oct;12(2):121-35. doi: 10.1177/088532829701200203. PMID: 9399138.

[108]Voeller, G. R. (2001) Repair of incisional hernias and midline defects.In R.

Bendavid, J. Abrahamson, M. E. Arregui,et al.(Eds.),Abdominal Wall Hernias: Principles and Management. NewYork: Springer-Verlag. Pp. 519–524.

[109]Ramshaw BJ, Esartia P, Schwab J, Mason EM, Wilson RA, Duncan TD, Miller J, Lucas GW, Promes J. (1999) Comparison of laparoscopic and open ventral herniorrhaphy. Am Surg. Sep;65(9):827-31; discussion 831-2. PMID: 10484084.

[110]Drollette CM, Badawy SZ. (1992) Pathophysiology of pelvic adhesions. Modern trends in preventing infertility. J Reprod Med. Feb;37(2):107-21; discussion 121-2. PMID: 1371547.

[111]Di Zerega, G. S. (1992) The peritoneum: postsurgical repair and adhe-sion formation. In J. A. Rock, A. A. Murphy, and H. W. Jones(Eds.),Female Reproductive Surgery. Baltimore: Williams &Williams. Pp. 2–18.

[112]White RA. (1988) The effect of porosity and biomaterial on the healing and long-term mechanical properties of vascular prostheses. ASAIO Trans. Apr-Jun;34(2):95-100. doi: 10.1097/00002480-198804000-00004. PMID: 3285872.

[113]Amid, P. K. (2001) Polypropylene prostheses. In R. Bendavid (Ed.),Abdominal Wall Hernias. New York: Springer-Verlag Inc. Pp. 272–277.

[114]Swindle MM, Adams RJ, eds. Experimental Surgery and Physiology: Induced Animal Models of Human Disease. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1988.

[115]Swindle MM, Smith AC. (1998) Comparative anatomy and physiology of the pig. Scand J Lab Anim Sci. 25 (suppl 1):1-10.

[116]Bellows CF, Alder A, Helton WS (2006) Abdominal wall reconstruction using biological tissue grafts: present status and future opportunities. Expert Rev Med Devices 3:657-675

[117]Matthews BD, Pratt BL, Pollinger HS, Backus CL, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. (2003) Assessment of adhesion formation to intra-abdominal polypropylene mesh and polytetrafluoroethylene mesh. J Surg Res. Oct;114(2):126-32. doi: 10.1016/s0022-4804(03)00158-6. PMID: 14559437.

[118]Konerding MA, Chantereau P, Delventhal V, Holste JL, Ackermann M. (2012) Biomechanical and histological evaluation of abdominal wall compliance with intraperitoneal onlay mesh implants in rabbits: a comparison of six different state-of-the-art meshes. Med Eng Phys. Sep;34(7):806-16. doi: 10.1016/j.medengphy.2011.09.022. Epub 2011 Oct 10. PMID: 21992970.

[119]Kazmi SM, Richards LM, Schrandt CJ, Davis MA, Dunn AK. (2015) Expanding applications, accuracy, and interpretation of laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. J Cereb Blood Flow Metab. Jul;35(7):1076-84. doi: 10.1038/jcbfm.2015.84. Epub 2015 May 6. PMID: 25944593; PMCID: PMC4640282.

[120]Du E, Shen S, Chong SP, Chen N. (2020) Multifunctional laser speckle imaging. Biomed Opt Express. Mar 13;11(4):2007-2016. doi: 10.1364/BOE.388856. PMID: 32341863; PMCID: PMC7173886.

[121]Matthews BD, Pratt BL, Pollinger HS, Backus CL, Kercher KW, Sing RF, Heniford BT. (2003) Assessment of adhesion formation to intra-abdominal polypropylene mesh and polytetrafluoroethylene mesh. J Surg Res. Oct;114(2):126-32. doi: 10.1016/s0022-4804(03)00158-6. PMID: 14559437.

[122]Todros S, Pavan PG, Pachera P, Natali AN. (2017) Synthetic surgical meshes used in abdominal wall surgery: Part II-Biomechanical aspects. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. May;105(4):892-903. doi: 10.1002/jbm.b.33584. Epub 2015 Dec 21. PMID: 26687728.

12. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK ÉS PREZENTÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

Fehér D, Ferencz A, Szabó G, Juhos Krisztina; Csukás, Domokos, Voniatis Constantinos, Reininger Lilla, Molnár Kristóf, Jedlovszky-Hajdú Angéla, Wéber György. Early and late effects of absorbable poly (vinyl alcohol) hernia mesh to tissue reconstruction. IET Nanobiotechnol 2020;1-10.
https://doi.org/10.1049/ nbt2.12015
IF: 1,859

Molnar K, Voniatis C, **Feher D**, Ferencz A, Fonyad L, Reiniger L, Zrinyi M, Weber Gy, Jedlovszky-Hajdu A. Biocompatibility study of poly(vinyl alcohol)-based electrospun scaffold for hernia repair. Exp Pol Let 2018;12:676-87.
IF: 2,875

Összesített IF: 4,734

Lektorált folyóiratban megjelent társszerzős közlemények

Vukman, Krisztina V.; Ferencz, Andrea; **Fehér, Daniella**; Juhos, Krisztina; Lőrincz, Péter; Visnovitz, Tamás; Koncz, Anna; Pálóczi, Krisztina; Seregélyes, Gábor; Försönits, András et al. ‚*An implanted device enables in vivo monitoring of extracellular vesicle-mediated spread of pro-inflammatory mast cell response in mice*, JOURNAL OF EXTRACELLULAR VESICLES 10 : 1 Paper: e12023 (2020)
IF: 15,073

Kristóf Molnár, Constantinos Voniatis, **Daniella Fehér**, Andrea Ferencz, György Wéber, Miklós Zrínyi, Angéla Jedlovszky-Hajdú, Electrospun Poly(Amino Acid) Based Nano GEL Fiber Matrices and Their Biocompatibility and Biodegradability, BIOPHYSICAL JOURNAL 114 : 3S1 p. 363 (2018)
IF: 3,85

Ferencz Andrea, **Fehér Daniella**, Szabó Györgyi, Dankó Titanilla, Juhos Krisztina, Szentes Péter, Csukás Domokos, Sándor József, Ender Ferenc, Fónagy László, Molnár Kristóf, Jedlovszky-Hajdú Angéla, Zrínyi Miklós, Wéber György, Abdominal hernia repair with poly (succinimide) and with its cysteamine crosslinked nanofiber hernia meshes. A preliminary experimental study, INTERNATIONAL JOURNAL OF BIO-TECHNOLOGY AND RESEARCH 6 : 2 pp. 1-6. , 6 p. (2016)

Fehér Daniella, Ferencz Andrea, Szabó Györgyi, Fónyad László, Juhos Krisztina, Marcell Guba Péter, Csukás Domokos, Sándor József, Ender Ferenc, Molnár Kristóf, Jedlovszky-Hajdú Angéla, Zrínyi Miklós, Wéber György, Tissue engineered nanofiber poly (vinyl alcohol) mesh for the treatment of abdominal wall hernia, INTERNATIONAL JOURNAL OF BIO-TECHNOLOGY AND RESEARCH 6 : 2 pp. 7-14., 8 p. (2016)

Lektorált folyóiratokban megjelent elsőszerzős, idézhető absztraktok

Fehér, D ; Juhos, K ; Ferencz, A ; Szabó, Gy ; Csukás, D ; Molnár, K ; Jedlovszky-Hajdu, A ; Voniatris, C ; Zrinyi, M ; Weber, Gy. Study of poly (vinyl) alcohol scaffolds in small and large animals for the treatment of abdominal hernia repair. EUROPEAN SURGICAL RESEARCH 58 : S2 p. 15 (2017)

Fehér, Daniella ; Ferencz, Andrea ; Sándor, József ; Szabó, Györgyi ; Csukás, Domokos ; Juhos, Krisztina ; Molnár, Kristóf ; Jedlovszky-Hajdú, Angéla ; Zrínyi, Miklós ; Wéber, György. Poli(vinilalkohol) sérvháló bioadaptálódásának vizsgálata patkány–sertés állatmodellekben. MAGYAR SEBÉSZET 70 : 3 pp. 269-270. , 2 p. (2017)

Fehér, Daniella ; Ferencz, Andrea ; Szabó, Györgyi ; Fónyad, László ; Juhos, Krisztina ; Marcell Guba, Péter ; Csukás, Domokos ; Sándor, József ; Ender, Ferenc ; Molnár, Kristóf et al., Tissue engineered nanofiber poly(vinyl alcohol) mesh for the treatment of abdominal wall hernia In: Grzegorz, Wallner Masaki Kitajima; Jozsef, Sandor

(szerk.) Second Triangle Symposium of the Poland-Hungary-Japan Surgical Society Lublin, Lengyelország (2016) pp. 52-52. , 1 p.

