Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

KÍSÉRLETES MŰVI ARTERIO-VENOSUS SHUNT-ÖK MORPHOLOGIAI ÉS VÉRÁRAMLÁSTANI VIZSGÁLATAI

Dr. Hevér Tímea

Témavezető: Dr. Németh Norbert, Ph.D.

DEBRECENI EGYETEM

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2011

A doktori tézis betétlapja

KÍSÉRLETES MŰVI ARTERIO-VENOSUS SHUNT-ÖK MORPHOLOGIAI ÉS VÉRÁRAMLÁSTANI VIZSGÁLATAI

Értekezés a doktori (Ph.D.) fokozat megszerzése érdekében
a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Hevér Tímea általános orvos

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

Témavezető: Dr. Németh Norbert, Ph.D.

A doktori szigorlati bizottság:

elnök:	Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok:	Prof. Dr. Wéber György, kandidátus
	Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja:
Szemklinika könyvtár, 2011. március 31. 12 óra

Az értekezés bírálói:

Dr. Szokoly Miklós, Ph.D.
Dr. Mátyus János, Ph.D.

A bírálóbizottság:

elnök:	Prof. Dr. Berta András, az MTA doktora
tagok:	Prof. Dr. Wéber György, kandidátus
	Prof. Dr. Balla József, az MTA doktora
	Dr. Szokoly Miklós, Ph.D.
	Dr. Mátyus János, Ph.D.

Az értekezés védésének időpontja:
I. sz. Belgyógyászati Klinika tanterme, 2011. március 31. 14 óra

1. BEVEZETÉS

Arterio-venosus (AV) anastomosisok kialakulhatnak fejlődési rendellenesség, tumoros malformatio vagy traumatisatio következtében. A művileg kialakított AV shunt-ökre, fistulákra szükség lehet haemodialysis kezeléseknél, amely során több kritériumnak kell megfelelniük: könnyű kezelhetőség, többször ismételhető vérnyerési hely, megfelelő áramlás biztosítása, hosszú távú nyitva maradás, alacsony szövődményráta.

Napjainkban a tartós dialysishez a Cimino, Brescia és Appel nevéhez kötődő arterio-venosus shunt-öket használják. Ezek a shunt-ök azóta is hatékony dialysis helyekként szolgálnak. Az ér-anastomosisok elkészítésére leggyakrabban használt az end-to-side (vég-az-oldalhoz) technika.

Maga a művi AV fistula egy alacsony áramlási ellenállású kapcsolatot biztosít a magasnyomású arteriás és az alacsony nyomású venás rendszer között. A shunt venás szárán a hypertensio jelenléte fokozott nyíróerőt jelent az érfalra, ami az endothelre kifejtett hatása révén az érfal strukturális átalakulását indítja el a shunt érési folyamatának részeként is, de a fokozott nyíróerő, megváltozott véráramlási profil (semi-turbulens, turbulens áramlás) stenosishoz, occlusióhoz, érfali elváltozások kialakulásához is vezethet az anastomosis területén.

A művi AV shunt-ök morphologiai és functionalis állapotát és érését számos tényező befolyásolja. Az életkor, az érrendszert is érintő idült betegségek és kórállapotok *praeoperativ-*, az anastomosis készítésének módszere (anastomosis szöge, beszájadzás mérete és geometriája) és helye *intraoperativ-*, az alacsony venás véráramlási sebesség és a beszűkült érátmérő *postoperativ haemodynamicai* befolyásoló tényezők.

A shunt-ök kialakításának biztonságos technikája és optimális geometriája, sebészi biztonságának fokozása, a shunt-ök érési folyamatát befolyásoló tényezők kísérletes modellek segítségével ismerhetőek meg. E modellek tervezésénél, eredményeinek értékelésénél fontos a kis- és nagy laboratóriumi állatok megfelelő kiválasztása a műtéttechnikai megfontolások, a

postoperativ követéses vizsgálati lehetőségek és az adott állatfajra jellemző anatómiai, élettani különbségek figyelembe vételével.

A kísérletes modellekben laboratóriumi kisállatokon mikrosebészeti technikák alkalmazásával –különböző anatómiai lokalizációban– a klinikai alkalmazáshoz hasonlóan end-to-end, end-to-side és side-to-side ér-anastomosis típusokat lehet készíteni. A lokalizáció megválasztásánál fontos szempont, hogy a kialakított AV shunt a keringést mennyire terheli meg.

A mikrosebészeti módszerekkel elkészített AV shunt kísérletes modellek nagy része jelentős nagyságú fistula kialakítását jelenti, amely akár venás hypertensio, cardiomegalia kialakulásához is vezethet. A haemodynamicai és physiologiai értelemben is csak kismértékű terhelést jelentő, de az AV shunt maturatio –így a klinikai alkalmazás során felmerülő kérdések– tanulmányozására alkalmas, technikailag jól kivitelezhető shunt-modell kialakítása ezért lehet fontos.

A véráramlás fontos meghatározói a haemorheologiai paraméterek (vér- és plasma viszkozitás, haematocrit, fibrinogen koncentráció, vörösvérsejt aggregatio, vörösvérsejt deformabilitás), amelyek a keringés különböző szintjein és főként a microcirculatio területén igen összetett módon határozzák meg nemcsak az áramlási sebességet, hanem az endothelre kifejtett nyíróerőt is.

A művi AV shunt-ök vonatkozásában kevés haemorheologiai adat ismert, és több kérdés tisztázatlan. Mennyire befolyásolja a shunt jelenléte a micro-rheologiai paramétereket (vörösvérsejt aggregatio, vörösvérsejt deformabilitás) lokális és szisztémás vonatkozásban? Kimutatható-e a haemorheologiai paraméterekben, s főként a micro-rheologiai faktorokban arterio-venosus különbség, és ez milyen mértékben változik a shunt kialakításával és annak érési folyamata során? A szöveti microcirculatióra mindez milyen hatással lehet?

