

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Az ozmotikus gradiens vörösvérsejt deformabilitás
faji különbségei és metabolikus befolyásoló tényezői**

Varga Ádám

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert



DEBRECENI EGYETEM
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2025

**Az ozmotikus gradiens vörösvérsejt deformabilitás faji különbségei
és metabolikus befolyásoló tényezői**

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

Írta: Varga Ádám okleveles klinikai laboratóriumi kutató

Készült a Debreceni Egyetem Klinikai Orvostudományok doktori iskolája
(Experimentális és operatív orvostudományok programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Németh Norbert

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Bogár Lajos, MTA doktora
Dr. Bhattoa Harjit Pal, MTA doktora

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Illés Árpád, MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Bogár Lajos, MTA doktora
Dr. Bhattoa Harjit Pal, MTA doktora
Prof. Dr. Harsányi László, PhD
Dr. Tóth Imre, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK Belgyógyászati Intézet
„A” épület előadóterme
2025. április 2. 13:00

1. BEVEZETÉS

A haemorheologia a vér áramlási jellegzetességeinek tanulmányozásával foglalkozó tudományág. Kiemelten vizsgált paraméterek a vér és a plazma viszkozitása, a vörösvérsejtek deformabilitása és aggregációs készségük. A viszkozitás emelkedése rontja a vér fluiditását, az áramlási ellenállás fokozódásához vezet, növelheti a szív munkaterhelését, ugyanakkor az alacsonyabb viszkozitás is elégtelen szöveti perfúzióhoz vezethet. A vörösvérsejtek deformálhatósága, egy másik döntő fontosságú tényező, amely a sejtek azon képességét írja le, hogy miként képesek passzív módon alakot változtatni nyíró- és nyomóerők hatására, miközben áthaladnak a szűk capillarison. Másik fontos micro-rheológiai tényező a vörösvérsejtek aggregatiója, azaz reverzibilis összekapcsolódási készsége, amely befolyásolhatja a véráramlás dinamikáját, különösen alacsony sebesség-gradiens mellett.

Az elmúlt évtizedekben a haemorheológiai kutatások jelentősen bővültek az újabb mérőmódszerek megjelenésének köszönhetően. Ez a bővülő kutatási terület értékes betekintést nyújtott abba, hogy a kóros folyamatok miként befolyásolják a véráramlást, különös tekintettel a vörösvérsejtek micro-rheológiáját illetően. A haemorheológiai paraméterek kóros változásait tárták fel számos cardiovascularis kórképben, metabolikus és haematológiai betegségekben, de gyulladásos kórképek, sepsis, ischaemia-reperfusio, daganatos betegségek szintén jelentős micro-rheológiai és microcirculációs változásokkal jellemezhető.

Különböző mérési technikák alkalmazásával - a viszkozimetriától kezdve a fejlett képkalkoló és molekuláris elemzésig - nemcsak a véráramlás makroszkopikus tulajdonságait, hanem a vérsejtek és a plazma közötti mikroszkopikus kölcsönhatások is képesek vizsgálhatókká váltak.

A micro-rheológiai paraméterek közül a vörösvérsejt deformabilitás egy érdekes aspektusa az ozmotikus változásokkal együtt járó, ún. ozmotikus gradiens deformabilitás vizsgálata („osmoscan”), amelyre az újabb mérőmódszerek közül az ektacytometria lehetőséget ad. Annak ellenére, hogy a keringésben széles tartományban éri a vörösvérsejteket az ozmolalitás változás hatása, ez a paraméter még kevéssé vizsgált, hiszen csak néhány laboratóriumban van meg a módszertani háttér ennek tanulmányozására.

Különösen érdekes e paraméter fajok közötti vizsgálata is, hiszen a vörösvérsejtek micro-rheológiai paramétereit a sejtek mérete, alakja, denzitása, viszkoelasztikus, biomechanikai tulajdonságai együttesen befolyásolják, és ismert ezekről a faktorokról, hogy széles körül heterogenitást mutatnak a fajok között az emberhez viszonyítva. Az orvosbiológiai kutatásokba is bevont állatfajok vonatkozásában a komparatív haemorheológiának fontos

jelentősége van az eredmények extrapolálhatósága, értékelése és értelmezése tekintetében, a klinikai hasznosíthatóság szempontjából is. Ugyancsak kevésbé ismert vetület a metabolikus változók micro-rheologiai paraméterekre kifejtett hatása. Kutatómunkánk során ezen kérdések tisztázását tűztük ki célul.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. A korábbi, tanszéki komparatív haemorheologiai kutatások folytatásaként célul tűztük ki humán, kutya, macska, sertés, juh, egér, patkány és nyúl vérminták micro-rheologiai összehasonlító elemzését, különös tekintettel a vörösvérsejt ozmotikus gradiens deformabilitásra, amelyet ilyen széleskörű relációban még nem vizsgáltak.
2. Célunk volt az ozmotikus gradiens deformabilitás más micro-rheologiai (konvencionális ektacytometriás módszerrel meghatározott vörösvérsejt deformabilitás, statikus és dinamikus aggregációs paraméterek) és a vörösvérsejtek mennyiségi és minőségi haematologiai paraméterekkel való összefüggéseinek vizsgálata.
3. Vércső, sav-bázis és metabolikus tényezők micro-rheologiai, azon belül a konvencionális és ozmotikus gradiens deformabilitásra kifejtett hatását kívántuk vizsgálni nagyállatmodellen.
4. Az összehasonlító vizsgálatokat kísérletes sebészeti vékonybél anastomosis műtétek előtt és után is el kívántuk végezni a változások dinamikájának meghatározására négy vérvételi lokalizációból származó mintákon (arteria és vena femoralis, vena portae, vena renalis).

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. A VÖRÖSVÉRSEJTEK OZMOTIKUS GRADIENS DEFORMABILITÁSÁNAK FAJOK KÖZTI VÁLTOZATOSSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

3.1.1. Önkéntes résztvevők

A humán vérminták egészséges, önkéntes nőktől származtak (n=8, életkor: 19-40 év; Klinikai Etikai Bizottság engedély száma: DE-RKEB 3625-2012). Az éhgyomri vérvétel a reggeli órákban történt a vena mediana cubiti-ból (21 G tű, BD Vacutainer® csövek, 1,5 mg/ml K3-EDTA; Becton, Dickinson and Company, USA).

3.1.2. Kísérleti állatok

Az állatkísérleteket az Európai Unió irányelv (63/2010 EU-irányelv) és a magyar állatvédelmi törvény (1998. évi XXVIII. törvény „Az állatok védelméről és kíméletéről”) szerint, hatósági engedéllyel (Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság engedély regisztrációs szám: 24/2016/DEMÁB, 16/2018/DEMÁB). Hím beagle kutyákból (n=6, kor: 12-14 hónap, testtömeg: 17,05±1,05 kg), hím macskákból (n=7, kor: 12-14 hónap, testtömeg: 4,25±0,65 kg), nőtény Hungahib-39 sertésekből (n=8, kor: 8 hét, testtömeg: 15,2±1,1 kg), nőtény Merino juhokból (n=8, kor: 14 hónap, testtömeg: 71,1±5,3 kg), nőtény C57BL/b egerekből (n=14, kor: 6 hónap, testtömeg: 32,1±3,8 g), nőtény Wistar patkányokból (n=10, kor: 6 hónap, testtömeg: 302,8±1 g) és nőtény új-zélandi fehér nyulakból (n=4, kor: 6 hónap, testtömeg: 3063,5±230,2 g) származó vérmintákat vizsgáltunk. Ezen mintákat olyan állatokból vettük melyeken nem történt más intervenció vagy beavatkozás, csak a vérvétel.

3.1.3. Mintavétel

A vérminták vételezése a kutyákból és macskákból vena cephalica punkcióval (altatás: 10 mg/kg ketamin +1 mg/kg xilazin, i.m.), sertésekből vena saphena punkcióval (altatás: 15 mg/kg ketamin + 1 mg/kg xilazin, i.m.), juhokból pedig vena jugularis externa punkcióval történt. Egereknél, patkányoknál és nyulaknál a vérvételt szintén általános anaesthesiában végeztük (egereknél: 60 mg/kg tiopental, i.p., mintavételi hely: vena cava caudalis; patkányoknál: 60 mg/kg tiopental, i.p., mintavételi hely: vena caudalis; nyulaknál: 60 mg/kg tiopental, i.p., mintavételi hely: marginális fül véna). A vérmintákat standard Vacutainer csövekbe vettük (véralvadásgátló: nátrium-EDTA, 1,5 mg/ml).

