

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**A vékonybél ischaemia-reperfusio okozta
haemorheologiai és mikrokeringési változások vizsgálata
kísérletes modellben**

Dr. Mester Anita

Témavezető: Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2018

A vékonybél ischaemia-reperfusio okozta haemorheologiai és mikrokeringési változások vizsgálata kísérletes modellben

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

Írta: Dr. Mester Anita, okleveles orvosdoktor

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
(Klinikai vizsgálatok programja) keretében

Témavezető: Dr. Németh Norbert, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok: Dr. Oláh László, PhD
Prof. Dr. Horváth Örs Péter, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK Szemészeti Tanszék Könyvtár
2018. július 10. 11 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Ferencz Andrea, PhD
Dr. Jancsó Gábor, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Horváth Örs Péter, az MTA doktora
Dr. Ferencz Andrea, PhD
Dr. Jancsó Gábor, PhD
Dr. Oláh László, PhD

Az értekezés védésének időpontja:

Debreceni Egyetem ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2018. július 10. 13 óra

1. BEVEZETÉS

Az akut mesenterialis ischaemia egy életveszélyes sürgősségi kórkép, amely akut has formájában jelentkezik. A mesenterialis ischaemia számos betegség, állapot során előfordulhat, mint például az újszülötteket érintő enterocolitis necrotisans, a gyermekkorban előforduló volvulus, a mesenterialis ereket érintő thrombosis vagy embolia, shock, cardiopulmonalis betegségek, trauma, valamint a vékonybél transzplantáció. Habár a gastrointestinalis betegségek mindössze 1-2%-áért felelős, jelentőségét mégis az adja, hogy mortalitása ma is kiemelkedően nagy, eléri a 60-80%-ot. Ennek oka egyrészt, hogy a korai diagnosztikai markerek hiánya miatt a kórkép továbbra is kihívást jelent a klinikusok számára, melynek következtében gyakran késik a diagnózis felállítása. Másrészt, a kevés preventív és terápiás lehetőség, illetve a nem minden részletében tisztázott patofiziológia is hozzájárul a magas halálozási arányhoz.

Az ischaemia-reperfusio során zajló történésekről rengeteg információ gyűlt össze napjainkra. Az ischaemia alatt a sejtekben kialakuló energiahány metabolikus változásokhoz vezet, majd a vérkeringés visszatérése során reaktív szabadgyökök képződnek, amely nagyobb szövetkárosodást okozhat, mint az oxigénhiányos állapot önmagában. A folyamat során a vörösvérsejtek is károsodnak, melynek következtében romlik a deformabilitásuk és fokozódik az aggregációs készségük, ami emelkedett vérviszkozitáshoz és áramlási ellenálláshoz vezet. Továbbá a vörösvérsejt aggregatio más sejtek funkcióját is befolyásolhatja, például elősegíti az endothel sejtek aktivációját, illetve a thrombocyták és a fehérvérsejtek érfalhoz történő kitapadását. A reperfusio káros hatása elsősorban a microvasculatura területét érinti, mikrokeringési zavar alakul ki az adott szövetben, szervben. A jó microcirculatio fenntartásában az erek megfelelő állapota mellett elengedhetetlen a vér optimális áramlási tulajdonságainak megléte, ezért kóros körülmények között a vörösvérsejtek rheológiai jellemzőinek kiemelkedő szerep jut.

Az öregedés az ischaemiás rendellenességek – stroke, ischaemiás szívbetegség, mesenterialis ischaemia és számos sebészeti beavatkozás – egyik fő rizikófaktora, illetve az I/R károsodások gyakrabban fordulnak elő az idősebb populációban. Nem elhanyagolható jelentőségű tény, hogy a népesség öregedésével és az idős betegek arányának növekedésével a mesenterialis ischaemia előfordulása is várhatóan emelkedni fog. Az idősebb betegek esetén azonban a halálozás szignifikánsan magasabb, így a mortalitás csökkenésére sem számíthatunk a jövőben.

Fontos megjegyezni, hogy a cardiovascularis rizikó férfiakban magasabb, mint a nőkben. Ennek hátterében feltételezhető egyrészt az ösztrogének protektív hatása, amely komplex mechanizmusok következménye: az ösztrogének részt vesznek géntranszkripciók folyamatokban, az intracellularis jelátvitelben, a vasoregulációban, emellett anti-inflammatorikus és anti-oxidáns hatásuk is van. Másrészt, a nők kedvezőbb haemorheológiai tulajdonságokkal rendelkeznek: nőkben alacsonyabb a vérviszkózitás, a haematocrit, a vörösvérsejt aggregatio, illetve jobb a deformabilitás a férfiakhoz viszonyítva.

A nagymennyiségű tudásanyag és a jelenleg is folyamatban lévő kutatások ellenére számos kérdés továbbra is tisztázatlan. A haemorheológiai paraméterek *in vivo* változásának jelentősége a kórfolyamatokban, illetve hogy ezek az eltérések mikor érnek el olyan mértéket, amely már thromboticus szövődmények kialakulásához vezet, továbbra is kérdéses. A prevenció és terápia lehetőségek vizsgálata továbbra is szükséges, mivel a haemorheológiai terápia nem elterjedt a gyakorlatban, habár a véráramlási tényezők figyelmen kívül hagyása az orvosi gyakorlatban korszerűtlen szemléletet tükröz.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Patkányban 30 perces vékonybél ischaemia, illetve az ezt követő 120 perces reperfusio szisztémás haematologiai és micro-rheologiai paraméterekre kifejtett, valamint lokális microcirculációs hatásainak szimultán vizsgálata.
2. Patkányban 30 perc időtartamú intestinalis ischaemia és 120 perc hosszúságú reperfusio távoli szervekre kifejtett hatásának elemzése mikrokeringési és szövettani vizsgálatok segítségével.
3. A 30 perces vékonybél ischaemia és 120 perces reperfusio haematologiai és micro-rheologiai eltéréseinek összehasonlítása hím és nőstény, illetve fiatal és idősebb patkányokban.
4. Vékonybél ischaemia-reperfusio okozta szövettani eltérések vizsgálata során a korfüggő és nemi különbségek kimutatása patkányban.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kísérletek a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (DEMÁB) engedélyével történtek (engedélyszám: 20/2011 DEMÁB) az 1998. évi XXVIII. „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló törvény, a 40/2013-as Kormányrendelet az állatkísérletekről és az európai uniós (Európai Parlament és a Tanács 2010/63/EU irányelve) szabályozásoknak megfelelően.