A kísérleteink során ezekre kerestük a választ mikrosebészeti módszerekkel kialakított AV shunt modell vonatkozásában.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Az irodalomban fellelhető állatkísérletes, mikrosebészeti módszerekkel kialakított művi arterio-venosus (AV) shunt-modellek áttekintése után end-to-side és side-to-side femoro-femoralis és sapheno-saphenosus anastomosisok készítése, *műtéttechnikai előtanulmányként* a biztonságos technika kialakítása céljából.
2. A keringést jelentősen nem megterhelő, mikrosebészeti jártassággal biztonságosan kivitelezhető *sapheno-saphenosus művi end-to-side AV shunt-modell létrehozása patkányokon* a shunt maturatiós folyamatainak tanulmányozására.
3. Az AV shunt-ök megvalósításával feltételezhetően megváltozó, alapjaiban kevéssé ismert *arterio-venosus (aorto-cavalis) haemorheologiai alapkülönbségek vizsgálata patkányokon*, különös tekintettel a vörösvérsejt deformabilitásra és a vörösvérsejt aggregatióra.
4. A létrehozott patkánymodellen az érett sapheno-saphenosus end-to-side AV shunt-ök komplex *mikrokeringési, haemodynamicai* és *haemorheologiai* vizsgálata a shunt functionalis állapotának, valamint a lokális és szisztémás keringési, micro-rheologiai változásainak tükrében.
5. A fenti modell érett shunt-jeinek *morphologiai vizsgálata,* az érfalban bekövetkező változások *szövettani elemzése,* összehasonlításban a nem-operált oldali saphena erekkel és kontroll állatokban az ép falszerkezetű saphena erekkel.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., *„Az állatok védelméről és kíméletéről”* alkotott törvény előírásait betartva végeztük, a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottság (DE MÁB) által 37/2007. és 6/2008. számon nyilvántartásba vett hatósági engedéllyel.

3.1. Műtéttechnikai előtanulmányok, a művi end-to-side sapheno-saphenosus arterio-venosus shunt modell kialakítása

CD outbred patkányokon (n=7; testtömeg: 407,86 ± 92,4 g) altatásban (Na-thiopenthal, 60 mg/kg, i.p. [Sandoz GmbH]; atropinum sulphuricum, 0,05 mg/kg, s.c. [Paines&Byrne, Ltd.]) a medialis comb bőrének megnyitását követően felkerestük a saphena ereket.

Az end-to-side anastomosis készítésekor az arterián a vena átmérőjének hozzávetőlegesen másfélszeresével azonos hosszúságú metszést ejtettünk szikepengével. A venát hegyes-hegyes végű mikrosebészeti ollóval behasítottuk, majd a sarokponthoz közel behelyeztük az első kifordító öltést (10/0-s polypropylene). Ezt követően az öltéseket mindkét oldalt szimmetrikusan vezettük a metszéshossz feléig, az anastomosis átfordítása nélkül. A lateralis szakaszon vezetett öltéseket követően a könnyebben hozzáférhető, medialis oldalon fejeztük be a tovafutó öltéssort. Végül megcsomóztuk a két varróanyag szálat, biztosítva a varrat egyenletes feszülését.

Ezzel a módszerrel biztonsággal kivitelezhető lehet az AV shunt modell kísérletekhez alkalmazandó anastomosisa.

3.2. Arterio-venosus haemorheologiai alapkülönbségek vizsgálata

A haemorheologiai paraméterek alap arterio-venosus különbségei kevéssé ismertek, annak ellenére, hogy számos kísérletes modellben különböző lokalizációban történik vérminták vétele. A kérdés részbeni tisztázására és az AV shunt modell kialakításával feltételezett változások megértésének hátteréül vizsgáltuk az aorto-cavalis haemorheologiai alapkülönbségeket patkányokon.

3.2.1. Kísérleti állatok, anaesthesia és mintavétel

Tizenkét nőstény CD patkány (testtömeg: 328,91 ± 53,68 g) került altatásra (Na-thiopenthal, 60 mg/kg, i.p. [Sandoz GmbH]) Median laparotomiát végeztünk, majd óvatosan kipreparáltuk az aorta abdominalis és a vena cava caudalis infrarenalis szakaszát. A vena cava caudalis-ból és az aorta abdominalisból vért vettünk Na-EDTA anticoagulanst (1,5 mg/ml) tartalmazó fecskendőbe.

3.2.2. Laboratóriumi vizsgálatok

3.2.2.1. Vérgáz-analízis

Az alvadásgátolt fecskendőből a vért zárt rendszerben, közvetlenül az ABL555 Radiometer Copenhagen vérgázanalizátor automatába fecskendeztük (WIP Kft., Budapest). A készülék által meghatározott, jelen tanulmányban elemzett paraméterek az alábbiak voltak: vér pH, pCO_2 és pO_2 [Hgmm].

3.2.2.2. Haematologiai paraméterek

A haematologiai paramétereket Sysmex F-800 típusú haematologia automatával határoztuk meg (TOA Medical Electronics Corp., Japán).

3.2.2.3. Haemorheologiai paraméterek vizsgálata

Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitás meghatározását RheoScan-D200 slit-flow ektacytometerrel (Sewon Meditech Inc., Dél-Korea) végeztük. A minta-előkészítés során 6 µl arteriás vagy venás vért juttattunk 0,6 ml 360 kDa polyvinylpyrrolidon (viszkozitás = 30,51 mPa.s, osmolaritás = 327 mOsm/kg; pH = 7,37) izotóniás oldatába (normál PBS).

A mérések során nyert paraméter a nyírófeszültség (shear stress, SS [Pa]) függvényében megadott elongatiós index (EI). Minél magasabb az EI-SS görbe íve, annál jobb a vörösvérsejtek elnyújthatósága, azaz deformabilitásuk jobbnak tekinthető. Az EI-SS görbék egyszerűbb összehasonlíthatóságára különböző

nyírófeszültségnél mért EI értékeket használtunk, valamint a görbe parametrizálását is elvégeztük Lineweaver-Burke analízissel, meghatározva a kalkulált maximális elongatiós indexet (EI_{max}), valamint ennek feléhez tartozó nyírófeszültség értéket ($SS_{1/2}$ [Pa]): $1/EI = SS_{½} / EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$

Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatiót Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometerrel határoztuk meg (Myrenne GmbH, Németország). A módszer fénytranszmissziós elven alapul: az aggregalódó vörösvérsejtek a minta adott hullámhosszú fény áteresztő képességét növelik, így követhető az aggregatio folyamata és mértéke.

