

Projekt záró beszámoló

A sérvsebészet eredményei, a hálóbeültetéssel végzett műtéti technikák térhódítása óta lényegesen javultak, azonban a nem felszívódó háló okozta szövődmények – különösen intraperitonealis alkalmazás esetén – igen súlyosak.

Fentiek miatt munkacsoportunk nanotechnológiai módszerek alkalmazásával olyan biokompatibilis és biodegradábilis polimer háló kifejlesztését tűzte ki célul, melynek felszívódása lassú, olcsó, hasfali rekonstrukcióra alkalmas, és tartósan vázat biztosít a kialakuló hegyszövetnek. A nanotechnológiai módszer az elektromos szálhúzás, mely nano illetve mikroszálak előállítására alkalmas. Az elektromos szálképzés során elektromos tér segítségével állítunk elő viszkózus polimer oldatból, olyan szálakat, amelyek átmérője a pár száz nanométer (10^{-9} m) és a pár mikrométer (10^{-6} m) tartományba esik, és az így készített hálók – az irodalmi adatok szerint - alkalmasak a sejtek szaporodásának gyorsítására, irányítására.

Kísérlet sorozatunk első évében munkacsoportunk elektromos szálhúzással aminosav alapú (aszparaginsavból, illetve anhidridjéből, szukcinimidből) szálak struktúráját állítottuk elő, és a háló mechanikai tulajdonságainak valamint a pórusok mikroszkópos vizsgálata történt. Állatkísérletekben (170 nyúl) az intraperitoneális helyzetű, különböző vastagságú (0,5-1- 1,5 mm) szukcinimid háló biológiai viselkedését vizsgáltuk.

A bőrmetszést követően a nyulak hasfalának egy, kb. 3x4 cm-es területén kimetsztettük a teljes musculo-aponeuroticus réteget, valamint a parietalis peritoneumot. Ezt fedtük különböző vastagságú (0,5-1- 1,5 mm) felszívódó hálóval. A hálót az I.-II-III. csoportban 4/0-s tovaftató varrattal (oly módon, hogy a fonal ne érintkezessen a bélel), a IV.csoportban szövetragasztóval rögzítettük az 1 mm vastagságú hálót a hasfalhoz. Az V.csoportban a medián laparotómiát követően nem metsztettük ki a hasfalat, hanem az 1 mm vastagságú hálót, szövetragasztóval a peritoneumra fektettük. A kontroll állatoknál a hasfal megnyitását követően a fent említett módon képzett nyílást öltésekkel zártuk (VI.csoport), illetve csak bőrmetszés történt (VII.csoport). A kontroll csoportokba 10-10 állat került. Műtét után az állatokat naponta ellenőriztük, A hálók eltávolítására a 7, 14, 21, 30. 90. 180 napon került sor ((5-5 nyúl az I-V. csoportból, míg a kontroll csoportokból 1-1 nyúl)), az érintett hasfalat teljes egészében kimetsztettük. Makroszkóposan vizsgáltuk a viscerális összenövéseket (felszín %-a); a seroma, abscessus, fistula, dehiscencia jelenlétét esetleg a sérvképződést. A mintákat két darabra vágtuk, egyiken szakítószilárdság-mérés történt, a másik szövettani vizsgálatra került.

Ennek szempontjai: idegentest-reakció, gyulladás, beépülés mértéke, a remodelling és felszívódás foka.

Eredményeink: A szukcinimid hálók zavartalan incorporációját észleltük, de sajnos a felszívódás gyorsabban zajlott (14 nap!), mint a tervezett követési idő. A korai időszakban minimális viscerális összenövéset találtunk, seroma, abscessus, fistula, dehiscencia illetve sérvképződés nélkül. 14 nap után a szukcinimid háló felszívódott, a mintát nem találtuk.

Kísérlet sorozatunk második évében az intraperitoneális helyzetű, különböző vastagságú (0,2 - 0,6 és 1 mm) szukcinimidből előállított felszívódó háló biológiai viselkedését és adhézió képződésre gyakorolt hatását vizsgáltuk ebben a kritikus 14 napon. A kísérlethez 170 db 200-250 g súlyú patkányt használtunk.