3.2. LOKÁLIS ÉS SZISZTÉMÁS MICRO-RHEOLOGIAI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA KÍSÉRLETES VÉKONYBÉL ANASTOMOSIS KÉSZÍTÉSE SORÁN

3.2.1. Kísérleti állatok

Tizenhat nőtény Hungahib-39 (Agrargazdaság Kft., Debrecen, Magyarország) hibrid sertést használtunk vizsgálatunkban (Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság engedély regisztrációs szám: 24/2016/DEMÁB, 16/2018/DEMÁB). Az állatok átlagos életkora 7-8 hetes volt, átlagos testtömegük $18,93 \pm 1,88$ kg. A műtét előtt az állatok egy standard akklimatizációs időszakon estek át, amely során 16 órán át nem kaptak táplálékot.

3.2.2. Műtéti protokoll

A műtétek a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Sebészeti Műtéttani Tanszéke által szervezett „Haladó műtéttani gyakorlatok” kötelezően választható kurzushoz kapcsolódóan valósultak meg a 2022/2023-as tanév őszi szemeszterében.

Premedikációhoz 1-2 mg/kg azaperon i.m. (Stresnil, Elanco GmbH, Cuxhaven, Németország), az altatás indukciójához 2 mg/kg xilazin (CP-xilazin-hidroklorid, 2%) és 20 mg/kg ketamin (CP-ketamin-hidroklorid 10%) i.m., az anesztézia fenntartásához 1 mg/kg xilazin és 10 mg/kg ketamin i.v. került alkalmazásra, kiegészítve 2 mg/kg i.v. diazepammal (Diazepexs 5 mg/ml, AS Grindeks, Riga, Lettország). Intubáció történt (tubus ID 5,5; Eickemeyer, Tuttlingen, Németország) asszisztált lélegeztetéshez. A bal vena jugularis externát kipreparáltuk és kanüláltuk 10 ml/kg/h folyadékpótlás (összmenyiség: $452,4 \pm 45,9$ ml, „Baxter” nátrium-klorid 0,9%, pH = 4,5-7,0, ozmolaritás: 308 mOsm/l, Baxter Hungary Kft.). A bal oldali arteria femoralist és a jobb oldali vena femoralist szintén preparáltuk és kanüláltuk szisztémás artériás és vénás vérminta nyerése céljából (Certofix Duo S730 B. Braun SE, Hessen, Németország). Ezt követően paramedian laparotomia készült.

Az anastomosis csoportban (n=8) end-to-end jejuno-jejunostomiát végeztünk gondos skeletisatiót és resectiót követően körülbelül 15 cm-re az emberben a Treitz-szalagnak megfelelő peritoneum-hajlattól (duodenojejunalis csomópont). A resecatum bélszakaszok átlagos hossza $12 \pm 0,65$ cm volt. Az egysoros end-to-end anastomosiszt Mikulitz-öltésekkel készítettük el (varróanyag: VITREX Monolac Monofil Violet, USP 4/0, Vitrex Medical A/S, Herlev, Dánia). A kísérletes gyakorló műtét átlagos időtartama 143 ± 12 perc volt (az altatás megkezdésétől az utolsó vérvételig közvetlenül az anastomosis befejezése után). A vékonybél-anastomosis elkészítésének átlagos ideje 38 ± 7 perc volt. Az áloperált kontroll csoportban (n=8) bél-anastomosis nem történt.

3.2.3. Mintavétel protokoll

A kísérlet során a paramedian laparotomia elvégzését követően, de a bélműtét előtt, majd az end-to-end jejunó-jejunostomia elkészítése után, alkalmanként és helyenként 3,5 ml vért vettünk a kanülált a. és v. femoralisból, valamint 23 G tűvel direkt punkció útján a v. portae-ból és a bal oldali v. renalisból. A vért standard Vacutainer csövekbe (BD Vacutainer® csövek, 1,8 mg/ml K3-EDTA; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) gyűjtöttük. Az áloperált kontroll csoportban ennek megfelelő időben történtek a vérvételek. A mintákból 2 órán belül meghatározásra kerültek az általános haematologiai paraméterek, a vörösvérsejt deformabilitás, az ozmotikus gradiens deformabilitás, a vörösvérsejt aggregatio, valamint a vérgáz és sav-bázis paraméterek, metabolitok.

3.3. LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK

3.3.1. Haematologiai paraméterek

A kvantitatív és kvalitatív haematologiai paramétereket Sysmex F-800 és Sysmex K-4500 (TOA Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japán) haematologiai automatával határoztuk meg. A készülék apertura-impedancia elven határozza meg a fehérvérsejtszámot (Fvs, [$\times 10^9$ /L]), vörösvérsejtszámot (Vvs, [$\times 10^{12}$ /L]) és a thrombocyta számot (Thr, [$\times 10^9$ /L]), míg spektrofotometriás elven méri a hemoglobin tartalmat (Hgb, [g/dL]). Ezen mért adatokból kalkulálja ki a haematocrit (Hct, [%]), az átlagos vörösvérsejt térfogat (MCV, [fL]), az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom (MCH, [pg]) és az átlagos vörösvérsejt haemoglobin koncentráció (MCHC, [g/dL]) értékeket. A mérésekhez 80 uL antikoagulált vérre van szükség. A haematologiai automatának a minőségellenőrzése Sysmex e-CHECK (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) kontrollanyagokkal történt.

3.3.2. Micro-rheologiai paraméterek

3.3.2.1. Vörösvérsejt hagyományos és ozmotikus gradiens deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitást a LoRRca MaxSis Osmoscan ektacytometer segítségével (RR Mechatronics International B.V., Zwaag, Hollandia) határoztuk meg. A módszer a vörösvérsejtek nyírófeszültség hatására bekövetkező elnyúlását lézer diffrakciós technikával határozza meg. Az úgynevezett elongatiós indexet (EI) a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében ábrázolhatjuk. A nyírófeszültség értékeket méréseinkhez 0,3 és 30 Pa közötti tartományban határoztuk meg. A konvencionális deformabilitási vizsgálatához 10 μ L teljes vért óvatosan elegyítettük 2 ml polyvynil-pirrolidon (PVP)-PBS oldattal (PVP: 360 kDa, Sigma-Aldrich Co., USA; PVP-PBS oldat viszkozitása = 28-32 mPas, ozmolalitás = 290-310

mOsmol/kg, pH = 7,3-7,5), mely szuszpenziót Pasteur pipetta segítségével a Couette rendszerbe juttatjuk be, majd a cup forgásával 0,3-30 Pa nyírófeszültséget fejtünk ki a mintára. A mérés során a készülék a mintát átvilágítja 670 nm hullámhosszú lézerfényvel, a keletkező diffrakciós mintázatot CCD kamera rögzíti. A diffrakciós képek szélességéből és hosszából számolja a szoftver az elongációs indexet (EI), ami a deformabilitást leíró dimenzió nélküli érték. A mérés során a nyert EI - SS görbék parametrizálásával meghatározható a maximális elongációs index (EI_{max}), az ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ($SS_{1/2}$, [Pa]), valamint ezen két paraméter hányadosa ($EI_{max}/SS_{1/2}$). A parametrizáláshoz a Lineweaver-Burke egyenletet használtuk: $1/EI = SS_{1/2}/EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$.

Az ozmotikus gradiens deformabilitás (osmoscan) méréseket 5 ml izotóniás PVP-PBS felhasználásával végeztük, amelyet 250 μ L vérrel kevertünk. Ebben a modulban az EI meghatározása állandó nyírófeszültség mellett történik (30 Pa-ra állítva), miközben a szuszpenzió ozmolalitása változik ahogy a készülék alacsony ozmoláris (0 mOsm/kg) és magas ozmoláris (500 mOsm/kg) PVP-oldatokat kever a teljes vérmintával. A vérmintát ebbe a fokozatosan növekvő ozmolalitású PVP-oldattal elegyíti a készülék, miközben a nyúlási indexet folyamatosan regisztrálja. Az eredmény egy jellegzetes EI-ozmolalítás (O) görbe több parametrizálható ponttal. Az EI min a minimális elongációs indexet jelenti az alacsony ozmolaritású környezetben. A hozzá tartozó ozmolaritás érték, az O min (ozmolaritás EI min-nél), identikus azzal az ozmolalítás értékkel, amelynél a vörösvérsejtek 50%-a hemolizálódik a klasszikus ozmotikus fragilitási teszt során. Az EI max itt a maximális elongációs indexet jelenti az ozmolalítás függvényében (megjegyzés: nem azonos a Lineweaver-Burke egyenlettel számított EI_{max} értékkel, lásd fentebb). Az (O (EI max) az az érték, ahol az vörösvérsejtek optimálisan deformálódnak. Az EI hyper (a maximális EI fele a magas ozmoláris környezetben) és az O hyper azt a pontot mutatja a hiperozmoláris tartományban, ahol a vörösvérsejtek maximális elongálódásuk felét érik el. Egy másik fontos paraméter az Area (AUC, area under curve), amelyet az egyes EI-O görbék alatti területből számítunk. Az osmoscan görbék standard összehasonlító paraméterei mellett további paramétereket is számítottunk, mint például ΔEI (a maximális és minimális EI értékek abszolút különbsége), ΔO (az ozmolalítás értékek abszolút különbsége a maximális és minimális EI értékeknél) és az arány értékek: EI_{max}/EI_{min} (rEI), $O(EI_{max})/O_{min}$ (rO), $\Delta EI/\Delta O$ és rEI/rO . Az ektacytométerrel történő mérések standardizálása egy nemzetközi irányelv segítségével történt, a használt polivinil-pirrolidon szuszpenziók pH és viszkozitás értékei mérések előtt hitelesítésre kerültek, míg magával a készülékkel minden esetben a mintavételezést követően, legkésőbb 2 órán belül, 37°C fokra temperálva megtörténtek a micro-rheologiai paraméterek meghatározása.