3.2.3. Statisztikai analízis

Az aorta abdominalis és vena cava caudalis vérminták értékeinek statisztikai összehasonlítását Student-féle t-teszttel illetve Mann-Whitney rank sum teszttel végeztük az adateloszlás normalitása szerint. A talált különbségeket $p<0,05$ értéknél fogadtuk el szignifikánsként.

3.3. Sapheno-saphenosus AV shunt-ök komplex morphologiai, haemodynamicai és haemorheologiai vizsgálata

Az 3.1. pontban ismertetett sapheno-saphenosus end-to-side AV anastomosis modell alkalmazásával történtek a shunt-ök vizsgálatai.

3.3.1. Kísérleti állatok, anaesthesia

Huszonkét hím és nőstény CD outbred patkányt (testtömeg: 336,8 ± 71,75 g) vontunk be a kísérletbe. A műtétekhez és a postoperativ vizsgálatokhoz az anaesthesia Na-thiopenthal (60 mg/kg) intraperitonealis alkalmazásával történt, atropinum sulphuricum (0,05 mg/kg) subcutan adása mellett.

3.3.2. Műtéti technika és mintavétel

Kontroll csoport (n=6)

Az ép kontrollként szolgáló csoportban műtéti beavatkozás nem történt. A 8. postoperativ hétnek megfelelő időben altatásban történtek a microcirculatiós és haemodynamicai vizsgálatok, valamint a mintavételek.

AV shunt csoport (n=16)

Shunt oldal: A bal oldali medialis comb területén a szőrtelenítést követően Betadine®-os lemosást végeztünk. Az alsó medialis comb régióban (a musculus gracilis felett) 1,5 cm-es bőrmetszést ejtettünk és kipreparáltuk az arteria saphena és vena saphena medialis ereket.

Az oldalágak lekötését és átvágását követően mindkét eret a shunt-készítés helyétől proximalisan és distalisan atraumatikus clipek segítségével lezártuk. A distalis venaszakaszt lekötöttük és átvágtuk.

Arteriotomát végeztünk 11-es szikepengével, majd a lument a Na-heparinos fiziológiás sós oldattal (10 U/ml) mostuk át. A vena proximalis végét 45°-ban vágtuk el, majd tovafutó öltéssorral 10/0-s monofilament polyamid varróanyaggal end-to-side AV anastomosist készítettünk.

A műtétek során mikrosebészeti technikát használtunk, operáló mikroszkóp alatt dolgoztunk (Leica® Wild M650, LEICA Ltd., Németország). Videofelvételt készítettünk a clipek eltávolításáról és a telítődést ellenőrző tesztről. A teszt során a vena-szakaszból két mikrosebészeti csipesz segítségével proximal felé és a shunt irányába óvatosan kipréseltük a vért, majd a shunt-höz közelebbi csipesz felengedésével ellenőriztük a megfelelő telődést. Működő shunt esetén az addig üres vena-szakasz a csipesz felengedésével telítődött. A műtét végeztével 5 percig figyeltük a műtéti területet az esetleges vérzés ellátása céljából, majd a bőrt 5/0-s polyglycolsav varróanyaggal zártuk.

Nem-operált oldal: A jobb oldalon nem történt műtét, az itt érintetlen saphena erek ép oldali kontrollként szolgáltak.

A postoperativ időszak első napjaiban naponta ellenőriztük és megfigyeltük az állatokat (viselkedés, végtagmozgás, talpbőr szín). A végtagmozgás és a talpbőr színének megfigyelése a 2. postoperativ héttől hetente történt. Az érési idő leteltével a 8-12. postoperativ héten az állatokon altatásban összetett vizsgálatsort végeztünk: macroscopos, microcirculatiós, haemodynamicai, laboratóriumi és szövettani vizsgálatokat.

3.3.3. Microcirculatiós vizsgálat

A végtagi (comb, talp) bőrének szöveti mikrokeringésének non-invazív vizsgálatához laser Doppler scannert használtunk (Perimed® Periscan PIM II Laser Doppler Perfusion Imager, Perimed AB, Svédország; DE OEC Belgyógyászati Intézet, III. sz. Belgyógyászati Klinika).

A berendezés működési elve a kibocsátott laser-nyalábok (hullámhossz: 670 nm, átmérő: 1 mm) mozgó vörösvérsejtekről való visszaverődésük révén bekövetkező hullámhossz-változás (Doppler-shift) vizsgálatán alapul, és információt nyújt a vizsgált terület mikrokeringési állapotáról, a capillarisok, arteriolák, venulák és shunt erek perfusiójáról, a dimenziónélküli blood perfusion unit (BFU) paramétert megadva.

A laser-forrást az altatott patkány végtagja felett 20 cm-re helyeztük el. A vizsgált területek (region of interest, ROI) az AV csoportban mindkét, mind a nem-operált, mind a shunt oldali, a Kontroll csoport esetében csak a bal oldali medialis comb regio (a ligamentum inguinale vonalától a térdig) és a talpak területe voltak.

3.3.4. Macroscopos morphologiai elemzés

Altatásban az operált állatok mindkét oldali comb medialis régiójában 2 cm hosszúságban megnyitottuk a bőrt, majd óvatos preparálással feltártuk a kontroll oldalon az ép saphena ereket, valamint az operált oldalon az AV shunt területét. Az érpulzálás megfigyelésével győződtünk meg az anastomosis működéséről.

Az operáló mikroszkóphoz csatlakoztatott kamera segítségével videófelvételt, majd off-line fotókat készítettünk kétoldalt az érátmérő és a shunt beszájadzási szögének mérésére (képelemzés: Image-Pro Express 5.0, Media Cybernetics Inc., USA).