3.1. Korai micro-rheologiai és mikrokeringési eltérések mesenterialis ischaemia-reperfusio során

3.1.1. Kísérleti állatok és anaesthesia

Nőstény Crl:WI outbred patkányokat (4 hónapos, testtömeg: $265,5 \pm 26,7$ g) random módon Kontroll (n=7) és Ischemia-reperfusio (I/R, n=7) csoportokba soroltunk. Az állatokat konvencionális állatházban, standard méretű ketrecekben tartottuk, és *ad libitum* hagyományos rágcsáló tápot, illetve vizet biztosítottunk számukra. Minden kísérlet általános anaesthesiában zajlott (Thiopental, 60 mg/ttkg, i.p.), premedicatióként az állatok atropin-szulfát injekcióban részesültek (0,06 mg/ttkg, s.c.). Az állatokat melegítő párnára helyeztük, elősegítve a testhőmérsékletük fenntartását.

3.1.2. Műtéti technika és vérvételi protokoll

A has középső részének és a bal inguinalis terület fertőtlenítését (Betadine) követően kanülálásra (BD Neoflon™, 26G) került a bal oldali arteria femoralis operáló mikroszkóp segítségével (LeicaWild 64 M650). Median laparotomiát végeztünk és óvatos preparálással közelítettük meg az a. mesenterica superiort. A Kontroll csoportban más beavatkozás nem történt. Az I/R csoportban az a. mesenterica superiort atraumatikus microvascularis klip segítségével 30 percre leszorítottuk, majd 120 perc reperfúziós időszak megfigyelése következett. A hasfali és inguinalis sebeket nedves gézlappal fedtük a kísérlet során.

Az ischaemia előtt (Alap), közvetlenül a klip eltávolítása után (I-30), a reperfusio 30. (R-30), 60. (R-60) és 120. (R-120) percében végeztük a hőmérséklet és a mikrokeringés vizsgálatát, illetve vért vettünk a kanülált artériából (~0,3 ml minden alkalommal, anticoagulans: 1,5 mg/ml K3-EDTA). A mintavételek után azonos mennyiségű fiziológiás sóoldatot adtunk az állatoknak. A Kontroll csoportban azonos időpontokban történtek a vérvételek és a mérések. A kísérletek végén szövettani mintavétel történt a vékonybélből, a májból, a veséből, a hasnyálmirigyből és a tüdőből, majd exsanguinációval extermináltuk az állatokat.

3.1.3. Laboratóriumi vizsgálatok

3.1.3.1. Haematologiai paraméterek

A haematologiai paraméterek mérését Sysmex F-800 készülékkel (TOA Medical Electronics Corp., Japán) végeztük. A teszt elvégzéséhez körülbelül 70 μ l vér használata szükséges. Az automata a kvantitatív értékeket (vörösvérsejt szám (Vvs) [$\times 10^6/\mu$ l]), fehérvérsejt szám (Fvs) [$\times 10^3/\mu$ l], thrombocytaszám (Thr) [$\times 10^3/\mu$ l]) pedig apertura-impedancia elven méri, amelyekből további származtatott értékeket (Htc [%]) számol.

3.1.3.2. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregációt Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer segítségével mértük (Myrenne GmbH, Németország). A technika a fényáteresztő képesség növekedésén alapszik, ami akkor alakul ki, amikor az egyedi vörösvérsejtek aggregátumokat képeznek, és csak az ezek közötti réseken tud átjutni a fény. A gép egy átlátszó kúp-sík kamrát tartalmaz, ahová 20 μ l vért kell helyezni, majd a készülék nagy sebességgradienssel (600 s^{-1}) rövid ideig (10 sec) forgó mozgással diszaggregálja a mintát. Ezután a sebességgradiens 0-ra (M mód) vagy 3 s^{-1} -re (M1 mód) csökken. Az aggregációs index értékeket az automata a mérés 5. (M 5 s, M1 5 s) vagy 10. másodpercében (M 10 s, M1 10 s) számítja a

minta fénytranszmissziójának megváltozása alapján. A magasabb index értékek fokozott aggregációt tükröznek.

3.1.3.3. Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitás méréséhez a LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometert (Mechatronics BV, Hollandia) használtuk.

A minta előkészítése során 10 µl vért összekeverünk 2 ml magas viszkozitású polyvinylpyrrolidon (PVP) oldattal (viszkozitás: 27 mPas, ozmolaritás: 300mOsm/kg, pH: ~7,3). A szuszpenzió a készülék transzparens falú hengerébe kerül, amibe egy átlátszó henger merül (a cilinderek közötti távolság 0,3 mm). A külső henger egy meghatározott sebességgel forogva nyíróerőt ad át a vérmintának, amire eközben lézernyaláb vetül. Az elnyúló vörösvérsejtekről visszaverődő fényt egy kamera rögzíti, és egy számítógép elemzi. Az így keletkezett lézerdiffrakciós kép egy ellipszis, amelynek a hosszanti (A) és haránt átmérőjéből (B) számolható az elongációs index (EI): $EI=(A-B)/(A+B)$. A mérések 37°C fokon történnek.

A vörösvérsejtek folyamatosan növekvő (0,3 és 30 Pa között) nyírófeszültségnek (shear stress [SS]) vannak kitéve, ami egy S-alakú deformabilitási (EI – SS) görbét eredményez. Mivel a hagyományos EI-SS görbék morfológiailag különbözőek lehetnek, szükség van egy globális paraméterre, ami az egész görbét jellemzi, így azok jobban összehasonlíthatók. Ennek a problémának a megoldására használható a Lineweaver-Burk analízis ($1/EI=SS_{1/2}/EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$), amelynek segítségével a görbékből kalkulálható a maximális elongációs index (EI_{max}) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték ($SS_{1/2}$), illetve a két paraméter aránya ($EI_{max}/SS_{1/2}$).

3.1.4. Mikrokeringési vizsgálatok

A mikrokeringés vizsgálatára lézer Doppler-es szöveti áramlásmérőt (LD-01 Laser Doppler Tissue Flowmeter Experimetria Kft.; standard pencil probe

MNP100XP, Oxford Optronix Ltd., Egyesült Királyság) alkalmaztunk egy jejunum kacs antimesenterialis szélén, a máj és a jobb oldali vese elülső felszínén.