3.3.2.2. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio meghatározásához a fény-transzmissziós elven működő Myrenne MA-1 aggregometert használtuk (Myrenne GmbH, Németország). A méréshez 20 μL antikoagulált vérre van szükség, amelyet egy 2° -os szögben csiszolt, rotor segítségével forgatható üveglencsére mikropipettával viszünk fel. A készülék fedelét lecsukva egy üveglap elteríti a mintát az üveglencsén, majd a lencse forgó mozgásával 500 s^{-1} sebesség-grádiens generál, amivel az esetlegesen jelenlevő aggregátumok diszaggregálódnak. Ezt követően a készülék négy aggregációs index paraméter meghatározására képes. Az M 5 sec és M 10 sec esetében a diszaggregációt követően a lencse forgása teljesen megáll (stasis), és ebben az állapotban méri az áteresztett fény intenzitását az aggregációs folyamat 5., illetve 10. másodpercében. Az M1 5 sec és M1 10 sec paraméterek esetén a lencse mozgása nem áll meg teljesen, csak lelassul (3 s^{-1}). A transzmittált fény intenzitását a lencse alatt található infravörös detektor méri. A fényforrás a készülék fedelében, az üveglemez mögött található. A készülék nem temperált, a méréseket szobahőmérsékleten ($22\text{-}25\text{ }^\circ\text{C}$) végeztük. Minden paraméter esetében 4 mérés történt, ezek átlagával dolgoztunk tovább.

3.3.3. Véggáz, sav-bázis paraméterek, metabolitok és elektrolitok

A véggáz- és sav-bázis paraméterek elemzéséhez 90 μl nem alvadésgátolt teljes vért használtunk fel. Ezen méréseket műtét előtt és közvetlenül műtét után végeztük azonnal a vérvételt követően. A vizsgálathoz ágymelletti EPOC® véggáz elemző rendszert (Siemens Healthineers AG, Erlangen, Németország) használtunk. A készülék bioszenzor mérőkártyás rendszerű: a használt mérőkártyák egyszer használatosak és minden mérés előtt a rendszer önkalibrálást végez. A következő paramétereket mértük: parciális oxigén és szén-dioxid nyomás ($p\text{O}_2$ [mmHg] és $p\text{CO}_2$ [mmHg]), pH, bikarbonát koncentráció (CHCO_3^- [mmol/L]), nátrium, kálium, kalcium, klór ion koncentrációk (Na^+ [mmol/L], K^+ [mmol/L], Ca^{2+} [mmol/L] és Cl^- [mmol/L]), glükóz [mmol/L], laktát [mmol/L] és kreatinin [$\mu\text{mol/L}$] koncentráció. Méréseink EPOC egyszer használatos reagens kártyákkal történtek, melyek készülékbe helyezése és kalibrálása után történhetett a minta befecskendezése, és mérése.

3.4. STATISZTIKAI ANALÍZIS

A statisztikai elemzések elvégzésére a SigmaStat szoftvert (Systat Software Inc, San Jose, CA, USA) használtuk. Az adatokat átlag \pm S.D. formájában jelenítettük meg, a deskriptív adatmegjelenítésnél medián, 25%-os és 75%-os percentilisek, valamint maximális és minimális értékek is bemutatásra kerültek.

A fajok között fennálló különbségek elemzésére a t-próbát vagy a Mann-Whitney – tesztet, valamint egyutas ANOVA-teszteket (Bonferroni) használtuk a normalitásvizsgálat eredményei alapján. Az adatok eloszlásának normalitását Kolmogorov-Smirnov-teszttel elemeztük, az adatok korrelációját Pearson/Spearman korrelációval határoztuk meg adott haematologiai és osmoscan paraméterek esetében.

Az állatkísérlethez szükséges esetszám meghatározásához a Mead-féle egyenletet alkalmaztuk, a humán vérvételek esetében azonos elvek alapján G*Power 3.1 szoftver segítségével került megállapításra az elemszám. A fentebb leírt módszerek mellett Kruskal-Wallis-tesztet, valamint a bélműtét előtti és utáni állapot összehasonlításra az adateloszlás normalitása szerint páros tesztet vagy Wilcoxon-tesztet használtunk.

A $p < 0,05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A VÖRÖSVÉRSEJTEK OZMOTIKUS GRADIENS DEFORMABILITÁSÁNAK FAJOK KÖZTI VÁLTOZATOSSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

4.1.1. Haematologiai paraméterek

A fehérvérsejtszám szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult a rágcsálók esetében, mint az emberben ($p < 0,001$ vs. egér, $p < 0,001$ vs. patkány, $p = 0,035$ vs. nyúl), míg a többi faj esetében az értékük magasabb volt. A vörösvérsejtszám a macskáknál volt a legmagasabb, mely eredményeket csökkenő sorrendben követték a juhok, egerek és kutyák mintái. A kutya és a macska csoport mérései mutatták a legmagasabb haemoglobin koncentrációt és haematocrit értékeket. Ez a két változó szignifikánsan nagyobb volt a többi fajhoz képest, beleértve a humán vérmintákat is (minden minta esetében a szignifikancia szint: $p < 0,001$). Az átlagos corpuscularis térfogat (MCV) és az átlagos corpuscularis haemoglobin értékek (MCH) szignifikánsan magasabbak voltak az emberekben a vizsgált állatfajokhoz viszonyítva. A vérlemezkeszám szinte minden emlős vérmintában magasabb értékeket mutatott, mint a humán vér (kivételt képezett ez alól a macskák vérmintája). A vérlemezkeszám a macskák esetében szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyult minden minta esetében a szignifikancia szint: $p < 0,001$ vs. humán).

4.1.2. Vörösvérsejt deformabilitás

A különböző emlősfajokat összehasonlítva látható, hogy a juhok vörösvérsejtjei deformálódtak a legkevésbé ($p < 0,001$ minden más faj mintájához viszonyítva). Ezen fajhoz tartozó elongációs görbe mind alacsony, mind magas nyírófeszültségnél szignifikánsan alacsonyabb értékeket vett fel, mint a többi állatfaj, bár a humán mintákhoz viszonyítva 0,3 és

0,95 Pa közötti szakaszon átfedés mutatkozik. A görbe alacsony nyírófeszültségénél ábrázolt szakaszán a humán minták vörösvérsejtjei kevésbé deformálódtak a legtöbb állatfajhoz képest, kivéve a juhok vérmintáit ($p < 0,05$ vs. kutya, macska, sertés, egér, patkány és nyúl). A legmeredekebben, legmagasabb maximum ponttal rendelkező grafikonok a rágcsálók vérmintáihoz tartoztak. A 3 Pa-nál mért elongációs index szignifikáns különbségeket mutatott az ember és a többi vizsgált faj között: a juh minták látványosabban alacsonyabb értékeket vettek fel, míg ezzel szemben a többi vizsgált fajnál magasabb volt (human vs. kutya: $p < 0,001$; human vs. macska: $p = 0,003$; human vs. sertés: $p < 0,001$; human vs. juh: $p < 0,001$; human vs. egér: $p < 0,001$; human vs. patkány: $p < 0,001$; human vs. nyúl: $p < 0,001$). A rágcsálóknál voltak a legmagasabb a 3 Pa-nál mért elongációs index értékek (egér, patkány és nyúl minták vs. human: $p < 0,001$).

Az EI-SS görbék parametrizálásával jelentős különbségeket találtunk. A legmagasabb EI_{max} értékeket a patkányoknál figyeltük meg, majd a kutya és a humán minták következtek. Látható volt ennél a paraméternél is, hogy a juh vörösvérsejtek deformálódtak a legkevésbé (juh vs. minden más faj: $p < 0,001$).