3.3.5. Haemodynamicai vizsgálatok

Az altatott állatokon a jobb arteria carotist feltártuk és polyethylen kanült vezettünk be (belső átmérő: 0,76 mm, külső átmérő: 1,22 mm), amelyet Na-heparinos fiziológiás sóval átmostunk (10 U/ml). Electro-manometerhez csatlakoztatott Statham P23-DB transducer segítségével mértük az arteriás középnyomást [Hgmm] és a szívfrekvenciát [min^{-1}], majd Haemosys Software-rel (Experimetria Kft., Magyarország) rögzítettük és értékeltük az adatokat.

A shunt arteriás és venás szárán és a nem-operált oldali arteria és vena saphena véráramlását [ml/min] mértük meg direkt módszerként Transonic T206® műszer használatával (Transonic Systems Inc., USA; áramlásmérő: 1RB2759; DE OEC Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet).

3.3.6. Arterio-venosus vérminták laboratóriumi vizsgálata

Az *AV shunt csoportban* a shunt arteriás és venás szárából valamint a nem-operált oldali arteria és vena saphena erekből vérmintát vettünk, egyenként 0,2-0,3 ml-nyi mennyiséget, natrium-EDTA-t (1,5 mg/ml) tartalmazó fecskendőbe, 26 G-s tűn keresztül.

A *Kontroll csoportban* a bal oldali saphena ereket használtuk a vérvételekhez.

A 3.2.2.2. és a 3.2.2.3. pontok szerinti módszerekkel határoztuk meg a haematologiai paramétereket, a vörösvérsejt deformabilitást és vörösvérsejt aggregatiót.

3.3.7. Szövettani vizsgálatok

Az *AV shunt csoportban* a méréseket követően minden állat teljes saphena shunt szakaszát, valamint az ellenoldali arteria és vena saphenát eltávolítottuk, míg a

Kontroll csoportban csak a bal oldali saphena ereket vettük ki szövettani feldolgozás céljából. Ezt követően az állatokat altatásban exsanguinatio révén exterminináltuk.

A szövettani mintákat 4%-os formaldehid oldatban fixáltuk, dehidrálás, majd paraffinba történő beágyazást követően mikrotommal 3-5 μm vastagságú metszetek készültek. A metszeteken haematoxylin-eosin (H&E) és van Gieson festés történt. A morphometriai elemzéseknél az intima és media vastagsága került meghatározásra.

3.3.8. Statisztikai analízis

A statisztikai összehasonlításhoz Student-féle t-tesztet és Mann-Whitney rank sum tesztet alkalmaztunk az adatok eloszlásától függően. A különbségeket statisztikailag szignifikánsnak $p<0,05$ szintnél fogadtuk el.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

4.1. Arterio-venosus haemorheologiai különbségek vizsgálata

4.1.1. Vérgáz-analízis

Az élettani viszonyoknak megfelelően a pO_2 értékek az aortából, a pCO_2 értékek a vena cava caudalis-ból nyert vérmintákban voltak magasabbak.

A pO_2 érték 110,24 ± 4,01 Hgmm volt az aorta vérmintákban, 54,37 ± 4,07 Hgmm a vena cava caudalis mintákban; a pCO_2 érték 42,69 ± 2,78 Hgmm volt az aorta-ból, 59,9 ± 1,8 Hgmm a vena cava caudalis-ból vett vérmintákban.

A vér pH értékek nem mutattak jelentős aorto-cavalis különbséget (aorta abdominalis: 7,22 ± 0,01; vena cava caudalis: 7,24 ± 0,02; p=0,561).

4.1.2. Haematologiai paraméterek

A fehérvérsejtszám, a vörösvérsejtszám és a haematocrit értékek magasabbak voltak a venás vérmintákban, amely különbségek szignifikánsnak adódtak az aorta abdominalis-ból vett vérminták értékeihez képest. A legnagyobb különbség a

fehérvérsejtszámban mutatkozott, viszonylag nagy szórás mellett. A thrombocyta szám kismértékben nagyobb volt a venás vérmintákban.

A haemoglobin koncentráció, átlagos vörösvérsejt térfogat, átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom és koncentráció, valamint az átlagos thrombocyta térfogat nem mutatott jelentős aorto-cavalis különbséget.

4.1.3. Haemorheologiai paraméterek

4.1.3.1. Vörösvérsejt deformabilitás

Az elongatiós index (EI) - nyírófeszültség (SS) adatokat összehasonlítva megállapítható volt, hogy 3, 5, 10 és 20 Pa nyírófeszültség mellett a venás vérmintákban az EI értékek kismértékben magasabbak az arteriás adatokhoz képest, amely 10 és 20 Pa esetében szignifikáns különbségként mutatkozott. A kalkulált EI_{max} magasabb, az $SS_{1/2}$ érték kismértékben alacsonyabb volt a venás vérmintákban.

4.1.3.2. Vörösvérsejt aggregatio

Az aggregatiós folyamat 5. és 10. másodpercében végzett méréseknél meghatározott aggregatiós index értékek az arteriás vérmintákban magasabbak voltak, amelyek az 5 secundumos értékeknél szignifikánsan különböztek a venás vérminták értékeitől (2,03 ± 0,14 vs 1,46 ± 0,11; p=0,003).

A 10 secundumos értékek esetében az aorto-cavalis különbség csak közelítette a szignifikáns mértékű különbséget (p=0,068).

4.1.4. Megbeszélés

Számos módszertani tanulmány beszámol arról, hogy a vérminták oxigén telítettségi állapota befolyásolhatja a laboratóriumi eredményeket, ezért fontos a mintavétel és a mintakezelés körülményeinek standardizálása. Bár a vérgáz parciális nyomás értékek arterio-venosus különbségei jól ismertek, a haemorheologiai paraméterek AV különbsége még nem tisztázott.

Állatkísérletek során gyakran van szükség különböző lokalizációjú erekből történő vérvételekre a lokális és szisztémás változások összehasonlító vizsgálataihoz. E kérdéskör különösen az ischaemia-reperfusio valamint a különböző szervek keringési zavarainak tanulmányozásakor fontos, ahol a haemorheologiai paraméterek változásai informatívak lehetnek.