Lektorált folyóiratokban megjelent társszerzős, idézhető absztraktok

Csukás Domokos, Vázsonyi Csenge, Ferencz Andrea, Szabó Györgyi, **Fehér Daniella**, Juhos Krisztina, Sándor József, Szebeni János, Urbanics Rudolf, Vashegyi Ildikó. A pulmonalis intravascularis macrophagok ex vivo szeparációja és aktivitásának in vitro vizsgálata a komplementaktivációval összefüggő pszeudoallergiás reakciók vonatkozásában sertésmodellen. Magy Seb 2017;70:287.

Ferencz A, Szabó Gy, **Fehér D**, Juhos K, Csukás D, Sándor J, Wéber Gy. Microsurgical education for residency on the Semmelweis University. Magy Seb 2018;2:40.

Előadások és poszterek

Ferencz Andrea, Fehér Daniella, Juhos Krisztina, Csukás Domokos, Szabó Györgyi, Sándor József, Wéber György. Gradual and postgradual surgical skill education on the Semmelweis University. In: Sándor, József (szerk.) 3rd Triangle Scientific Symposium of the Japan-Hungary-Poland Surgical Society: Semmelweis Symposium: Clean hands save life. Budapest, 2018;59.

Szabó Györgyi, Eldin Mohamed Gamal, Hammerschlag Jonathan, Kouhnavardi Shiva, Ferencz Andrea, **Fehér Daniella**, Juhos Krisztina, Csukás Domokos, Sándor József, Wéber György. How treatment time effects on adhesion formation and stabilization an animal model? In: Sándor, József (szerk.) 3rd Triangle Scientific Symposium of the Japan-Hungary-Poland Surgical Society : Semmelweis Symposium: Clean hands save life. Budapest 2018;56.

Voniatis Constantinos, **Fehér Daniella**, Molnár Kristóf, Ferencz Andrea, Jedlovszky-Hajdú Angéla, Wéber György. The potential of nanofabricated poly(vinyl alcohol) scaffolds as alternative surgical meshes. In: Sándor, József (szerk.) 3rd Triangle Scientific Symposium of the Japan-Hungary-Poland Surgical Society : Semmelweis Symposium: Clean hands save life, Budapest, 2018;136.

Sándor József, Juhos Krisztina, **Fehér Daniella**, Csukás Domokos, Szabó Györgyi, Voniatis Constantinos, Károly Norbert, Weber György, Ferencz Andrea. Challenge of surgical education and training in the 21th century. In: World Education Day Assembly - 2019;238.

Veres Tamás, Molnár, Kristóf, Nesztor Dániel, Tombácz Etelka, Voniatis Constantinos, **Fehér Daniella**, Wéber György, Zrínyi Miklós, Jedlovszky-Hajdú Angéla. Mágneses mesterséges szövetek hipertermiás hatása. In: Auer Ádám, Nagy Noémi, Tóbi István (szerk.) Pro Scientia Aranyérmesek XIV. Konferenciája, Budapest, 2019;221:55-60.

13. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném kifejezni köszönetemet témavezetőmnek, Prof. Dr. Wéber Györgynek az évek során nyújtott támogatásáért. Ugyancsak köszönettel és hálával tartozom Dr. Ferencz Andreának és Prof. Dr. Sándor Józsefnek a tudományos irányításáért és támogatásáért.

A dolgozatom eredményei nagyrészt állatkísérletekből származnak, melyeket nem tudtam volna Dr. Szabó Györgyi, Dr. Juhos Krisztina, Dr. Constantinos Voniatis, Schum Ibolya és Csépke Karolin közreműködése és segítsége nélkül elvégezni.

Ugyancsak köszönettel tartozom az I. számú Patológia dolgozóinak, hogy az *in vitro* kísérleteimnek helyet biztosítottak.

És végül, de nem utolsó sorban köszönöm szüleimnek, hogy az elmúlt években bíztak bennem. Legnagyobb hálával azonban lányomnak, Laurának, és szerelmemnek, Mottinak tartozom, hogy mindvégig támogattak és segítettek abban, hogy ez a disszertáció létrejöhessen.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK KÜLÖNNYOMATA