A hálók eltávolítására a protokoll szerint a beavatkozást követően az 1., 2., 3., 5., 7. és 14. posztoperatív napon (5-5 patkány a kísérleti csoportokból és 2-2 patkány a kontroll csoportokból), került sor. Makroszkóposan vizsgáltuk a viscerális összenövéseket (felszín %-a); a seroma, abscessus, fistula, dehiscencia jelenlétét illetve a sérvképződést. Hematoxin-eozin és azid festéssel vizsgáltuk a lokális gyulladásos reakció sejtjes elemeit, a makrofág beszűrődést, a fibroblasztok, fibrin kötegek jelenlétét, a kialakuló idegentest granulómát.

Eredményeink: A makroszkópos elváltozások és a mikroszkópos eredmények a különböző csoportokban hasonlóak voltak, vagyis a háló vastagságának nincs lényeges szerepe a kialakult viscerális összenövések kialakulásában valamint a kialakuló idegentest reakcióban. A vérvételek közvetlenül a műtétet követően, majd az 1., 2., 3., 5., 7. és 14. posztoperatív napon történtek. A plazmából gyulladásos markereket (IL-6, IL-8 és TNF-alfa) mértünk. A gyulladásos paramétereknél lényeges, szignifikáns eltérések nem voltak a vizsgált csoportok között. Eredményeink szerint a vitronektin a 3. po. naptól megjelenik a peritoneális lavage-ban, nagy számban fordul elő a gyulladásos területeken és az idegen testek környékén.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a szukcinimidből előállított felszívódó háló vastagságkülönbsége nem játszik lényeges szerepet a kialakult viscerális összenövések kialakulásában valamint a kialakuló idegentest reakcióban. Hasfal pótlásra azonban a szukcinimidből előállított felszívódó háló nem alkalmas, mert felszívódása gyorsabb, mint a megfelelő hasfali heg képződése. Ezért a következő kísérleteinket az ugyancsak saját fejlesztésű, elektromos szálhúzással készített polivinil-alkohol (PVA) hálókkal végeztük.

Kísérletsorozatunk harmadik évében a kereskedelmi forgalomban beszerezhető polipropilén háló felületét - elektromos szálhúzás technikájával - PVA hálóval fedtük. Állatkísérleteinkben a polipropilén háló (PP) és a PP vázra felvitt, különböző vastagságú PVA háló biológiai viselkedését vizsgáltuk. A kísérlethez használt hím, 60 db 200-250 g súlyú patkányokat ketamin/xylazin keverékkel elaltattuk. Medián laparotómiát követően, egy 1x2 cm-es területen kimetszettük a teljes musculo-aponeuroticus réteget valamint a parietalis peritoneumot. Az állatokat négy csoportba osztottuk: az I.-II-III. csoportban, ezeket hiányokat PP hálóra öltéssel rögzített, különböző vastagságú (0,2 , 0,4 és 0,6 mm vastagságú) PVA hálóval fedtük, a IV. csoportban pedig ezeket a hiányokat PP hálóval fedtük.

A hálók eltávolítására a 7, 14, és 21. napon került sor (5-5 patkány minden alkalommal), az érintett hasfalat teljes egészében kimetszettük. Makroszkóposan vizsgáltuk a viscerális összenövéseket (felszín %-a); a seroma, abscessus, fistula, dehiscencia jelenlétét esetleg a sérvképződést. Szövetteni vizsgálatnál értékeltük az idegentest-reakciót, a gyulladás és a beépülés mértékét. A bőr eltávolítása után minden esetben látható volt, hogy a háló jól integrálódott a környező szövetekbe. 4 szálagos, 17 függönyszerű és 6 nagy kiterjedésű adhéziót találtunk, többségük (n = 19) a varrathoz tapadt és csak kevés (n = 5) a hálóhoz, utóbbiak minden esetben kevesebb mint a felszín egyharmadát borították be. Az adhéziókat alkotó fő szerv a nagycseplesz volt, de közelsége miatt néhány (n = 6) 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 3–5. 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 hosszabb távú megfigyelések során azt láttuk, hogy a háló környezetében a gyulladás lecsillapodott, és akadálytalanul megindult a hegképződés. A vizsgálat során a hálóval összefüggésbe hozható óriássejtes granulomát nem találtunk, a háló szerkezetét épnek találtuk. Így megállapítható, hogy a PVA háló szövetbarát, biokompatibilis, a környező szöveteket nem károsítja, azokkal jól integrálódik

A hálók mechanikai tulajdonságainak vizsgálatához sertés modellt (n=15) használtunk. Medián laparotómiát követően, a hasfal mindkét oldalán két-két, kb. 3x4 cm-es területén kimetszettük a teljes musculo-aponeuroticus réteget, valamint a peritoneumot. A hiányokat jobb oldalon craniálisan PP hálóval, caudálisan PP hálón 0,2 mm vastagságú PVA

hálóval fedtük. Bal oldalon a fedés craniálisan PP hálón 0,4 mm vastagságú PVA hálóval, caudálisan pedig PP hálón 0,6 mm vastagságú PVA hálóval történt.