Ismert, hogy a vörösvérsejt deformabilitást és vörösvérsejt aggregatiót mikrokörnyezeti tényezők, az osmolaritás, a pH, valamint a haemoglobin molekulák oxigén telítettségi állapota nagymértékben befolyásolják.

A slit-flow ektacytometerrel mért vörösvérsejt deformabilitás és a fénytranszmissziós elven működő aggregometerrel mért vörösvérsejt aggregatio patkány aorta abdominalis-ból és vena cava caudalis-ból nyert vérmintákban nem azonos. Ezek az adatok is alátámasztják azt az ajánlást, hogy a kísérletek módszertani standardizálása és a kontroll mérések megfelelő tervezése szükséges a kapott eredmények biztonságos értékeléséhez.

Az *in vivo* AV haemorheologiai különbségek pontosabb megismerésére további kísérletek szükségesek újabb vizsgálati módszerek és e paraméterek kismértékű változásait is megbízhatóan kimutató mérőműszerek alkalmazásával.

4.2. Sapheno-saphenosus AV shunt-ök komplex morphologiai, haemodynamicai és haemorheologiai vizsgálata

4.2.1. Microcirculatiós vizsgálat

Az *AV shunt csoport*ban a comb területén kismértékben emelkedett blood flow unit (BFU) értékeket találtunk a *Kontroll csoporttal* összehasonlítva, míg az AV shunt csoportban a két oldal közel azonos BFU értékeket mutatott.

A shunt oldali talpon mért BFU értékei kisebbek voltak a nem-operált oldallal összehasonlítva. Mind a Kontroll, mind az AV shunt csoportban a talpon mért BFU értékek a comb területével összehasonlítva szignifikánsan kisebbek voltak.

4.2.2. Macroscopos morphologiai elemzés

A shunt éréséhez biztosított időszak leteltével altatásban végzett feltáráskor azt találtuk, hogy az anastomosisok a műtétkor kivitelezett beszájadzási szögüket megtartották (44,5 ± 2,81°). A shunt arteriás és venás szárainak átmérői közel azonosak voltak az operált állatokban: 687,81 ± 162,61 μm az arteriában és 676,69 ± 185,05 μm a venában. A nem-operált oldalon 548,27 ± 82,52 μm volt az arteria saphena és 510,7 ± 73,43 μm a vena saphena átmérője.

Megfigyelhető volt a műtéti terület körül a kötőszövetes heg. Két esetben nagymértékű hegesedés volt tapasztalható kifejezetten megerősödött collateralis érhálózat jelenlétével, ugyanakkor működő shunt mellett. Egy shunt-nél a varróanyag kilazulását és „vándorlását" találtuk. Ebben az esetben is ugyanolyan alapanyagú varróanyagot (polyamid) használtunk, mint a többi anastomosisnál. Egyik működő shunt területén fibrines felrakódásnak megfelelő elváltozást találtunk, amelynek feltételezhető oka a leszorításhoz alkalmazott clip okozta mikrosérülés, vagy alvadék lehet.

4.2.3. Haemodynamicai vizsgálatok

A *Kontroll csoportban* 129,2 ± 15,5 Hgmm arteriás középnyomást, 403,1 ± 97,8 min^{-1} szívfrekvenciát mértünk, míg az *AV shunt csoportban* ezek a paraméterek 139,1 ± 17,8 Hgmm illetve 399,7 ± 102,2 min^{-1} értékeket mutattak. A különbség nem volt szignifikáns.

Az *AV shunt csoportban* mindkét oldali arteria és vena saphena erek véráramlás értékei alacsonyabbak voltak a Kontroll csoport értékeinél ($p<0,001$). Ugyanakkor a shunt arteriás és venás szárán mért értékek szignifikánsan magasabbak voltak összehasonlítva a nem-operált oldali ép saphena erek értékeivel ($p=0,006$ az arteriák és $p<0,001$ a venák esetén).

A shunt oldalán a véráramlás értékek arterio-venosus aránya alacsonyabb volt (1,2 ± 0,13), összehasonlítva a nem-operált oldal (1,59 ± 0,29), vagy a Kontroll csoport (1,49 ± 0,05; $p=0,002$) adataival.

4.2.4. Haematologiai paraméterek

A haematologiai paraméterek általánosságban nem mutattak jelentős különbséget. A fehérvérsejtszám a shunt oldalán nagyobb variabilitást mutatott és az AV különbség kisebbnek látszott a nem-operált oldallal összehasonlítva. A thombocyta szám a shunt oldalon mind az arteriás, mint a venás mintákban kismértékben alacsonyabbnak mutatkozott.

4.2.5. Haemorheologiai paraméterek

Az AV fistula *venás szárában* mért aggregatiós index értékek szignifikánsan magasabbak voltak (21,3 ± 0,67), összehasonlítva a shunt arteriás szárában (18,91 ± 0,59; p=0,017), továbbá a nem-operált oldali vena (13,89 ± 1,64, p=0,016) és a Kontroll csoport venás értékeivel (15,03 ± 0,74; p<0,001).

A fistula *arteriás szárából* származó mintákban az AI értékek (18,91 ± 0,59) szignifikánsan magasabbak voltak a nem-operált oldali arteria (8,73 ± 1,88, p=0,023) és a Kontroll csoport arteriás (14,21 ± 0,79; p<0.001) értékeihez képest.

A nem-operált oldalon csak az arteriás értékek különböztek jelentősen a Kontroll csoport értékeitől (p=0,015), szignifikáns arterio-venosus különbséget mutatva (p=0,047).

Az AV shunt oldalán a vörösvérsejt deformabilitását leíró EI értékek alacsonyabbak voltak és kisebbnek mutatkozott a nem-operált oldalon megfigyelhető arterio-venosus különbség. Általánosságban megállapítható volt, hogy az operált állatok vörösvérsejt deformabilitás értékei rosszabbak voltak a Kontroll csoport adataihoz képest: a 3 Pa nyírófeszültségnél mért EI szignifikánsan alacsonyabb volt a shunt oldali arteriában és venában, valamint a nem-operált oldali arteriában egyaránt (p<0,001).