Ez egy non-invazív módszer, ami a perfusio mérésére szolgál a szövetek károsítása nélkül. Az eljárás a Doppler-jelenségen alapszik. A készülék által kibocsátott lézernyaláb a szövetben található mozgó és nyugalomban lévő sejtekről is visszaverődik, azonban a mozgásban lévő partikulumokról visszaverődő lézerfény frekvencia-eltolódáson megy keresztül. A visszaverődő lézer Doppler jel intenzitása a mozgó sejtek számától és sebességétől függ. A jel összetettsége nem teszi lehetővé a vér áramlási sebességének mérését ml/s mértékegységben, így a készülék relatív áramlási egységet (blood flux unit, BFU) ad meg.

A lézer Doppler jelet 20 másodpercig rögzítettük, majd az adatokat „offline” elemeztük, 10 másodperc hosszú, stabil, melléktermék mentes periódusok átlagértékeit használva. A mikrokeringés mérése mellett, a vékonybél felszínének hőmérsékletét is vizsgáltuk egy digitális, infravörös hőmérő segítségével, illetve a rectalis hőmérsékletet is monitoroztuk (Experimetria Kft.).

3.1.5. Szövettani vizsgálatok

Az utolsó vérvételt követően szövettani vizsgálat céljából mintavétel történt a vékonybélből, a májból, a hasnyálmirigyből, a jobb veséből és a tüdőből. A vékonybél, a máj és a vese esetén a szövettani mintavétel arról a szakaszcímről történt, ahol a lézer Doppler-es mérési pont volt. A minták 5%-os formaldehid oldatban lettek fixálva, felszálló alkoholsorban dehidrálva és paraffinba ágyazva. Microtommal 3-5 µm vastagságú metszetek készültek, majd hematoxylin-eosin (H&E) festést alkalmazva hagyományos fénymikroszkópos eljárással kerültek értékelésre.

3.1.6. Statisztikai analízis

A statisztikai vizsgálatot a SigmaStat (Systat Software Inc, San Jose, California, USA) szoftverrel végeztük. Az adatokat átlag \pm szórás formájában tüntettük fel. A csoportokon belüli összehasonlításhoz Student *t*-próbát vagy Mann-Whitney tesztet, a csoportok között összehasonlításhoz egyirányú ANOVA tesztet (Dunn vagy Bonferroni módszer) használtunk, az adatok eloszlásának normalitásától függően. A statisztikailag szignifikáns különbséget $p < 0,05$ szintnél fogadtuk el.

3.2. Micro-rheologiai változások nemi különbségei és korfüggő eltérései vékonybél ischaemia-reperfusio során

3.2.1. Kísérleti állatok és anaesthesia

A tanulmányba fiatal (4 hónapos) hím és nőstény, illetve idősebb (18 hónapos) hím és nőstény Crl:WI outbred patkányokat vontunk be. Az állatokat konvencionális állatházban helyeztük el, és szabad hozzáférést biztosítottunk a fajtájuknak megfelelő takarmányhoz és vízhez. A kísérleteket általános anaesthesiában végeztük (Thiopental, 60 mg/ttkg, i.p.), az operáció előtt az állatoknak atropin-szulfátot (0,06 mg/ttkg, s.c.) adtunk és melegítő párnára helyeztük őket.

3.2.2. Kísérleti csoportok és műtéti protokoll

Hat kísérleti csoportot alakítottunk ki:

- I. Kontroll fiatal hím (n=7; 435,9 \pm 75,2 g)
- II. Kontroll fiatal nőstény (n=7; 281,7 \pm 27,8 g)
- III. Ischaemia-reperfusio (I/R) fiatal hím (n=7; 333,3 \pm 149 g)
- IV. Ischaemia-reperfusio (I/R) fiatal nőstény (n=7; 249,3 \pm 25,6 g)
- V. Ischaemia-reperfusio (I/R) idős hím (n=6; 622,2 \pm 189,6 g)
- VI. Ischaemia-reperfusio (I/R) idős nőstény (n=6; 548,7 \pm 217 g)

Az idősebb Kontroll csoport adatai a Tanszék adatbázisából származnak (hím csoport n=7; $743,57 \pm 148,6$ g; nőstény csoport n=8; $407,87 \pm 37,2$ g).

A Kontroll csoportokban a has és a bal inguinalis régió fertőtlenítése (Betadine), illetve a bal a. femoralis kanülálása (BD Neoflon™, 26G) után median laparotomia történt, majd az a. mesenterica superior óvatosan kireparáltuk. Az I/R csoportokban leszorításra került az a. mesenterica superior 30 percre atraumatikus microvascularis klip segítségével, majd a klip felengedése után 120 perc reperfusio megfigyelése történt.

A kanülált artériából vért vettünk az ischaemia előtt (Alap), után (I-30), a reperfusio 30. (R-30), 60. (R-60) és 120. (R-120) percében (~0,3 ml/alkalom, anticoagulans: 1,5mg/ml K3-EDTA). A Kontroll csoportokban azonos időpontokban zajlottak a vérvételek. Az utolsó vérvételt követően a vékonybélből mintát vettünk szövettani vizsgálat céljából, majd az állatokat exsanguinációval extermináltuk.

3.2.3. Laboratóriumi vizsgálatok

A laboratóriumi paraméterek a 3.1.3. fejezetben leírt módszerek szerint kerültek meghatározásra.

3.2.4. Szövettani vizsgálatok

A szövettani mintákat 5%-os formaldehid oldatban fixáltuk, felszálló alkoholsorban dehidráltuk, paraffinba ágyasztuk, microtommal 3-5 μ m vastagságú metszeteket készítettünk, majd perjódsvav-Schiff (PAS) festést alkalmaztunk és hagyományos fénymikroszkópos eljárással vizsgáltuk.

A vékonybélből vett szövettani minták kiértékelése az irodalomban gyakran használt Chiu-féle klasszifikáció alapján történt:

Grade 0: nincs látható elváltozás

Grade 1: a villusok tetején kis subepithelialis fellazulás (Grunhagen subepithelialis tér)

Grade 2: nagyobb fokú fellazulás, ami elemeli az epithel réteget a lamina propriáról

Grade 3: epithel réteg elemelkedése a villusok hosszában követhető, néhány denudált boholy, tágult kapillárisok és gyulladáisos sejtek jelenléte

Grade 4: denudált villusok, tágult kapillárisok, necrotikus területek

Grade 5: lamina propria teljes destrukciója, bevérzés, fekélyek

3.2.5. Statisztikai analízis

A statisztikai analízist a 3.1.6. pontban ismertetett módszerrel végeztük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Korai micro-rheologiai és mikrokeringési eltérések mesenterialis ischaemia-reperfusio során

4.1.1. Haematologiai paraméterek

A haematocrit a Kontroll csoportban nem mutatott jelentős eltérést, míg az I/R csoportban emelkedés volt megfigyelhető, szignifikánsabban magasabb értékeket mutatva a reperfusio során. A vörösvérsejt szám hasonló változásokat mutatott: az I/R csoportban emelkedett értékek látszottak a reperfusio idején. A fehérvérsejtszám a Kontroll csoportban kismértékben növekedett, az I/R csoportban szignifikánsan magasabb értékek voltak láthatóak a reperfusio 60. és 120. percében. A thrombocytaszám fokozódott az ischaemia során, illetve a reperfusio első órájában a Kontroll és az I/R csoportban egyaránt, majd csökkenés volt megfigyelhető, szignifikáns különbség nélkül.