A hálók eltávolítására a 7, 14, és 21. napon került sor (5-5 sertés minden alkalommal), az érintett hasfalat teljes egészében kimetszettük. Makroszkóposan vizsgáltuk a viscerális összenövéseket (felszín %-a); a seroma, abscessus, fistula, dehistentia jelenlétét esetleg a sérvképződést.

A vizsgálat során, - a patkány illetve sertés modellben egyaránt - ha a hasfalhiányt PP hálóval fedtük, minden esetben súlyos viscerális összenövéseket észleltünk. Az összenövések mértéke szignifikánsan csökkent, ha a PP háló viscerális felszínét PVA hálóval fedtük. Az összenövések mértéke és a fedésre használt PVA háló vastagsága között nem láttunk összefüggést.

A beültetett PP- PVA háló – a fedés vastagságától függetlenül - az első héten mérsékelt gyulladáshoz vezetett. A hosszabb távú megfigyelések során azt láttuk, hogy a háló környezetében akadálytalanul megindult a hegképződés a háló körül. Seroma, abscessus, fistula, dehistentia illetve a sérvképződést nem találtunk. A háló szerkezetét mindvégig épnek találtuk. vagyis a PP- PVA háló szövetbarát, biokompatibilis, a környező szöveteket nem károsítja, azokkal jól integrálódik.

A szövettani vizsgálatok is azt mutatták, - mindkét állat modellben - hogy a PP- PVA hálók beépültek a környező szövetekbe és mindvégig megtartották szerkezetüket. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a PVA háló adhézió generáló hatása illetve a háló által okozott szöveti reakció minimális.

Kísérletsorozatunk utolsó, negyedik évében a megelőző évben kiválóan bizonyult sertés modellen a PVA háló és szilikonnal fedett polipropilén (nem felszívódó) háló biológiai viselkedését hasonlítottuk össze (n=15)

Kísérlet menete: Medián laparotómiát követően, a hasfal mindkét oldalán egy-egy, kb. 3x4 cm-es területén kimetszettük a teljes musculo-aponeuroticus réteget, valamint a peritoneumot. A hiányokat jobb oldalon szilikonnal fedett PP hálóval, bal oldalon pedig PVA hálóval fedtük. A hálók eltávolítására a 7, 14, és 21. napon kerül sor (5-5 sertés minden alkalommal), vizsgálatok, mint az 1. kísérletsorozatban.

Kísérleteink utolsó fázisában kizárólag felszívódó komponensekből álló hálókat vizsgáltunk, a PVA háló biológiai viselkedését a „Surgisis”- hálóval hasonlítottak össze (n=15).

Kísérlet menete: a vizsgálatához sertés modellt (n=15) használtunk. Medián laparotómiát követően, a hasfal mindkét oldalán egy-egy, kb. 3x4 cm-es területén kimetszettük a teljes musculo-aponeuroticus réteget, valamint a peritoneumot. Ezeket fedjük rendre jobb oldalon felszívódó hálóval (Surgisis), az ellenoldalon pedig, 1 mm vastagságú PVA hálóval. A hálók eltávolítására a 7, 14, és 21 napon kerül sor (5-5 sertés minden alkalommal), vizsgálatok, mint az 1. kísérletsorozatban.

Megállapítottuk, hogy mindhárom háló (saját fejlesztésű PVA háló, szilikonnal fedett polipropilén háló és a Surgisis) viselkedése hasonló: beépülése teljes, minimális idegentest reakció mellett csekély összenövést generál, fistula és egyéb gyulladásos szövődményt nem okoz.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az általunk kifejlesztett PVA háló állatkísérletekben alkalmasnak bizonyult hasfali rekonstrukcióra és további kísérletes vizsgálatát tervezzük.