Az AV shunt csoportban az EI_{max} értékek alacsonyabbak voltak a shunt oldalán, az $SS_{1/2}$ értékek a shunt és a nem-operált oldali arteriában és venában is magasabbak voltak a Kontroll csoport értékeihez képest. A különbség csak a nem-operált oldali arteriában volt szignifikáns (p=0,014). A shunt oldal $SS_{1/2}$ eredményei a Kontroll

csoportéhoz képest mind az arteriás, mind a venás vérmintákban emelkedtek, de nem értek el szignifikáns mértéket (arteria: p=0,085; vena: p=0,07).

4.2.6. Szövettani vizsgálatok

Összehasonlítva a nem-operált oldallal az AV fistula venás szárán a vártnak megfelelően arterialisatio volt megfigyelhető: a vena kitágult, fala megvastagodott. Van Gieson festéssel jól látható volt, hogy a simaizom elemek és a kötőszövet (főként a kollagén elemek) mennyisége szaporodott fel jelentős mértékben. A shunt oldali venás szárban négy esetben fixált thrombust találtunk.

Az AV shunt csoportban a fistula venás szárán a *media* és az *intima* rétegek is megvastagodtak mind a Kontroll csoport, mind a nem-operált oldali vena értékeivel összehasonlítva.

A fistula venás szárában mért intima réteg szignifikánsan vastagabb volt a nem-operált oldali venában mért értékekhez (3,6 ± 2,2 μm; p=0,006), valamint a Kontroll csoport értékekhez (2,69 ± 0,78 μm; p<0,001) képest. Ugyanakkor szignifikánsan kisebbnek adódott (5,04 ± 2,99 μm) a shunt arteriás szárában mért értékekkel (14,55 ± 20,26 μm; p=0,003) összehasonlítva. A fistula arteriás szárán a mért intima vastagság értékek (14,55 ± 20,26 μm) szignifikánsan magasabbak voltak a nem-operált oldali arteria (4,13 ± 1,92 μm; p<0,001) és a Kontroll csoport (2,63 ± 0,56 μm; p<0,001) értékeivel összehasonlítva.

A nem-operált oldalon csak az arteriás értékek különböztek a Kontroll csoport értékeitől (p=0,009), jelentős AV különbséget mutatva (p=0,005).

A fistula venás szárában mért media réteg (14,81 ± 8 μm) szignifikánsan vastagabb volt a nem-operált oldali venában mért értékekhez képest (10,65 ± 3,5 μm; p=0,002). A fistula arteriás szárából vett mintákban mért media vastagság (61,44 ± 15,28 μm), valamint a nem-operált oldali artériában mért értékek is (65,22 ± 16,26 μm; p<0,001) szignifikánsan nagyobbak voltak a Kontroll csoport értékeivel (49,3 ± 8,45 μm; p=0,001) összehasonlítva. A media réteg vastagság tekintetében a vártnak megfelelő szignifikáns arterio-venosus különbséget találtuk (p<0,001).

4.2.7. Megbeszélés

A klinikumban a biztonságos dialysishez érett AV shunt szükséges, ami a haemodialysis kezelés során lehetővé teszi az ismételt tűbevezetést.

Az AV fistulák élettana, érése (4-6 hét), arterialisatio és neointima kialakulása széles körben tanulmányozott. Az arterialisatio során a shunt venájának falában a simaizom elemek száma felszaporodik, neointima képződés megy végbe. Ultrastructuralis vizsgálatok bizonyították az extracellularis matrix elemeinek (kollagén, elastin, proteoglycanok) mennyiségi növekedését a simaizmok körül.

Az érett shunt-ök vizsgálatára kísérletes modellünkben az állatokat a 8-12. postoperativ hétig követtük, amely időszak biztosította a shunt maturatiós folyamatainak lezajlását. A kísérletes modellünkben elegendő időt kívántunk biztosítani a shunt-ök érésére, kompenzált keringési viszonyainak kialakulására.

Kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy a vizsgált postoperativ periódusra az érátmérők a shunt oldalán megnövekedtek, a shunt arteriás és venás szára közel azonos átmérőjű lett. Szövettani vizsgálatokkal a dilatált venafal arterialisalódása volt látható. Irodalmi adatokkal megegyezően mind az intima, mind a media réteg megvastagodott a kollagén és simaizom elemek felszaporodása következtében.

A saphena ereken (arteria saphena, vena saphena medialis) végzett direkt véráramlás mérés a shunt oldalán fokozódott áramlási sebességet és csak kismértékű arterio-venosus különbséget mutatott a nem-műtött oldali és az ép kontroll értékekhez képest, ahol az arterio-venosus áramlási sebesség-különbség jól mérhető volt.

A kevéssé ismert arterio-venosus haemorheologiai különbségek módosultak az AV shunt kialakításával. Az eredmények azt mutatták, hogy: (I) az erythrocyta aggregatiós index értékek emelkedettek voltak a vena saphena medialis-ból származó vérmintákban az arteria saphena értékeivel összehasonlítva; (II) a shunt oldalán az aggregatiós index értékek emelkedtek, nagyobb mértékben a venás vérmintákban, csökkenő arterio-venosus különbséget mutatva; (III) a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékű arterio-venosus különbsége a shunt oldalán eltűnt, alacsonyabb elongatiós index értékeket mutatva.

Összegzésképpen elmondható, hogy a bemutatott sapheno-saphenosus end-to-side művi AV shunt modell mikrosebészeti módszerekkel *biztonságosan elkészíthető*, anatómiai lokalizációját tekintve *könnyű hozzáférhetőséget biztosít*, a *szisztémás keringést nem terheli meg*. A sapheno-saphenosus érett művi AV shunt-ök vonatkozásában a *véráramlási* és *morphologiai tényezők* mellett a *micro-rheologiai paraméterek* is megváltoznak, amelyek nemcsak a shunt területén, hanem a microcirculatio meghatározásában is fontos tényezők.