4.1.2. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio értékei szignifikánsan magasabbak voltak az I/R csoportban az ischaemia alatt és emelkedettek maradtak a reperfusio során is. Az aggregációs index értékek, az M 10 s paraméter kivételével, a reperfusio végén voltak a legmagasabbak. A Kontroll csoportban is látható volt az aggregatio fokozódása, ez azonban kisebb mértékű volt, mint az I/R csoportban.

4.1.3. Vörösvérsejt deformabilitás

A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index értékek alacsonyabbak voltak az ischaemia idején és a reperfusio első órájában, jelentősen csökkenve a reperfusio 60. percében (I/R vs. Kontroll $p=0,018$). Az elongációs index-nyírófeszültség görbék összehasonlítására szolgáló paraméterek közül az EI_{max} értékek nem változtak jelentős mértékben az I/R csoportban. Az $SS_{1/2}$ értékek a

reperfusio végére csökkentek, az $EI_{max}/SS_{1/2}$ arány emelkedett az I/R csoportban a reperfusio 120. percére.

4.1.4. Hőmérséklet és mikrokeringés

A testhőmérsékletben nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között.

A vékonybél felszíni hőmérséklete nem változott a Kontroll csoportban a kísérlet során, míg az I/R csoportban jelentős csökkenés volt kimutatható a 30 perces ischaemia végére (vs. Kontroll $p=0,002$; vs. Alap $p=0,002$).

A vékonybél esetén az I/R csoportban a mikrokeringési BFU értékek csökkentek az ischaemia során (vs. Alap: $p=0,048$), de nem estek közel nullára, valószínűleg a mesenterialis kollaterális keringés miatt. Az értékek magasabbak voltak a klip felengedése után, de nem normalizálódtak a reperfusio végére. A máj mikrokeringési értékei alacsonyabbak voltak az I/R csoportban a Kontrollhoz viszonyítva, a reperfusio 30. percében a legalacsonyabb értékeket mutatva. A vese BFU értékei a reperfusio végére csökkentek.

4.1.5. Makroszkópos változások és szövettan

Az a. mesenterica superior leszorítása után 10 perccel észlelhető volt a jejunum kacsok spazmusa. Az ischaemia végére ezen kívül megváltozott a sérült területek színe, sötét livid részek voltak megfigyelhetők a bélszakaszon.

Az I/R csoport vékonybél szövettani mintáiban a következő eltérések voltak megfigyelhetők: subepithelialis fellazulások a villusok tetején, oedemás, kifeléyesedett bélbolyhok, tágult kapillárisok és gyulladáisos sejtes beszűrődés. A Kontroll csoportban szöveti károsodás nem volt kimutatható. A távoli szervek közül a májban és a vesében találtunk szövettani eltéréseket: a májban a centralis vénák körül kis zsírcseppek voltak láthatók, a vesében a glomerulosokban és a vasa rectában pangás volt megfigyelhető. A pancreasban és a tüdőben nem voltak eltérések kimutathatóak.

4.2. Micro-rheologiai változások nemi különbségei és korfüggő eltérései vékonybél ischaemia-reperfusio során

4.2.1. Haematologiai paraméterek

A haematocrit nőtt a fiatal hím csoportokban, de szignifikáns különbség nem volt a Kontroll és az I/R csoportok között, míg a fiatal nőstény I/R csoportban jelentős emelkedés volt megfigyelhető a reperfusio alatt. Az idősebb I/R nőstények és hímek esetén a haematocrit értékek magasabbak voltak a fiatalabb I/R csoportokhoz viszonyítva.

A vörösvérsejt szám magasabb volt a hím állatokban. A fiatalabb I/R csoportokban szignifikáns emelkedés volt kimutatható a reperfusio során a hímekben és nőstényekben egyaránt. Magasabb vörösvérsejt szám volt mérhető az idősebb I/R csoportokban a fiatalabb azonos neműekhez képest.

A fehérvérsejt szám tekintetében a hím állatoknak voltak magasabb értékei a nőstényekhez viszonyítva. A fiatal I/R csoportokban a fehérvérsejt szám szignifikánsan emelkedett a reperfusio végére mindkét nemben. Az idősebb nőstény és hím I/R csoportokban a változások nagyobb mértékűek voltak. Az ischaemia és a reperfusio alatt a fehérvérsejtszám-emelkedés az idősebb nőstény I/R csoportban szignifikáns volt az alap értékekhez és a fiatal I/R nőstényekhez viszonyítva. Az idősebb hím I/R csoportban a fehérvérsejtszám-növekedés csak a reperfusio első órájában volt kifejezett. A fiatalabb I/R csoportokban a fehérvérsejt szám emelkedett maradt, az idősebb I/R csoportban egy enyhe csökkenés volt látható a reperfusio végére.

A thrombocytaszám emelkedett a reperfusio első órájában, a Kontroll csoportokban és a fiatal nőstény I/R csoportban, amit csökkenés követett a reperfusio 120. percében, míg a fiatal hím I/R csoportban a vérlemezke szám szignifikánsan magasabb maradt. Az idősebb I/R csoportokban a nőstényeknél voltak emelkedett értékek, szignifikáns különbségeket mutatva az alaphoz

($p=0,046$) és a fiatal I/R nőstényekhez ($p<0,001$) viszonyítva R-120-nál. Az idősebb hím I/R csoportban ezek az eltérések nem voltak megfigyelhetők, az értékek az alap adatokhoz voltak hasonlóak.

4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás

A kalkulált EI_{max} értékek a fiatal hím I/R csoportban voltak a legalacsonyabbak. A nőstény csoportokban a kísérlet kezdetétől a fiatal I/R állatok mutatták a legmagasabb EI_{max} értékeket, és magasak maradtak a megfigyelési időszak alatt.