Az $SS_{1/2}$ [Pa] értékek szignifikánsan különböztek minden vizsgált emlős fajnál a humán mintákhoz viszonyítva. Az human $SS_{1/2}$ eredmények bizonyultak a legmagasabbnak ($p < 0,001$ vs. minden vizsgált állatfaj), mivel a human elongációs indexet (EI) a nyírófeszültség (SS [Pa]) görbék meredeksége is jelentősen eltért a többi fajétól. Mindezen eltérések jól tükröződtek az $EI_{max}/SS_{1/2}$ arány adataiban is.

4.1.3. Ozmotikus gradiens deformabilitás

Az elongációs index-osmolalítás görbék alakja a klasszikus harang alakot mutatta minden vizsgált csoportnál, de fellelhetőek fajokra specifikusan jellemző, egyedi mintázatok és eltérések is. Ha a patkány vérmintákhoz tartozó osmoscan görbét összehasonlítjuk a human, a kutya és a nyúl mintáival, akkor a görbék alacsony osmolális tartományában jelentős különbség látható: ezen minták lefutása magasabb elnyúlási ponttól indul. A sertés és egér grafikonok tendenciája alacsonyabb volt, és megfigyelhető volt a görbék jellegzetes balra tolódása a mérés magasabb osmolalítású tartományában a többi fajhoz viszonyítva. Az osmoscan grafikonok nagyfokú analógiát mutattak e két faj között. A macskák és a juhok osmoscan görbéi a skálán jobbra tolódtak, karakterisztikájuk laposabb és maximális pontjuk is alacsonyabb, mint a többi görbe.

Az EI min és EI max értékek jelentős különbségeket mutattak a vizsgált csoportok között. A humán vérmintákhoz viszonyítva szignifikáns különbségeket találtunk kutyáknál

($p < 0,001$), sertéseknél ($p < 0,001$), patkányoknál ($p = 0,004$) és nyulaknál ($p < 0,001$). A nyulak vérmintái mutatták a legmagasabbak EI min értékeket, amelyek szignifikánsan különböznek a többi fajtól, kivéve a patkányokat. A legalacsonyabb EI min értékek a juhoknál voltak kimutathatók ($p < 0,001$ vs. kutya, $p = 0,014$ vs. macska, $p < 0,001$ vs. sertés, patkány és nyúl). Az EI max eredményekben ezen változások sokkal mérsékeltebbek voltak, azonban fajonként eltérően tértek el. Az emberi mintákhoz képest a kutya- és rágsálóminták értékei magasabbak voltak (kutya: $p = 0,003$, egér: $p = 0,043$), míg a juhoké a legalacsonyabb ($p < 0,001$ vs. human, $p = 0,047$ vs. patkány, $p = 0,012$ vs. nyúl). Az EI hyper értékek viszonylag hasonló mértékeket mutattak egymáshoz viszonyítva a vizsgált emlősfajoknál, kivéve a juhok vérmintái ($p < 0,001$ vs. valamennyi vizsgált emlős vérminta). A kutyák vérmintáiban mértük a legmagasabb EI hyper értékeket.

A minták ozmolalitással összefüggő paraméterei (O min, O (EI max), O hyper) szintén színes változatosságot mutattak a vizsgálati fajoknál. Az eltérések jellege nagyon hasonló volt, mint az elongatiós eredmények. Szignifikánsan magasabb O min értékeket találtunk a juhoknál a vizsgált emlősfajokhoz viszonyítva ($p < 0,001$ vs. minden vizsgálati faj), míg a kutyáknál voltak a legalacsonyabbak értékek ($p < 0,001$ vs. minden vizsgálati faj). A maximális elongatiós indexhez tartozó ozmolalitást visszatükröző O (EI max) paraméterhez kapcsolódóan a vizsgált emlős fajokból három jellegzetes csoportot lehet képezni: alacsonyabb értékeket mutató ember és kutya minták (ember: $303,05 \pm 10,92$ mOsm/kg, kutya: $272 \pm 6,72$ mOsm/kg), a magasabb értékekkel rendelkező rágsálók (egér: $327 \pm 14,57$ mOsm/kg; patkány: $315,3 \pm 18,45$ mOsm/kg; nyúl: $319,75 \pm 10,5$ mOsm/kg), valamint sertés, macska és juh a kiemelkedően magas értékekkel rendelkező mintái (sertés: $370,14 \pm 19,94$ mOsm/kg, macska: $378,16 \pm 17,34$ mOsm/kg juh: $396,88 \pm 15,23$ mOsm/kg). A macskák, sertések, juhok és egerek O hyper értékei voltak a legmagasabbak, míg a human és kutya vérmintáké a legalacsonyabbak.

Az Area paraméter elongatiós index-oszolalítás görbék alatti területből származtattuk. Az Area paraméterek növekvő sorrendjét a következők szerint alapítottuk meg: juh < macska < sertés < egér < ember < patkány < nyúl < kutya

A további összehasonlító paraméterek (ΔEI , ΔO , EI max/EI min, O (EI max)/O min és ezek arányait) az elongatiós index-oszolalítás görbék hyperozmolális régiójának jellemzésére szolgálnak, tükrözve az EI változásának nagyságát az oszolalítás függvényében. Az EI min és EI max értékek abszolút különbsége (ΔEI) összehasonlítható volt egymással; azonban a sertés, juh és egér értékek szignifikánsan eltértek a humán értékektől (sertés: $p = 0,027$, juh: $p < 0,001$, illetve egér: $p = 0,01$). Az O min és az O (EI max) közötti különbség (ΔO) jelentősen nagyobb volt macskákban, sertésekben és juhokban ($p < 0,001$) és mérsékelten nagyobb egerekben,

patkányokban és nyulakban a humán mintákhoz képest (egér: $p=0,01$, patkány: $p=0,011$ és nyúl: $p<0,001$, illetve). Arányuk ($\Delta EI/\Delta O$) majdnem azonos volt minden vizsgált fajnál. Az EI max és EI min aránya tükrözi azt a változatosságot, amelyet a hagyományos vörösvérsejtek deformabilitási mérések során is tapasztaltunk (kutya: $p<0,001$, sertés: $p<0,001$, patkány: $p=0,008$, nyúl: $p=0,004$ vs. humán minták). Az O (EI max) és az O min aránya nagyon közel volt egymáshoz a fajoknál, azonban az emberhez képest a kutyák, sertések, patkányok és nyulak értékei jelentősen eltértek egymástól ($p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,002$ és $p=0,004$ vs. humán minták).

4.1.4. A paraméterek korrelációja

Összegzett adatok korrelációs elemzésével szignifikáns összefüggést találtunk a következő változók között: MCV-EI min (koefficiens: 0,414, $R^2=0,171$, $p=0,001$), MCV-O min (koefficiens: -0,696, $R^2=0,484$, $p<0,001$), MCV- ΔO (koefficiens: -0,571, $R^2=0,326$, $p<0,001$), MCV-Area (koefficiens: 0,562, $R^2=0,316$, $p<0,001$), MCHC-EI hyper (koefficiens: 0,523, $R^2=0,274$, $p<0,001$) és MCHC-O hyper (koefficiens: -0,486, $R^2=0,236$, $p=0,001$). Ezek alapján megerősíthető volt, hogy a vörösvérsejtek ozmotikus gradiens deformabilitási paraméterei az optimálistól alacsonyabb ozmolalítás tartományban leginkább az MCV, a magasabb ozmolalítású tartományban az MCHC paraméterekkel korrelálnak jól.

4.2. LOKÁLIS ÉS SZISZTÉMÁS MICRO-RHEOLOGIAI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA KÍSÉRLETES VÉKONYBÉL ANASTOMOSIS KÉSZÍTÉSE SORÁN

4.2.1. Haematologiai paraméterek

A fehérvérsejtszám szignifikánsan csökkent az anastomosis csoportban minden vérvételi helyen az alap mérésekhez viszonyítva (vena portae és vena renalis: $p<0,001$; arteria femoralis: $p=0,023$, vena femoralis: $p=0,01$). A vörösvérsejtszám az intervenció után minden mintában emelkedett ($p<0,001$). A haemoglobin koncentráció esetében azt találtuk, hogy a bélműtét után a szisztémás és a portális vénás mintákban szignifikáns emelkedés volt látható az alap- és kontroll értékekhez képest ($p=0,002$ vs. műtét előtt; $p=0,004$ vs. kontroll arteria femoralis; $p<0,001$ vs. kontroll vena femoralis), míg a haematocrit elsősorban a portális és a vena renalis vérmintákban emelkedett ($p<0,001$ vs. műtét előtt; $p=0,01$ vs. kontroll vena portae, $p<0,001$ vs. vena renalis). Az átlagos corpuscularis térfogat a műtét után minden mintában nőtt az anastomizált csoportban ($p<0,001$ vs. műtét előtt), és ez a jelenség a kontrollcsoporttal összehasonlítva is fennállt ($p=0,02$ vs. kontroll arteria femoralis, $p<0,001$ vs. kontroll vena femoralis, $p=0,023$ vs. kontroll vena portae, $p<0,001$ vs. vena renalis). Az MCH és MCHC

paraméterekben nem volt szignifikáns különbség. Ezzel szemben a vérlemezke szám mind a kontroll, mind az operált csoportban szignifikánsan csökkent, és a beavatkozás után további változások voltak megfigyelhetők ($p < 0,001$ vs. kontroll vena femoralis, $p = 0,015$ vs. kontroll vena portae, $p < 0,001$ vs. kontroll vena renalis)