Kísérleteink további vizsgálatok alapját adhatják a *shunt-ök érését befolyásoló tényezők* és a *szövődménylehetőségek elkerülésének vizsgálataira*, amelyek a klinikai gyakorlat számára fontos információt adhatnak. A *lokális és szisztémás haemorheologiai viszonyok* részletesebb megismerése az endothelialis functióban, valamint a microcirculatio területén létrejövő változások további tanulmányozása szempontjából lehet fontos.

5. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Megvalósítottunk egy új, mikrosebészeti módszerekkel biztonságosan elkészíthető, anatómiai lokalizációját tekintve könnyű hozzáférhetőséget biztosító és a szisztémás keringést jelentősen nem megterhelő end-to-side művi sapheno-saphenosus AV shunt modellt patkányokon a shunt-ök morphologiai, mikrokeringési és a kevéssé tanulmányozott haemorheologiai változások vizsgálataira.
2. Az AV shunt létrehozásával várhatóan megváltozó, eddig kevéssé ismert haemorheologiai alap arterio-venosus (aorto-cavalis) különbségek vizsgálata során új eredményként megállapítottuk, hogy patkányokon a vörösvérsejt deformabilitást leíró elongatiós index értékek kismértékben alacsonyabbak, a vörösvérsejt aggregatiós index értékek magasabbak az arteriás oldalon (aorta abdominalis) a venás oldalhoz viszonyítva (vena cava caudalis).
3. Az általunk megvalósított end-to-side művi sapheno-saphenosus AV shunt kismértékű változást okozott a shunt oldali comb és talp bőrének szöveti microcirculatiós értékeiben a nem-operált oldali, valamint az ép kontroll állatok mikrokeringési értékeihez képest. Haemodynamicai paraméterek tükrében csak lokális különbségek mutatkoztak, az AV shunt oldalán fokozottabb áramlási sebességgel és alacsonyabb arterio-venosus különbséggel.
4. Új eredményként megállapítható, hogy az AV shunt területéről vett arteriás és venás vérminták vörösvérsejt deformabilitását leíró elongatiós index paraméterei alacsonyabbak voltak a nem-operált oldali és az ép állatokból származó értékekhez képest, csökkenő arterio-venosus különbséget mutatva. A vörösvérsejt aggregatiós index értékek a shunt oldalán mind az arteria saphena-ban, mind a vena saphena medialis-ban magasabbak voltak a nem-operált oldali, valamint az ép kontroll értékekhez képest is, főként a venás oldalon.

5. Az irodalmi adatokhoz hasonlóan kimutattuk morphologiai és szövettani vizsgálatokkal, hogy az AV anastomosis mindkét szára dilatálódott (a lumen átmérője megnőtt) a shunt érése során. A shunt arteriás és venás szárán egyaránt az érfal intima és media rétegeinek megvastagodása volt megfigyelhető a simaizom sejtek és kollagénrostok szaporodásával. Új megállapításunk, hogy az arteriás oldalon az intima réteg vastagság-növekedése, a venás oldalon főként a media réteg megvastagodása nagyobb mértékű.
6. Összegzésképpen az eredményeink kísérleti adatokat szolgáltattak az arterio-venosus shunt-ök morphologiai és véráramlási paramétereinek tanulmányozásához. Az általunk megvalósított új end-to-side művi sapheno-saphenosus AV shunt modell további kutatások alapját képezheti a klinikai szempontból fontos kérdések megválaszolására a shunt-ök érését befolyásoló tényezők és szövődménylehetőségek elkerülésének vizsgálataira, valamint a lokális és szisztémás haemorheologiai viszonyok részletesebb tanulmányozására.

Az értekezés alapjául szolgáló in extenso közlemények

1. **Hevér T**, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Németh N. Are there arterio-venous differences of blood micro-rheological variables in laboratory rats? *Korea-Aust. Rheol. J.* 2010. 22. 59-64. **IF: 0,965**
2. **Hevér T**, Németh N, Bráth E, Tóth L, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Szaszkó J, Drimba L, Peitl B, Csiki Z, Mikó I, Furka I. Morphological, hemodynamical and hemorheological changes of mature artificial saphenous arterio-venous shunts in the rat model. *Microsurgery* 2010. 30. 649-656. **IF: 1,244**

Összesített impakt faktor: 2,209

Egyéb az értekezés témájával nem összefüggő in extenso közlemények

3. Soltész P, Veres K, Csípő I, Tumpek J, Laczik R, **Hevér T**, Szodoray P, Szegedi Gy. Autoantitestes mechanizmusok szerepe az atheroszklerózis folyamatában. *Metabolizmus* 2008. 2. 57-59.
4. Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Kiss F, Uyuklu M, **Hevér T**, Sajtos E, Kenyeres P, Tóth K, Furka I, Mikó I. Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations: Inter-species differences and the effects of duration and temperature. *Korea-Aust. Rheol. J.* 2009. 21. 127-133. **IF: 0,965**
5. Uyuklu M, Cengiz M, Ulker P, **Hevér T**, Tripette J, Connes P, Németh N, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effects of storage duration and temperature of human blood on red cell deformability and aggregation. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2009. 41. 269-278. **IF: 1,780**
6. Bráth E, Németh N, Kiss F, Sajtos E, **Hevér T**, Mátyás L, Tóth L, Mikó I, Furka I. Changes of local and systemic hemorheological properties in intestinal ischemia-reperfusion injury in the rat model. *Microsurgery* 2010. 30. 321-326. **IF: 1,244**

7. Sajtos E, Németh N, Kiss F, Bráth E, Pető K, **Hevér T**, Mátyás L, Furka I, Mikó I. Application of leukocyte antisedimentation rate calculation in investigation of spleen salvaging experimental surgical techniques. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2010. 45. 289-294. **IF: 1,780**
8. Kiss F, Sajtos E, **Hevér T**, Németh N. The power of slit-flow ektacytometry measurements for testing normal and heat treated red blood cells using various voiscosity media in laboratory animals. *Korea-Aust. Rheol. J.* 2010. 22. 81-86. **IF: 0,965**

Összesített impakt faktor: 6,734

Kumulatív impakt faktor: 8,943

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás szívvel mondok köszönetet a Tanszék vezetőjének, *Prof. Dr. Mikó Irénnek*, aki megteremtette a lehetőséget a kutatómunkám végzésére, s bizalmával, támogatásával és tanácsaival sokat segített.