A hím csoportokban magasabb $SS_{1/2}$ értékek voltak kimutathatók a nőstényekhez képest. A legmagasabb értékek az idősebb I/R hím csoportban látszottak. A fiatal I/R hímek emelkedett értékeket mutattak a Kontroll és a nőstény I/R csoporthoz viszonyítva.

Az $EI_{max}/SS_{1/2}$ arány tekintetében hasonló tendencia volt megfigyelhető. Az idősebb I/R hímeknél mutatkoztak a legalacsonyabb értékek és a fiatal I/R hím csoportban is kimutatható volt csökkenés.

4.2.3. Vörösvérsejt aggregatio

Az aggregációs index értékek emelkedtek az ischaemia során a Kontroll és az I/R csoportokban egyaránt, és emelkedettek maradtak a reperfusio alatt is, jelentősen magasabb értékeket mutatva az I/R csoportokban. Az idősebb I/R hím csoportban az értékek alacsonyabbak voltak, mint a fiatal I/R hím csoportban az ischaemia és a reperfusio idején. A Kontroll csoportokban a hímek, az I/R csoportok esetén általában a nőstények mutattak magasabb aggregációs index értékeket, és szignifikáns különbségek voltak kimutathatók a két nem között.

4.2.4. Szöveti vizsgálatok

A vékonybél szövettani vizsgálata során a Chiu-féle klasszifikációt alkalmaztuk. A Kontroll csoportokban ép szöveti szerkezet volt látható (Chiu-

score: 0). Ehhez képest az I/R csoportokban jelentős szövettani eltérések mutatkoztak. A szövettani metszeteken subepithelialis fellazulások, denudált bélbolyhok, necroticus területek, tágult kapillárisok és gyulladásoos sejtek ábrázolódtak (Chiu-score: 4), illetve az idős nőstény I/R csoportban egy esetben lamina propria bevézérés látszott (Chiu-score: 5).

Az I/R csoportokban szignifikánsan magasabb pontértékek voltak jellemzők a fiatal Kontroll csoportokhoz képest mindkét nemben. A hímek és nőstények, illetve a fiatal és idősebb csoportok között szignifikáns különbség nem volt kimutatható, azonban az idősebb csoportok magasabb értékekkel rendelkeztek. Minden esetben 4 vagy afölötti pontszámot kaptak, míg a fiatal csoportokban előfordult alacsonyabb pontérték (2 és 3) is.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Korai micro-rheologiai és mikrokeringési eltérések mesenterialis ischaemia-reperfusio során

A mesenterialis ischaemia-reperfusio életet veszélyeztető szövődményekhez vezethet lokális és távoli szervi károsodások révén. Kísérletünkben a haematologiai, micro-rheologiai és mikrocirculációs paraméterek változásait vizsgáltuk az a. mesenterica superior 30 perces leszorítása által kiváltott intestinalis ischaemia, illetve az ezt követő reperfusio 120 perce során. A Kontroll csoportban bőrmetszés és az artéria preparálása történt. Ez a modell lehetővé teszi a vékonybél I/R okozta akut és korai eltérések tanulmányozását.

Vizsgálatunkban a haematocrit és vörösvérsejt szám az I/R csoportban szignifikánsan emelkedett a reperfusio alatt. A fehérvérsejt szám nőtt a Kontroll és az I/R csoportban is, az I/R állatokban szignifikáns szintet elérve a reperfusio során. A thrombocytaszám növekedést mutatott mindkét csoportban az ischaemia alatt és a reperfusio első órájában, majd csökkenés volt megfigyelhető. Ezek a változások az I/R által kiváltott gyulladásos és akut fázis reakciókkal állhatnak összefüggésben. A Kontroll csoportban mutatózó fehérvérsejt és thrombocytaszám emelkedés a beavatkozás által okozott szöveti károsodásnak lehet a következménye. Az akut fázis reakció során a thrombocytaszám esetén emelkedés és csökkenés is előfordulhat. A korai időszakban általában változatlan vagy csökken a vérlemezke szám, ami micro-thrombusok kialakulása miatt jelentkezhethet.

Az eredményeink azt mutatták, hogy a micro-rheologiai jellemzők romlottak az ischaemia és az utána következő reperfusio alatt. Ismert, hogy az I/R befolyásolja a vér micro-rheologiai paramétereit. A kirekesztett régióban lévő vér tulajdonságai megváltozhatnak: a fokozott haematocrit, megnövekedett fehérjekoncentráció hozzájárulhat a vérvizkozitás emelkedéséhez, illetve az ott bekövetkező anaerob folyamatok miatt megváltozik a vér összetétele, pH-ja. Az

ischaemia során kialakult sérüléseket tovább súlyosbíthatja a vérátáramlás visszatérése. Reperfusio során az oxigén újra megjelenik a szövetekben, ahol reakcióba lép a xantin-oxidázzal, amelynek eredménye a reaktív oxigén szabadgyökök képződése. A szabadgyökök további forrásai lehetnek a nitrogén-monoxid szintáz és a polymorphonuclearis granulocyták. A szabadgyök felszabadulás és az akut sérülés következtében megemelkedett fibrinogén szint következménye lehet a fokozott vörösvérsejt aggregatio. A csökkent erythrocyta deformabilitás oka a szabadgyökök indukálta lipidperoxidáció, illetve megváltozott fehérje szerkezet és funkció, a lokális metabolikus változások és az energiahiány miatt kialakuló sejtfelszín/térfogat arány megváltozása lehet.

Jól dokumentált, hogy a haemorheologiai paraméterek fontos szerepet játszanak a mikrokeringés meghatározásában. A micro-rheologiai tényezők romlása kísérletünkben együtt járt a hasi szervek microcirculatiójának károsodásával. Ez részben az ischaemiás területről kiáramló megváltozott tulajdonságú vérnek, a vörösvérsejtek fokozott aggregációjának és a csökkent deformabilitásának köszönhető, másrészt pedig a „no reflow” jelenségnek, ami a jellemzője az I/R-nek. Számos mechanizmus hozzájárulhat ahhoz, hogy a vérátáramlás nem indul meg újra az adott szövetben: intravascularis thrombosis, fehérvérsejt és vérlemezke dugók, haemoconcentratio, endothel sejt duzzadás, vasoconstrictio és interstitialis oedema.

Az intestinalis relatív áramlási egység (BFU) csökkent az ischaemia alatt, de a vérátáramlás megszűnése nem volt teljes. Megison és munkatársai kimutatták, hogy az a. mesenterica superior occlusiót követő áramlás csökkenés 44-97% között mozgott, és az egyéni különbség is nagy volt a kollaterális keringés variabilitása miatt. Esetünkben a mért étékekben nem tapasztaltunk nagy szórást. A legtöbb állatmodell esetén az a. mesenterica superior 30 percre történő leszorítását alkalmazzák, de mesenterialis ishaemiát más módokon is létre lehet hozni, melyeknek megvan a megfelelő célja, előnye és hátránya.

A mikrokeringés vizsgálata hasznos lehet különböző betegségek diagnosztikájában, a keringési zavar súlyosságának megítélésében, bélanastomosisok esetén a megfelelően perfundált szakaszok kiválasztásában, a terápia, illetve annak hatásosságának megítélésében. A microcirculatio vizsgálatára számos invazív és non-invazív módszer alkalmas, melyek közül az egyik legelterjedtebb a lézer Doppler-es áramlásmérés. Ez egy egyszerűen használható, a perfúzióban bekövetkező változások folyamatos, gyors és valós idejű követésére alkalmas módszer. A vizsgálat során azonban számos tényezővel kalkulálni kell, amelyek befolyásolhatják a méréseket. Kiemelt figyelmet kell fordítani a stabil mérési körülmények, a megfelelő mérési geometria és nyomás kialakítására, valamint a légző- és izommozgások által okozott műtermékek minimalizálására. A szövetek száradásának elkerülése is szükséges a mérések során. Figyelembe kell venni, hogy a Thiopentallal történt anaesthesia is hatással lehet a mikrokeringésre, arteriovenosus shuntök megnyitása és az oxigenizáció csökkentése által. Továbbá, a lézer Doppleres áramlásmérésre hatása van a vizsgált szövet anatómiájának, érszerkezetének is, és nem jelentéktelen a lézersugár energiatartalma sem, amely hosszabb idejű használat során befolyásolhatja a méréseket. Ezeket a faktorokat igyekeztünk minimalizálni a vizsgálatok során, és véleményünk szerint az azonos körülmények között végzett mérések adatai összehasonlíthatóak.

A kísérlet során vizsgáltuk a vékonybél felszíni hőmérsékletét, ami az I/R csoportban jelentősen csökkent az ischaemia végére, majd a reperfusio alatt emelkedett, megközelítve a kiindulási értékeket. Intestinalis I/R során a bél életképességének meghatározása rendkívül nehéz. Ennek előrejelzése egyrészt klinikai szempontok (szín, perisztaltika, pulzálás, vérzés) szerint történik, másrészt számos más objektív módszer is rendelkezésre áll, amelyek azonban nem terjedtek el a gyakorlatban. Malafaia és munkatársai infravörös kamerával vizsgálták patkányokban a vékonybél hőmérsékletét különböző hosszúságú ischaemia alatt és után az életképesség megállapítása céljából. Tanulmányukban

a bél hőmérséklete az ischaemia során csökkent, a reperfusio idején pedig reaktív hyperaemia volt megfigyelhető azokban az esetekben, ahol a bél életképesnek bizonyult klinikailag, szövettanilag pedig nem, vagy csak enyhe eltérések látszóttak. A reaktív hyperaemia általában a felengedést követő percekben alakul ki, saját vizsgálataink során ilyen nem tapasztaltunk, habár a kísérlet során nem folyamatosan monitoroztuk a felszíni hőmérsékletet, hanem adott időpontokban. A szövettani analízis és patológussal történt egyeztetés alapján a károsodásokat reverzibilisnek ítéltük meg.

Az előzőekben részletezett patofiziológiai folyamatok hatással vannak a lokális és távoli sejtekre egyaránt, amelynek következménye, hogy a vékonybél I/R károsodása gyakran társul máj, vese és tüdő elégtelenséggel. Vizsgálatunkban a szövettan, illetve a lézer Doppleres mérések alapján a távoli szervek közül a máj és a vese károsodása volt megfigyelhető.

5.2. Micro-rheologiai változások nemi különbségei és korfüggő eltérései vékonybél ischaemia-reperfusio során

Az I/R által okozott vékonybél károsodás jelentős szerepet játszik számos klinikai kórképben és a sebészeti betegek mortalitásának is egy fontos oka. A hasüregi szervek közül a bél különösen érzékeny az I/R sérülésekre, mivel a szabadgyök termelő enzimek, többek között a xantin-oxidáz, nagy mennyiségben található a bélbolyhokban.

A vér micro-rheologiai paraméterei, azaz a vörösvérsejt aggregatio és deformabilitás, számottevő szerepet játszanak a szöveti perfusio kialakításában, ezért kísérletes sebészeti és mikrosebészeti vizsgálatuk hasznos lehet. Számos patofiziológiai folyamat ronthatja ezeket a paramétereket, beleértve az I/R károsodásokat. A reperfusio során, az oxigén megjelenésével, szabadgyökök képződnek, amelyek a vörösvérsejt-membránban sérüléseket okoznak, ami az aggregatio és a deformabilitás károsodásához vezetnek.

Egyre több tanulmány veti fel, hogy a nemnek és a kornak nagymértékű szerepe van az I/R-ra adott válaszban, illetve haemorheologiai paraméterekben. Annak a feltételezésnek a vizsgálatára, hogy az idősebb kor és a hím nem összefüggésben van az I/R károsodásokra való nagyobb érzékenységgel, vékonybél I/R hatását tanulmányoztuk szisztémás haematológiai és micro-rheologiai paramétereken hím és nőstény, illetve fiatal és idősebb patkányokban. Az I/R csoportokban az a. mesenterica superior 30 percre történő leszorításával értünk el mesenterialis ischaemiát, a Kontroll csoportokban bőrmetszést és az ér kipreparálását végeztük.

Főbb eredményeink a következők voltak: (1) a haematocrit szignifikánsan nőtt a fiatal nőstény I/R csoportban. Az idősebb I/R csoportokban az értékek magasabbak voltak a fiatalabb állatokhoz viszonyítva. (2) A vörösvérsejt szám magasabb volt a hím állatokban a nőstényekhez képest, illetve az idősebb I/R állatokban a fiatal I/R csoportokhoz viszonyítva. (3) A fehérvérsejt szám esetén a hím állatoknál voltak magasabb értékek megfigyelhetők a nőstényekkel szemben. Az idősebb nőstény és hím I/R csoportokban a változások nagyobb mértékűek voltak. (4) A thrombocyta szám emelkedett a fiatal I/R állatokban a hímek esetén, míg a nőstény csoportokban az idősebb állatok mutattak magasabb értékeket. (5) A vörösvérsejt deformabilitás romlása leginkább a hím és az idősebb csoportokban látszott. (6) Fokozott vörösvérsejt aggregatio volt látható minden csoportban, de legkifejezettebben a nőstény I/R csoportokban. (7) A szövettani vizsgálat alapján az I/R csoportokban jelentős I/R károsodás volt kimutatható. A hímek és nőstények, illetve a fiatal és idősebb csoportok között szignifikáns különbség nem volt látható, azonban az idősebb csoportok magasabb Chiu-score értékekkel rendelkeztek.

Az emelkedett haematocrit, vörösvérsejt szám, fehérvérsejt szám és thrombocyta szám az I/R által okozott akut fázis reakció jelei. Az ischaemiás bélszövetben az aktivált fehérvérsejtek, endothel sejtek és vérlemezkék citokineket termelnek, melynek következtében az adhesiós molekulák szintézise

fokozódik, amelynek szerepe van micro-thrombusok kialakulásában, és ezáltal a mikrokeringés romlásában.

Számos folyamat, mint pl. az oxidatív stressz, megváltoztathatja a vörösvérsejtek rheologiai tulajdonságait lipidperoxidációt, haemoglobin és fehérje elváltozásokat okozva. Reaktív oxigén szabadgyökök az öregedés (az öregedés „szabadgyök teóriája”) és reperfusio során is képződnek.

Az öregedés számottevő rizikótényezőt jelent az ischaemiás megbetegedésekben, mint a stroke, ischaemiás szívbetegség, továbbá sebészeti beavatkozások során is. Az I/R károsodások főként az idősebb populációt érintik, tehát célszerű és elvárható I/R modellekben idősebb állatok használata, illetve hogy erre gondoljunk már a kísérlet tervezésekor. Ezzel szemben a kísérletek során általában fiatalabb állatok felhasználása történik, amelynek számos oka van, mint pl. a könnyebb elérhetőség és az alacsonyabb költség. Néhány tanulmányban azt is kimutatták, hogy az I/R sérülések mechanizmusa is eltérő fiatal és idősebb korban.

A laboratóriumi patkányok átlagos várható élettartama 2,5-3 év között van. Amennyiben a patkányok korát az emberi kornak szeretnénk megfeleltetni, fontos figyelembe venni, hogy a relatív kor változik az életszakasztól függően. Például, egy 4 hónapos patkány egy 10 éves embernek felel meg, míg a 18 hónapos kor körülbelül 45 humán évvel egyenlő.

Az öregedés „szabadgyök teóriája” szerint, az öregedés folyamata (részben) az oxidatív stressznek köszönhető, ami biológiailag fontos struktúrákban okoz károsodást. A korfüggő változásokat különböző szervekben létrehozott I/R során több tanulmányban is kimutatták.

Az öregedés a haemorheologiai paraméterek romlásával is összefüggésbe hozható. Idősebb korban emelkedett a vér és plazmaviszkozitás, melynek oka elsősorban a fokozott fibrinogén koncentráció. Az öregedéssel csökken a vörösvérsejtek élettartama, fokozódik a vörösvérsejt aggregatio és csökken a

deformabilitás. Ezek a tényezők hozzájárulnak a vér viszkozitásának fokozódásához, ami a cardiovascularis rizikó egyik fő meghatározója.

A nem vonatkozásában is megfigyeltek haemorheologiai különbségeket számos humán tanulmányban. A férfiakban magasabb a vérviszkozitás, a haematocrit és a vörösvérsejt aggregatio, míg a vörösvérsejt deformabilitás alacsonyabb. A két nemből a vörösvérsejtek korelációja is szignifikánsan különbözik: a nők vérében több a fiatal vörösvérsejt, mint a férfiakéban. Ezek a tulajdonságok hozzájárulhatnak ahhoz, hogy a férfiakban fokozott a cardiovascularis betegségek kialakulásának esélye. Kísérletünkben a vörösvérsejt aggregatio a Kontroll csoportok esetén a hímekben volt magasabb, viszont humán adatokkal ellentétben, I/R hatására a nőstények mutattak nagyobb aggregációs index értékeket, amelynek oka a nőstény patkányokban megfigyelhető magasabb fibrinogén szintben keresendő.

Kimutatták továbbá, hogy politraumatizált, menopausa előtt álló nőkben szignifikánsan kevesebb többszervi károsodás alakul ki, mint férfi betegekben, ami alacsonyabb citokinin szintekkel is együtt jár. Ezt a megfigyelést kísérletek is megerősítik, magasabb ösztadiol szinttel rendelkező nőstény patkányokban intestinalis I/R után kisebb mértékű a bélbolyhok sérülése. Az ösztrogén protektív hatását megfigyelték már ischaemiás szív, agy és végtag károsodások során. Vékonybél I/R során adott ösztadiol terápia csökkentette a lokális és a távoli szervi (tüdő) sérüléseket is hím patkányokban. A védőhatás hátterében komplex mechanizmusok állnak: az ösztrogének szerepet játszanak a géntranszkripcióban, intracelluláris szignalizációban, vasoregulációban, illetve gyulladásgátló és antioxidáns hatásuk is van, csökkentik a citokinek szintjét, a fehérvérsejtek migrációját és az adhesiós molekulák expresszióját. Néhány humán tanulmányban azonban az ösztrogén helyettesítő terápia növelte a cardiovascularis események incidenciáját nőkben. Ez az ellentmondás is kiemeli a terület további kutatásának fontosságát.

Bármely sebészeti beavatkozás vagy kórkép, amely egy szerv vagy szövet vérátáramlásnak megszűnésével, majd a vérellátás helyreállításával jár, ischaemia-reperfúziós károsodást, illetve lokális és távoli szervi sérülést okozhat. A micro-rheológiai paraméterek vizsgálata fontos információt szolgáltat az instestinalis I/R pathomechanizmusáról és potenciális terápiás lehetőségekről. Kutatásunk felhívja a klinikusok figyelmét arra is, hogy az idősebb betegekben súlyosabbak lehetnek ezek a károsodások.

6. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Kimutattuk, hogy patkányban 30 perces vékonybél ischaemia, illetve az ezt követő 120 perces reperfusio során a haematocrit, a vörösvérsejtszám és a fehérvérsejtszám szignifikánsan emelkedtek. A micro-rheologiai paraméterek romlottak a megfigyelési periódus alatt. A vékonybél mikrokeringési értékei az ischaemia alatt csökkentek és nem normalizálódtak teljes mértékben a reperfusio végére.
2. Kimutatásra került, hogy intestinalis ischaemia-reperfusio során a távoli szervek közül a máj és a vese mikrokeringési értékei csökkentek és szövettani vizsgálattal is ugyanezen szervek esetén találtunk eltérést.
3. Bebizonyítottuk, hogy vékonybél ischaemia-reperfusio során a haematologiai és micro-rheologiai paraméterek nemi és életkorbeli különbségeket mutatnak patkányokban. Az idősebb hím I/R csoportban mutatkozott legmagasabbnak a haematocrit és a vörösvérsejtszám a reperfusio végén, valamint ennek a csoportnak voltak a legrosszabb vörösvérsejt deformabilitási értékei a vizsgálat során.
4. Kimutattuk, hogy a mesenterialis ischaemia-reperfusio jelentős szöveti károsodást okozott. A szövettani analízis szerint az I/R okozta változások az idősebb csoportokban voltak a legsúlyosabbak.

A micro-rheologiai paraméterekben bekövetkezett eltérések hozzájárulhatnak a lokális és távoli szervek mikrokeringésének romlásához. A vékonybél ischaemia-reperfusio patofiziológiájának jobb megismerése további, haemorheologiai terápia kifejlesztését szolgálhatja. A megfigyelt nemi különbségek és korfüggő eltérések hasznos információval szolgálhatnak további kísérletek tervezéséhez és az eredmények értékeléséhez.

3. KÖZLEMÉNYEK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

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

Nyilvántartási szám: DEENK/100/2018.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

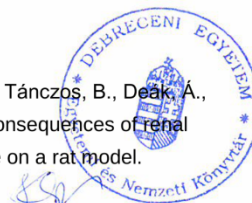
Jelölt: Mester Anita
Neptun kód: HFWA3B
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Mester, A., Magyar, Z., Molnár, Á., Somogyi, V., Táncoz, B., Pető, K., Németh, N.: Age- and gender-related hemorheological alterations in intestinal ischemia-reperfusion in the rat. J. Surg. Res. 225, 68-75, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2017.12.043>
IF: 2.187 (2016)
2. Mester, A., Magyar, Z., Somogyi, V., Táncoz, B., Stark, Y., Cherniavsky, K., Bidiga, L., Pető, K., Németh, N.: Intestinal ischemia-reperfusion leads to early systemic micro-rheological and multiorgan microcirculatory alterations in the rat. Clin. Hemorheol. Microcirc. 68 (1), 35-44, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170278>
IF: 1.679 (2016)

További közlemények

3. Magyar, Z., Mester, A., Nadubinszky, G., Varga, G., Souleiman, G., Somogyi, V., Táncoz, B., Deák, Á., Bidiga, L., Mihai, O., Pető, K., Németh, N.: Beneficial effects of remote organ ischemic preconditioning on micro-rheological parameters during liver ischemia-reperfusion in the rat. Clin. Hemorheol. Microcirc. "Accepted by Publisher", 2018.
IF: 1.679 (2016)
4. Pető, K., Németh, N., Mester, A., Magyar, Z., Souleiman, G., Somogyi, V., Táncoz, B., Deák, Á., Bidiga, L., Frecska, E., Nemes, B.: Hemorheological and metabolic consequences of renal ischemia-reperfusion and their modulation by N,N-dimethyltryptamine on a rat model. Clin. Hemorheol. Microcirc. [Epub ahead of print], 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170361>
IF: 1.679 (2016)





5. Magyar, Z., Molnár, Á., Nachmias, B. D., Mann, D., Somogyi, V., Mester, A., Pető, K., Németh, N.:
Impact of groin flap ischemia-reperfusion on red blood cell micro-rheological parameters in a follow-up study on rats.
Clin. Hemorheol. Microcirc. [Epub ahead of print], 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170277>
IF: 1.679 (2016)
6. Józsa, T., Klárik, Z., Kiss, F., Tóth, E., Mester, A., Hargitai, Z., Changchien, Y. C., Fossum, M., Németh, N.: Morphological and microcirculatory evaluation of the rat testis after detorsion with or without a capsular release with a tunica vaginalis flap.
Asian J. Androl. 18 (3), 462-466, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/1008-682X.157546>
IF: 2.996
7. Németh, N., Kiss, F., Klárik, Z., Tóth, E., Mester, A., Furka, I., Mikó, I.: Simultaneous investigation of hemodynamic, microcirculatory and arterio-venous micro-rheological parameters in infrarenal or suprarenal aortic cross-clamping model in the rat.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 57 (4), 339-353, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-131724>
IF: 2.242

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 14,141

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

3,866

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

Debrecen, 2018.04.23.



4. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Németh Norbert tanszékvezető egyetemi docens Úrnak, aki IV. éves orvostanhallgató korom óta témavezetőként segítette Tudományos Diákköri és DETEP munkámat, és vezetése mellett végezhettem PhD kutatómunkámat. Köszönöm tanácsait, biztatását és támogatását.

Köszönöm Prof. Dr. Furka Istvánnak és Prof. Dr. Mikó Irénnek, hogy tanulhattam tőlük.

Köszönettel tartozom a Sebészeti Műtéttani Tanszék jelenlegi PhD hallgatóinak, Dr. Magyar Zsuzsannának, Somogyi Viktóriának és Tánczos Bencének, hogy kutatómunkám során nagy segítséget nyújtottak a kísérletek kivitelezésében és a laboratóriumi mérésekben, illetve barátságukért és a jó hangulatban eltöltött munkanapokért.

Köszönet illeti Dr. Pető Katalin és Dr. Deák Ádám adjunktusokat, akikhez bármikor fordulhattam tanácsért.

Köszönetet mondok a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi dolgozójának, kiemelve Gödényné Rozáliát, akiktől rengeteg segítséget kaptam munkám során.

Köszönöm Dr. Bidiga László tanársegéd Úrnak az idejét és a szövettani vizsgálatokban nyújtott segítségét.

Nem utolsó sorban szeretném megköszönni Családomnak a támogatásukat és hogy tanulmányaimhoz nyugodt háttérrel biztosítottak. Végül hálás köszönettel tartozom Férjemnek türelméért és a mindennapok során nyújtott támogatásáért.