4.2.2. Vörösvérsejt deformabilitás

A 3 Pa-nál mért elongációs index eredmények szignifikáns különbségeket mutattak a kontroll és az anastomosis csoport között a beavatkozás után ($p < 0,001$ vs. kontroll arteria femoralis, $p < 0,001$ vs. kontroll vena femoralis, $p < 0,001$ vs. kontroll vena portae, $p < 0,001$ vs. kontroll vena renalis), és az anastomosis csoportban minden mintavételi pont szignifikánsan csökkent a műtét előtti értékekhez képest. Ez a különbség (bár kisebb mértékben) fennállt az EI_{max} paraméter esetében is, mely érték az elongációs index-nyírófeszültség görbe maximumát jellemzi ($p = 0,001$ vs. műtét előtti mérések). A műtét után csak a portális minta mutatott szignifikáns különbséget ($p = 0,045$ vs. kontroll vena portae). Az $SS_{1/2}$ paraméterek a műtét után az anastomosis csoportban romlottak a szisztémás és a portális mintavételi pontok esetében ($p = 0,008$ vs. arteria femoralis, $p < 0,001$ vs. vena femoralis, $p = 0,003$ vs. vena portae), de a két vizsgálati csoport közötti különbség nem mutatott szignifikáns eltérést. A két paraméter aránya ($EI_{max}/SS_{1/2}$) a műtét után enyhén emelkedett, főként a vena portae és a vena renalis mintában ($p = 0,001$ vs. műtét előtt), a szisztémás mintákban enyhe romlás volt tapasztalható.

4.2.3. Ozmotikus gradiens deformabilitás

Az ozmotikus gradiens deformabilitási értékek tekintetében az EI min paraméter enyhe csökkenést mutatott minden vérvételi ponton, de a legszembetűnőbb különbség a műtét utáni vena portae minta esetében volt tapasztalható ($p < 0,001$ vs. kontroll vena portae, $p = 0,001$ vs. műtét előtt). Ez a csökkenő tendencia az EI max paraméter esetében is látható volt. A legnagyobb fokú különbségek az arteria és vena femoralis, valamint a vena portae esetében voltak megfigyelhetők ($p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p = 0,001$ vs. kontroll arteria femoralis, $p = 0,002$ vs. kontroll vena femoralis, $p < 0,001$ vs. kontroll vena portae).

Hyperozmoláris környezetben a vörösvérsejtek deformálhatósága az anastomosis csoportban is romlott, de csak a vena femoralisból származó minta mutatott szignifikáns különbséget a kontrollcsoportéhoz képest ($p = 0,033$ vs. kontroll vena femoralis). A minták ozmolalításával kapcsolatos paraméterek (O min, O (EI max), O hyper) szintén színes eltérést mutattak, elongációs eredményekhez hasonló mintázatot találtunk az eredmények megoszlásában. A legmarkánsabb változásokat az O (EI max) és O hyper eredmények esetében lehetett megfigyelni, főként a portális mintákban a műtét után.

A görbe alatti terület (Area) jól jellemzi a különböző vérvételi pontokból származó minták osmoscan görbéinek méretét és alakját. Minél kisebb ez az érték, annál rosszabb a deformálhatóság. A műtét után három vérvételi ponton (arteria és vena femoralis, vena portae) szignifikáns romlás volt megfigyelhető, és ez a különbség akkor is látható volt, ha ezeket az eredményeket összehasonlítjuk a kontroll csoport eredményeivel.

4.2.4. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio legmarkánsabb növekedését az M1 5 s és az M 10 s paramétereknél tapasztaltuk a vena renalisból származó vérmintákban (Rel. M1 5 s: $p < 0,001$ vs. műtét előtti és kontroll; Rel M10 s: $p < 0,001$ vs. műtét előtti és kontroll). A kontroll csoportban a vörösvérsejt aggregatio minden vizsgált paramétere csak minimális ingadozást mutatott. Figyelemreméltó, hogy a portális és a vena renalisból vett vérminták minden aggregációs paramétere szignifikánsan magasabb volt, mint a kiindulási és a kontroll csoporté.

4.2.5. Vérgáz, sav-bázis és metabolikus paraméterek

A pO_2 a bélműtét után minden esetben csökkent az anastomosis csoportban, főként az arteria femoralis és a portális mintavételi helyeken (a. femoralis: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p = 0,005$ vs. kontroll; v. portae: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p < 0,001$ vs. kontroll). A pCO_2 a műtét után emelkedtek az alap mérésekhez és a kontroll eredményekhez képest (v. femoralis: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p = 0,005$ vs. kontroll; v. portae: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p < 0,001$ vs. kontroll; v. renalis: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p < 0,001$ vs. kontroll). A pH-eredmények nem mutattak nagy eltérést a vérvételt követően a különböző vérvételi pontok között, csak a v. femoralisból származó vérminta esetén volt megfigyelhető kismértékű változás a műtét után. A bikarbonát koncentráció a portális és a renális mintákban szignifikánsan csökkentek a műtét után ($p < 0,001$ vs. műtét előtt), de a kontrollcsoporthoz képest nem volt szignifikáns különbség.

A nátrium- és kálium koncentráció az anastomosis csoportban jelentősen nőtt, míg a kalcium- és kloridion-koncentráció nem változott szignifikánsan. A várakozásoknak megfelelően a glükózsintek a műtét során (mind a kontroll-, mind az anastomosis csoportban) kissé megemelkedtek: az anastomosis csoport portális és renalis mintáiban ez a növekedés szignifikáns bizonyult ($p = 0,045$ vs. műtét előtt). A laktát szinteket vizsgálva azt találtuk, hogy a műtét hatására szignifikáns emelkedés mutatkozott, és ez a különbség a kontrollcsoporthoz képest is szignifikánsan eltérő volt (arteria femoralis: $p = 0,011$ vs. műtét előtt, $p = 0,002$ vs. kontroll; vena femoralis: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p < 0,001$ vs. kontroll; vena portae: $p < 0,001$ vs. műtét előtt; vena renalis: $p < 0,001$ vs. műtét előtt, $p < 0,001$ vs. kontroll). A vizsgálat során a kreatinin szintek kismértékű, nem szignifikáns emelkedése volt megfigyelhető.

A pH és a laktát koncentráció változásai korreláltak a vörösvérsejtek deformálhatóságának és aggregációjának változásaival. A pH csökkenésével az EI_{max} értékek is csökkennek ($p=0,003$, $R^2=0,151$). A laktátkoncentráció növekedésével a vörösvérsejtek deformálhatósága romlott ($p<0,001$, $R^2=0,773$). A vörösvérsejtek aggregációs indexei szintén korreláltak a pH- és a laktát értékekkel. Általánosságban elmondható, hogy a vörösvérsejtek aggregációs értékei a laktátkoncentráció növekedésével ($p<0,001$, $R^2=0,823$) és a pH csökkenésével ($p=0,002$, $R^2=0,343$) nőttek.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. A VÖRÖSVÉRSEJTEK OZMOTIKUS GRADIENS DEFORMABILITÁSÁNAK FAJOK KÖZTI VÁLTOZATOSSÁGÁNAK VIZSGÁLATA

Az élő szervezetek ozmoregulációs folyamatai összetettek, és ezen folyamatok végleges funkciójának eléréséhez hosszú evolúciós út vezetett. Az ozmoreguláció az elektrolit- és vízegyensúly (ozmotikus egyensúly) fenntartásának kulcsfontosságú folyamata, amely lehetővé teszi az élőlények számára, hogy a külső környezeti változások ellenére fenntartsák a belső folyadékháztartás egyensúlyát és az oldott anyagok koncentrációját. A különböző szervezetek eltérő mechanizmusokat alkalmaznak az ozmoregulációra, amelyeket elsősorban ozmokonformátorok és ozmoregulátorok kategóriájába sorolnak. Az emlősök homeosztázisa nem csak a sejtmembránokon (beleértve a vörösvérsejtek membránját is) átívelő általános ozmotikus állapot szabályozására fejlődött ki, hanem a fontos elektrolitok specifikus koncentrációjának szabályozására is a három fő folyadékcompartmentben: a vérplazmában, az intersticiális folyadéktérben és az intracelluláris térben. A szervezet vízháztartása számos patofiziológiai folyamat következtében eltolódhat. A plazma ozmolalitás csökkenése figyelhető meg hyponatrémia, hyperhidráció és SIADH esetén. Ezzel szemben krónikus veseelégtelenség, ketoacidózis, dehidráció, hipernatremia és egyéb exogén anyagok jelenlétében az ozmolalitás emelkedik. A vörösvérsejtek osmoscan (elongációs-index-ozmolalitás) görbéjének alakjában is különbségek figyelhetők meg különböző betegségekben, különösképpen haematológiai kórképekben (pl. öröklött spherocytosis, β -thalassaemia, esszenciális thrombocytaemia, polycythaemia vera, öröklött stomatocytosis, myeloproliferatív haematológiai malignitások).

A fajok közötti haemorheológiai különbségeket régóta tanulmányozzák, és a variációk széles spektrumát tárták fel, amelyet számos tényező (élettani paraméterek, a környezeti feltételek és az alkalmazott specifikus módszerek) befolyásolnak. Ezek a vizsgálatok gyakran érdekes, színes különbségeket mutattak ki a fajok között, bár jellemzően nem rendelkeztek pontos vagy következetes magyarázatokkal, így a mögöttes mechanizmusok tekintetében még

sok a megválaszolatlan kérdés. Ennek ellenére az egyik kulcsfontosságú terület, amely viszonylag kevés figyelmet kapott, az ozmotikus gradiens deformabilitás fajok közötti eltérése. A meglévő szakirodalomban feltűnően kevés adat található erre a témára vonatkozóan, így ez a haemorheologia egyik kevésbé megértett aspektusa. Ebben a leíró-összehasonlító tanulmányban korábbi kutatásainkra igyekeztünk építeni, az elemzésbe bevont fajok körének bővítésével. Emellett célunk az ozmotikus mérések átfogóbb és részletesebb vizsgálata, ami véleményünk szerint értékes betekintést nyújthat a fajok közötti árnyalt haemorheológiai jellegzetességekbe. Ez a kibővített irányvonal hozzájárul a szakirodalomban lévő hiányosságok pótlásához, és segíthet tisztázni az ozmotikus gradiens deformabilitás szerepét.

Az irodalmi adatokhoz és korábbi publikációinkhoz hasonlóan megfigyeltük, hogy a különböző emlősfajok vörösvérsejtjei különbözőképpen deformálódnak nyíróerők hatására, és az erythrocyták aggregációja és aggregabilitása is eltér a fajok között. A legmagasabb EI értékek egér és kutya vérben voltak megfigyelhetőek, jellemzően 1 Pa nyírófeszültség felett. Ezzel szemben patkányokban kissé alacsonyabb értéket mutattunk ki, sertés és macska mintákban ez az eltérés fokozódott, míg a legalacsonyabb EI adatokat juhok vérben észleltük, többnyire 3-5 Pa nyírófeszültség felett. Emberben, juhban és macskában az EI-SS görbék morfológiája nagyfokú eltérést mutatott a többi vizsgált fajhoz tartozó osmoscan görbéhez képest. Az ozmotikus gradiens ektacytometriás mérés során kapott elongációs index értékekben is megfigyelhető volt a fajok közötti változatosság. A vörösvérsejtek deformálhatóságában az állatfajok között jelentős és sokrétű különbségek mutatkoznak, amelyeket számos tényező, többek között a sejtek szerkezete, a membrán összetétele és a fiziológiai adaptációk befolyásolnak. A legújabb tanulmányok megvilágították ezeket a különbségeket, árnyaltabb képet adva arról, hogyan viselkednek a különböző fajok vörösvérsejtjei mechanikai terhelés hatására. A kutatások azt igazolják, hogy a vörösvérsejtek deformálhatósága jelentősen eltér az emlősök között. A lovak vörösvérsejtjei például nagyfokú deformálhatóságot mutatnak, az EI értéke alacsony nyírófeszültség esetén 0,047, magas nyírófeszültség esetén pedig 0,541 között változik. Ehhez képest a kutya vörösvérsejtjei hasonló körülmények között 0,035 és 0,595 közötti EI-értékeket mutatnak. A juhfélék (juhok) vörösvérsejtjei azonban lényegesen alacsonyabb deformabilitást mutatnak, az EI-értékek 0,005 és 0,400 között mozognak, ami arra utal, hogy vörösvérsejtjeik kevésbé rugalmasak, amikor hasonló nyírófeszültségnek vannak kitéve.

Az osmoscan görbékben az EI min és O min által meghatározott pont részben a klasszikus ozmotikus fragilitási vizsgálatokkal hozható összefüggésbe. Az ozmotikus fragilitási adatok széles fajközi eltéréseiről fellelhetőek információk a szakirodalomban. Az ozmotikus

gradiens ektacytomtriás mérések közben sejtek elkezdenek megrepedni, de a fragmentált sejtek nagysága és száma ezzel az eszközzel nem határozható meg helyesen. Ezért az ozmotikus fragilitási teszttel való egyértelmű összehasonlítás nem lehetséges. A maximális EI ponttól balra megjelenő görbe része azonban a sejtek rugalmas tulajdonságait tükrözi, mivel azok az ozmolalítás csökkenésével megduzzadnak. Mivel a sejtek felület-térfogat aránya és alakja megváltozik, deformálhatóságuk csökken.

A fajok közötti különbségek tekintetében a sejtterfogat, a sejtek alakja, a membrán viszkozitása és a rugalmas tulajdonságok, valamint a sejtmembrán vízáteresztő képességei a fajokra jellemző sajátosságként sorolhatók fel. O (EI max) esetén a vörösvérsejtek adott nyírófeszültség mellett maximálisan deformálódhatnak, ami a sejtek számára optimális ozmoláris állapotot jelent. Az ozmolalítás növekedésével a sejtterfogat csökken az intracelluláris viszkozitás és sűrűség növekedésével, valamint a sejt felület-térfogat arány változásával. Az eredmény ismét csökkenő nyúlás és romló deformálhatóság. Mivel az MCHC és az MCV az állatokban nagyfokú változatosságot mutat, ez a paraméter az osmotikus különbségek fontos magyarázatául is szolgál. Fontos megemlíteni azt is, hogy az osmoscan adatok, sőt az elongációs index-ozmolalítás görbék alakja is nyírófeszültségfüggő. Ahogy az alkalmazott nyírófeszültség csökken, az osmoscan görbék balra mozognak, a hyperozmolális tartományban alakjuk depresszáll, csökken. Ennek a jelenségnek a nagysága is fajon belüli különbségeket mutat.

A vörösvérsejtek deformálhatóságának fajonkénti eltérései nem csupán tudományos érdeklődésre tartanak számot - fontos élettani és klinikai vonatkozásaik vannak. A fajok különböző alkalmazkodási módokat fejlesztettek ki a környezeti igényekre, például a fizikai megterhelés szintjére vagy a környezeti stresszoroknak való kitettségre adott válaszként. Ezek az adaptációk gyakran a vörösvérsejtek fokozott deformálhatóságában nyilvánulnak meg, lehetővé téve a hatékonyabb oxigénszállítást és tápanyagszállítást a nagyobb metabolikus igényű állatokban. Klinikai szempontból e fajok közötti különbségek megértése létfontosságú az állatorvostudomány és az összehasonlító élettan számára. A vörösvérsejtek deformálhatóságának megismerése segíthet a különböző fajok vérrrel kapcsolatos rendellenességeinek diagnosztikájának és kezelési stratégiáinak javításában. Eredményeink segíthetik az adatok extrapolálását és összehasonlíthatóságát a klinikai vizsgálatok felé is, hiszen a különböző méretű, morphológiájú és eltérő biomechanikai tulajdonságokkal bíró vörösvérsejtek tanulmányozása hasznos információt szolgáltat a haematologiai rendellenességekben előforduló kóros sejtek micro-rheologiai vonatkozásaihoz is.

5.2. LOKÁLIS ÉS SZISZTÉMÁS MICRO-RHEOLOGIAI VÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA KÍSÉRLETES VÉKONYBÉL ANASTOMOSIS KÉSZÍTÉSE SORÁN

A haemorheologiai paraméterek *in vivo* változásait nagyon nehéz vizsgálni. *Ex vivo* mintákon történnek a mérések, holott számos tényező befolyásolja a macro- és micro-rheologiai paramétereket. A mintavétel helye, a változások dinamikája különösen fontos kérdés számos kórfolyamat kísérletes vagy klinikai vizsgálatában. Sebészeti patofiziológiai folyamatokban a beavatkozásokkal szükségszerűen együtt járó hatások, az altatás, az immobilizáció, a vérzés, alkalmazott folyadékterápia, anticoagulánsok, és sok más tényező együttesen alakítja a képet. Mindezeket komplexitásukban kell vizsgálni.

Munkánk során azt elemeztük, hogy a hasi műtétek miként befolyásolhatják a macro- és micro-rheologiai paramétereket, és hogy ezek a faktorok különböznek-e, ha a műtét különböző szakaszaiban eltérő vérvételi pontokról vételezünk mintát. Az elmúlt évtizedekben a modern mérőmódszerek alkalmazása az általános haemorheologiai tulajdonságokra vonatkozó ismeretek jelentős növekedéséhez vezetett. Az adatok betekintést adnak a vörösvértsejtek deformálhatóságának és aggregációjának lokális és szisztémás változásaiba is különböző patofiziológiai körülmények között, mint a gyulladásos kórképek, sepsis, ischaemia-reperfusio, illetve az érrendszert érintő műtéti beavatkozások. A minimális mintamennyiségek és fejlett módszerek alkalmazása lehetőséget nyitott az artériák és vénák közötti micro-rheologiai eltérések mélyreható kutatására.

A vérvételi technikák és helyek szabványosítása ugyanilyen fontos a kísérleti sebészeti és mikrosebészeti kutatási modellek esetében is. A vérvétel előtt figyelembe kell vennünk a fajt, a genetikai hátteret, a súlyt, a nemet, az életkort, azt, hogy milyen gyakran és mennyi vért szeretnénk venni, és hogy milyen vérvételi pontokat használjunk. A keringő vér mennyisége faj- és testsúlyfüggő. A sertéseknél fajtától függően 56-69 ml keringő vér van jelen az állatokban testtömeg-kilogrammonként. Általában a keringő vérmennyiség 10%-a komplikációk nélkül levehető. Ezen kritériumok betartásával az általunk vizsgált paraméterek megbízhatóan leírják a beavatkozás hatását: a kutatásunkban használt állatoknak körülbelül 1100 mL keringő vérük volt, amelyből a vizsgálat során csak körülbelül 28 mL-t vettünk le.

A haematologiai paramétereket vizsgálva azt találtuk, hogy a műtét után az összes vérvételi pontnál leukocytaszám alacsonyabb volt, míg a vörösvérsejtszám, az átlagos corpuscularis térfogat és a haematocrit emelkedett. A legjelentősebb változásokat a portális és a vena renalis mintavételi helyeken tapasztaltuk. Vizsgálatunkban a korábbi kutatásokhoz hasonló mintázatot fedeztünk fel, az artériás vérben alacsonyabb fehérvérsejtszámot figyeltünk

meg. Feltételezhető, hogy ez a különbség a leukocyták eloszlásából, keringésben mutatkozó distribúciójából ered vagy a vérvétel sorrendjének köszönhető (az utolsó mintavételi hely a hasi aorta volt). Ugyanakkor a szisztémás vénás és portális vénás vérmintákban is magasabb vörösvérsejtszámot, haematocritot és vérlemezkesszámot figyeltünk meg.

Az osmoscan mérések lehetővé teszi továbbá az vörösvérsejt deformabilitás és az olyan kulcsfontosságú paraméterek közötti összefüggések feltárását, mint az átlagos corpuscularis térfogat (MCV) és az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció (MCHC). Összességében az osmoscan értékes eszköz az vörösvérsejt deformabilitás fiziológiás és patológiás állapotokkal való összefüggéseinek átfogó tanulmányozásához.

A vörösvérsejtek deformálhatóságára és az ozmotikus gradiens deformálhatóságára vonatkozó adatok tekintetében ebben a kísérletben egyértelmű különbségek voltak megfigyelhetők az artériás, a szisztémás és a portális vénás vér között. Figyelemre méltó, hogy az artériás vér mutatta a legalacsonyabb elongatiós index értékeket, míg a szisztémás vénás vér a legmagasabbakat. A portális vér viszont a kettő közötti EI-értékekkel rendelkezett. Továbbá az operált csoportban az anastomosis után szignifikánsan nagyobb csökkenést tapasztaltunk, mint a kontroll csoportban. A legnagyobb változásokat ebben az esetben az artériás és a portális mintákban figyeltük meg.

Számos, egymással összefüggő tényező járulhat hozzá a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenéséhez, ami potenciálisan hatással lehet a szövetek perfúziójára. A gyulladás a gyógyulási folyamat kulcsfontosságú része, de befolyásolhatja a vörösvérsejtek micro-rheológiai tulajdonságait, ami csökkent deformálhatósághoz vezethet. A vérvesztéssel, esetleges transfúzió során az idősebb vagy sérült vörösvérsejtek bevitele tovább hozzájárulhat a deformálhatóság csökkenéséhez. A műtét során a vérnyomás és a folyadékkegyensúly fenntartása érdekében a nagy mennyiségű intravénás folyadék beadása miatt bekövetkező haemodilútió szintén hatással lehet az vörösvérsejtek deformálhatóságára. Az altatással, műtéttel együtt járó akut fázis reakciók mindehhez hozzáadódnak az oxigenizáció szint, sav-bázis és metabolikus hatások mellett. Az esetleges hypoxia szintén ronthatja a vörösvérsejtek deformabilitását. A műtét során alkalmazott altatószerek, gyógyszerek, kontrasztanyagok közvetlenül vagy közvetve szintén befolyásolhatják a vörösvérsejtek deformabilitását, ami hozzájárulhat a megfigyelt változásokhoz.

A vörösvérsejtek aggregációra vonatkozó adatai markáns különbségeket mutattak. A négy változó (M és M1 index értékek 5 s és 10 s-nál) eltérései azonban nem mutattak hasonló mintázatot. Mindazonáltal az aggregációs index értékek minden esetben szignifikánsan magasabbak voltak a bél-anastomosis befejezése után, mint a kontroll csoportban. A

legjelentősebb mértékű eltérés a portális és a renális mintákban volt megfigyelhető. A fentebb részletezett hatások mellett az áramlási profilban bekövetkező változások, a sejteket érő mechanikus stressz hatása sem zárható ki.

A vörösvérsejtek deformálhatóságában és aggregációjában bekövetkező lokális és szisztémás változások feltárásához olyan tényezők, mint a sejtek oxigénellátása, a vér pH-értéke és a laktát koncentráció, döntő fontossággal bírnak. A rouleaux-képződés sebessége pozitívan korrelál a növekvő pH-val, a legalacsonyabb sebességet az oxigén/nitrogén és nitrogén/szén-dioxid inkubáció, a legmagasabbat pedig a levegő és nitrogén inkubáció során figyelték meg *in vitro*. Uyuklu és munkatársai vizsgálták az oxigenizáció vagy deoxigenizáció hatását a vörösvérsejtek aggregációjára és deformálhatóságára, és azt találták, hogy az oxigenizált mintákban alacsonyabb volt az aggregatio és jobb a deformálhatóság, mint az deoxigenizált mintákban. Ezek az eredmények alapvető fontosságúak a laboratóriumi mérési technikák finomításához és a mintavételi és kezelési feltételek szabványosításához.

Eredményeinket tekintve, ahogy az élettani megfontolások alapján várható is volt, az artériás vérminták mutatták a legmagasabb pO_2 -értékeket, míg a vese- és szisztémás vénás vérmintákban alacsonyabb értékeket figyeltük meg. A legalacsonyabb pCO_2 -értékeket az artériás vérben, a legmagasabbakat a vénás vérben regisztráltuk, a portális vérminták pedig a kettő közé estek. A vér pH-ja hasonlóságot mutatott a szisztémás és a portális vénás vér között; mind a glükóz-, mind a laktát koncentráció azonban alacsonyabb volt a szisztémás vénás és az artériás vérmintákban. Ezek az összefüggések megvilágítják a haemorheológiai tényezők és a metabolikus állapot közötti összetett kapcsolatot. Az eredmények arra utalnak, hogy a vér pH-jának és laktát szintjének változásai hatással lehetnek a vörösvérsejtek micro-rheológiai tulajdonságaira, ami befolyásolja a szöveti perfúziót.

6. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

1. Széles körű faji összehasonlításban vizsgálhattuk a vörösvérsejtek ozmotikus gradiens deformabilitását. A szakirodalomban elsőként közöltünk vörösvérsejt osmoscan adatokat az ember és hét emlős faj összehasonlításában, kimutatva e paraméterek változatosságát, jellegzetes elongációs index – ozmolalitás görbéit.
2. Új adatokkal megerősítettük, hogy a vörösvérsejtek ozmotikus gradiens deformabilitási paraméterei az optimálistól alacsonyabb ozmolalitás tartományban leginkább az átlagos corpuscularis térfogattal (MCV), a magasabb ozmolalítású tartományban az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentrációval (MCHC) korrelálnak jól.
3. Kimutattuk, hogy a micro-rheológiai paraméterek arterio-venosus különbségek mellett eltérőek a portális és renális vénás vér összehasonlításában is, amely különbségeket elsősorban az oxigenizációs szint, a pH és a laktát koncentráció befolyásol. A bél-anastomosis műtét azonnali micro-rheológiai változást okozott, kísérletünkben portális vénás dominanciával.
4. A pH és a laktát koncentráció változásai korreláltak a vörösvérsejtek deformálhatóságának és aggregációjának változásaival. Adataink szerint a pH csökkenésével és a laktát koncentráció emelkedésével a vörösvérsejtek deformálhatósága romlik, aggregabilitásuk fokozódik.

6.1.Hitelesített publikációs lista



**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/546/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Varga Ádám
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10076783

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Baráth, B., Fazekas, L., Brasil, F. S., Mehta, A., Ványolos, E., Deák, Á., Lesznyák, T., Pető, K., Németh, N.: Local and Systemic Micro-Rheological Changes during Intestinal Anastomosis Operation: a Metabolic Dependence in an Experimental Model. *Metabolites*. 14 (8), 2-15, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo14080458>
IF: 3.4 (2023)
2. **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Baráth, B., Deák, Á., Horváth, L., Németh, N.: Interspecies Diversity of Osmotic Gradient Deformability of Red Blood Cells in Human and Seven Vertebrate Animal Species. *Cells*. 11 (8), 1-15, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/cells11081351>
IF: 6

További közlemények

3. **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Fazekas, L., Al-Khafaji, M. Q., Ványolos, E., Deák, Á., Szentkereszty, Z., Pető, K., Németh, N.: Changes in microcirculation of small intestine end-to-end anastomoses in an experimental model. *Microvasc. Res*. 156, 1-8, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2024.104731>
IF: 2.9 (2023)
4. Mátrai, Á. A., **Varga, Á.**, Fazekas, L., Baráth, B., Nellamkuzhi, N. J., Nghi, T. B., Németh, N., Deák, Á.: Effect of Bile on Hemodynamics and Blood Micro-Rheological Parameters in Experimental Models of Bilhemia. *Metabolites*. 14 (4), 1-13, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo14040211>
IF: 3.4 (2023)





5. Mátrai, Á. A., **Varga, Á.**, Baráth, B., Ványolos, E., Orbán-Kálmándi, R. A., Lóczi, L., Bagoly, Z., Jouppila, A., Lassila, R., Németh, N., Deák, Á.: Heparin-like effect of a dual antiplatelet and anticoagulant (APAC) agent on red blood cell deformability and aggregation in an experimental model.
J Thromb Thrombolysis. [Epub ahead of print], 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-024-03040-8>
IF: 2.3 (2023)
6. Al-Smadi, M. W., Fazekas, L., **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Aslan, S., Beqain, A., Al-Khafaji, M. Q. M., Baráth, B., Novák, L., Németh, N.: Minor micro-rheological alterations in the presence of an artificial saphenous arteriovenous shunt, as an arteriovenous malformation model in the rat.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 87 (1), 27-37, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-231825>
IF: 2.1 (2023)
7. Fazekas, L., Szabó, B., Szegeczki, V., Fillér, C., **Varga, Á.**, Godó, Z., Tóth, G., Reglődi, D., Juhász, T., Németh, N.: Impact Assessment of Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) and Hemostatic Sponge on Vascular Anastomosis Regeneration in Rats.
Int. J. Mol. Sci. 24, 1-24, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms242316695>
IF: 4.9
8. Baráth, B., **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Pocsai, K., Németh, N., Deák, Á.: Estradiol Valerate Affects Hematological and Hemorheological Parameters in Rats.
Metabolites. 12 (7), 602, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo12070602>
IF: 4.1
9. Szabó, B., Gasz, B., Fazekas, L., **Varga, Á.**, Kiss-Pápai, L., Matolay, O., Rezsabek, Z., Al-Smadi, M. W., Németh, N.: Heterogeneous Maturation of Arterio-Venous Fistulas and Loop-Shaped Venous Interposition Grafts: a Histological and 3D Flow Simulation Comparison.
Biomedicines. 10, 1-14, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10071508>
IF: 4.7
10. Gál, K., Veres, K., Halmi, S., Bozoki-Beke, K., Fekete, K., Homoki, J., Gálné Remenyik, J., Baráth, B., **Varga, Á.**, Németh, N., Soltész, P.: The effect of rheopheresis treatment on the cytokine profile in diabetic foot syndrome with hyperviscosity in the aspect of clinical changes: a preliminary study.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 80 (2), 117-125, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-211188>
IF: 2.1





11. Szántó, S., Módy, T., Némethné Gyurcsik, Z., Babják, L. B., Somogyi, V., Baráth, B., **Varga, Á.**, Mátrai, Á. A., Németh, N.: Alterations of Selected Hemorheological and Metabolic Parameters Induced by Physical Activity in Untrained Men and Sportsmen.
Metabolites. 11, 1-12, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11120870>
IF: 5.581
12. Baráth, B., Somogyi, V., Tánzos, B., **Varga, Á.**, Bereczky, Z., Németh, N., Deák, Á.: Examination of the relation between red blood cell aggregation and hematocrit in human and various experimental animals.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 78 (2), 187-198, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-211109>
IF: 2.411
13. Körei, C., Szabó, B., **Varga, Á.**, Baráth, B., Deák, Á., Ványolos, E., Hargitai, Z., Kovács, I., Németh, N., Pető, K.: Hematological, Micro-Rheological, and Metabolic Changes Modulated by Local Ischemic Pre- and Post-Conditioning in Rat Limb Ischemia-Reperfusion.
Metabolites. 11 (11), 776, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/metabo11110776>
IF: 5.581
14. Mátrai, Á. A., Varga, G., Tánzos, B., Baráth, B., **Varga, Á.**, Horváth, L., Bereczky, Z., Deák, Á., Németh, N.: In vitro effects of temperature on red blood cell deformability and membrane stability in human and various vertebrate species.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 78 (3), 291-300, 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3233/CH-211118>
IF: 2.411
15. Szabó, B., Tánzos, B., **Varga, Á.**, Baráth, B., Ghanem, S., Rezsabek, Z., Al-Smadi, M. W., Németh, N.: Micro-rheological changes of red blood cells in the presence of an arterio-venous fistula or a loop-shaped venous graft in the rat.
Front. Physiol. 11, 1-12, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.616528>
IF: 4.566

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 56,45

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 9,4

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, 2024.11.04.



7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretném megköszönni a sok segítséget témavezetőmnek, **Prof. Dr. Németh Norbert** tanszékvezető úrnak, aki 2019 óta, Tudományos Diákköri munkám kezdetétől, témavezetőként támogatott és biztatott. Köszönöm, hogy kutatásaim elvégzéséhez lehetőséget biztosított és szakmailag támogatott bennük. Köszönöm, hogy vezetése alatt végezhettem PhD munkámat.

Köszönettel tartozom **Dr. Somogyi Viktória** tanársegédnőnek, aki Tudományos Diákköri munkám során társ-témavezetőként példát mutatva segítette előre tudományos tevékenységemet. Köszönöm, hogy együtt dolgozhattunk, jelentős motiváció volt számomra.

Szeretném megköszönni **Prof. Dr. Mikó Irénnek, Dr. Pető Katalinnak Dr. Ványolos Erzsébetnek és Dr. Deák Ádámnak** a szakmai tanácsaikat, javaslataikat.

Hatalmas köszönettel tartozom **Mátrai Ádám Attila, Füzesi Róbert, Dr. Szabó Balázs** és **Dr. Fazekas László Ádám** jelenlegi és volt kollégáimnak, jóbarátaimnak, akik mindig és mindenben mellettem álltak és támogattak. Köszönöm az együtt töltött percekét és támogatásukat a nehéz időszakokban is.

Köszönettel tartozom volt kollégánőmnek, **Dr. Bedőcs-Baráth Barbarának** a sok segítséget, amivel hozzájárult disszertációm megszületéséhez.

Köszönetet szeretnék mondani a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi munkatársának, hogy baráti környezetben tölthettem mindennapjaimat és végezhettem munkámat.

Nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani **Családtagjaimnak** és **Barátaimnak** szeretetükért és önzetlen támogatásukért ezen hosszú évek alatt. Tengernyi köszönettel és hálával tartozom **Szüleimnek, Testvéremnek** és **Menyasszonyomnak**, akik segítették tanulmányaimat, békés és meghitt háttérrel biztosítottak, s minden megpróbáltatás során mellettem voltak, hittek bennem és erőt adtak, amikor szükségem volt rá.

Támogatások:

NKFI-1 "OTKA" K-139184 és ÚNKP-22-3-II-DE-308