Köszönetemet fejezem ki *Prof. Dr. Furka Istvánnak*, aki nagy szakmai tapasztalatával adott útmutatást és személyesen vezetett be a mikrosebészet rejtelmeibe, a kutatás és oktatás területén, s akinek irányításával a kutatómunkámat elkezdtettem.

Külön köszönet illeti *Dr. Németh Norbert* egyetemi adjunktus Urat, Témavezetőmet, aki kutatómunkám irányítása mellett lehetőséget teremtett a különböző laboratóriumi mérőmódszerek elsajátítására.

Köszönet illeti *Dr. Pető Katalin* adjunktusnőt és *Dr. Bráth Endre* tanársegéd Urat a munkám során nyújtott szakmai-baráti segítségért.

Hálás köszönet illeti Ph.D. hallgató társaimat, *Dr. Mátyás Lilit, Dr. Sajtos Erikát, Dr. Kiss Ferencet*, akik a laboratóriumi mérések során nyújtottak segítséget.

Köszönöm *Prof. Dr. Sótonyi Péter* egyetemi tanár Úr, *Dr. Keserű Péter* egyetemi főállatorvos és *Gyüre László* állatanatómiai tájékozódásban nyújtott segítségét.

Kollaborációban nyújtott segítségét köszönöm *Dr. Csiki Zoltán* egyetemi docens Úrnak (III. Belgyógyászati Klinika), *Dr. Peitl Barna* egyetemi adjunktus Úrnak, *Dr. Szaszkó Jánosnak, Dr. Drimba Lászlónak* (Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet), valamint *Dr. Tóth László* egyetemi tanársegéd Úrnak (Patológiai Intézet). Őszintén köszönöm *Dr. Kosztyu László, Dr. Olvasztó Sándor* klinikai főorvos Úr szakmai támogatását, akik még hallgató koromban a kutatási téma iránt érdeklődésemet felkeltették.

Köszönet illeti a Magyar Haemorheologiai Társaság elnökét, *Prof. Dr. Bogár Lajos* egyetemi tanár Urat és *Dr. Lantos János* egyetemi docens Urat támogató észrevételeikért, valamint *Oguz K. Baskurt* professzor Urat (Antalya, Törökország), akitől a TéT-pályázat keretében szintén szakmai tanácsokat kaphattam.

Végül, de nem utolsó sorban, hálás szívvel köszönöm *szüleimnek* támogató, áldozatos szeretetüket, segítségüket, türelmüket, mellyel biztosították a nyugodt hátteret tanulmányaimhoz. Nincs szó, mely kifejezhetné irántuk érzett hálámat és szeretetemet.

Iktatószám: DEENKÉTK /11/2011.
Tételszám:
Tárgy: Ph.D. publikációs lista

Jelölt: Dr. Hevér Tímea

Neptun kód: JGGTFG

Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Hevér T**, Németh N, Bráth E, Tóth L, Kiss F, Sajtos E, et al.: Morphological, hemodynamical and hemorheological changes of mature artificial saphenous arterio-venous shunts in the rat model. *Microsurgery*. 30 (8), 649-56, 2010
IF: 1.244 (2009)

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/111640
http://dx.doi.org/10.1002/micr.20784

2. **Hevér T**, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Németh N: Are there arterio-venous differences of blood micro-rheological variables in laboratory rats? *Korea-Aust Rheol J*. 22 (1), 59-64, 2010
IF: 0.965 (2009)

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/111639

További közlemények

3. Sajtos E, Németh N, Kiss F, Bráth E, Pető K, **Hevér T**, et al.: Application of leukocyte antisedimentation rate calculation in investigation of spleen salvaging experimental surgical techniques. *Clin Hemorheol Microcirc*. 45, 289-94, 2010
IF: 1.78 (2009)

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/97975
http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1308

4. Bráth E, Németh N, Kiss F, Sajtos E, **Hevér T**, Mátyás L, et al.: Changes of local and systemic hemorheological properties in intestinal ischemia-reperfusion injury in the rat model. *Microsurgery*. 30 (4), 321-6, 2010
IF: 1.244 (2009)

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/95920
http://dx.doi.org/10.1002/micr.20707

DEBRECENI EGYETEM KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR

5. Kiss F, Sajtos E, **Hevér T**, Németh N: The power of slit-flow ektacytometry measurements for testing normal and heat treated red blood cells using various viscosity media in laboratory animals. *Korea-Aust Rheol J.* 22 (1), 81-6, 2010
IF: 0.965 (2009)

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/93666
http://www.rheology.or.kr/pdf/KR22-01-0001.pdf

6. Uyuklu M, Cengiz M, Ulker P, **Hevér T**, Tripette J, Connes P, et al.: Effects of storage duration and temperature of human blood on red cell deformability and aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 41 (4), 269-78, 2009
IF: 1.78

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/93354
http://dx.doi.org/10.3233/CH-2009-1178

7. Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Kiss F, Uyuklu M, **Hevér T**, et al.: Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations : inter-species differences and the effects of duration and temperature. *Korea-Aust Rheol J.* 21 (2), 127-33, 2009
IF: 0.965

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/93286
http://www.rheology.or.kr/pdf/127-133%20%286.Nemeth%29.pdf

8. Soltész P, Veres K, Csípő I, Tumpek J, Laczik R, **Hevér T**, et al.: Autoantitestes mechanizmusok szerepe az atheroszklerózis folyamatában. *Metabolizmus.* 6 (2), 57-9, 2008

Full Text:
http://hdl.handle.net/2437/88302

A DEENK Kenézy Élettudományi Könyvtár a Jelölt által a Publikációs Adatbázisba feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2011.01.17

DEBRECENI EGYETEM KENÉZY ÉLETTUDOMÁNYI KÖNYVTÁRA EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR