

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**Hemodinamikai és hemoreológiai változások *E. coli*
szuszpenzióval indukált fulmináns szepszis modellen**

Dr. Berhész Marianna

Témavezetők:

Dr. Fülesdi Béla

az MTA doktora

Dr. Németh Norbert

az MTA doktora



DEBRECENI EGYETEM

Idegtudományi Doktori Iskola

Debrecen, 2021

Hemodinamikai és hemoreológiai változások E. coli szuszpenzióval indukált fulmináns szepszis modellen

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében

a klinikai orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Berhés Mariann, általános orvos

Készült a Debreceni Egyetem Idegtudományi doktori iskolája
keretében

Témavezetők: Prof. Dr. Fülesdi Béla, az MTA doktora

Prof. Dr. Németh Norbert, az MTA doktora

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Darvas Katalin, PhD

Dr. Ujhelyi László, PhD

A doktori szigorlat időpontja (online formában): 2021. 07. 21. 11:00 óra

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Csontos Csaba, PhD

Dr. Veres Katalin, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Antal Miklós, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Dr. Darvas Katalin, PhD

Dr. Ujhelyi László, PhD

Prof. Dr. Csontos Csaba, PhD

Dr. Veres Katalin, PhD

Az értekezés védésének időpontja (online formában): 2021. 07. 21. 13:00 óra

A nyilvánosságot online módon biztosítjuk. Amennyiben részt kíván venni, úgy jelezze a berhes.marianna@med.unideb.hu e-mail címre küldött üzenetben a vitát megelőző munkanap (2021. július 20.) 16 óráig. A határidő lejártát követően technikai okok miatt már nincs lehetőség a védéshez kapcsolódni.

Bevezetés

Az utóbbi évtizedben a szepszis incidenciája növekvő tendenciát mutat. Németországban 2007. és 2013. között évente 15%-kal növekedett az incidencia, a kórkép mortalitása 30,5%, mely évente átlagosan csak 0,8%-kal csökken, az intenzív terápia fejlődésének dacára. A magas incidencia és halálozási adatok mellett elhanyagolható a szeptikus betegek kezelésének magas költségigénye sem, amelynek becsült összege 2013-ban Németországban 9,1 billió Euro volt, amely az az egészségügyi költségvetés 3%-át teszi ki.

Tekintettel arra, hogy a fejlődő és alacsony bevételű országokból adatok csak részben érhetőek el, a szepszis globális incidenciája és halálozási mutatói nem ismertek. Egy 2016-ban megjelent tanulmány becslése alapján 31,5 millió szepszis fordul elő világszerte, ebből 19,4 millió súlyos, mely 5,3 millió halálesethez vezet évente. Jean-Louis Vincent és munkacsoportja 2019-ben publikált egy metanalízist, mely során 2005. január 1-től 2018. február 20-ig megjelent megfigyelésen alapuló szepszis és szeptikus sokk mortalitási frekvenciával foglalkozó európai és észak-amerikai tanulmányok adatait összesítették a Cochrane adatbázisa alapján. Az átlagos mortalitás 37,3% volt az intenzív osztályokon, míg a kórházi mortalitás 39%. Amennyiben a szeptikus sokkot a Sepsis-3 konszenzus kritériumai alapján diagnosztizálták, az intenzív osztályos és kórházi becsült mortalitás 51,9% illetve 52,1% volt.

A szeptikus folyamat egy, a szervezet által adott generális válaszreakció, de a kórkép közel sem homogén. Mivel a szepszis kialakulásának pontos patomechanizmusa nem ismert, a megismeréshez olyan kutatások vihetnek közelebb, melyeknek célja a szindróma kórélettani hátterének és kezelési lehetőségeinek pontosabb megismerése. Erre szolgálnak a különböző szeptikus állatmodellek.

Értekezésemben a szepszissel, valamint a szeptikus állatmodellekkel kapcsolatos összefoglalót követően saját szeptikus állatmodellünk során nyert eredményeinket foglalom össze.

Célkitűzések

Jelenlegi munkánk egy összetett kutatási terv részét képezi, melynek célja az E. coli indukálta szepszis létrehozása során a sertésmodellben létrejövő hemodinamikai, hemosztazeológiai, hemoreológiai és cerebrovaszkuláris komponensek változásának vizsgálata volt. Tekintettel arra, hogy az eddigi szeptikus állatmodellekben a humán szepszis során alkalmazott emelt szintű hemodinamikai monitorozást alig alkalmazták,

- elsődleges feladatként tűztük ki az intravénásan adott E. coli szuszpenzió indukálta korai szepszis szisztémás hemodinamikai változásainak leírását PiCCO monitor paraméterei segítségével.
- Vizsgálataink következő célja annak tanulmányozása volt, hogy az általunk választott modellben korai szepszis során milyen, a mikroreológiai viszonyokat érintő változások jönnek létre.

Módszerek

Kísérleti állatok, és kísérleti protokoll

Az állatkísérleti engedélyt a Debreceni Egyetem Állatjóléti Bizottsága regisztrálta és hagyta jóvá (kísérleti engedély száma: 21/2013. UD CAW) a Magyar Állatvédelmi Törvény XVIII/1998 és a 40/2013 Magyar Kormány Rendelet alapján, mely megfelel az Európai Unió irányelveinek (2010/63/EU).

Kísérletünk során összesen harmincegy egészséges nőstény Hungahib sertést használtunk. Az állatok átlagos kora 10-12 hét volt. A sertéseket véletlenszerűen két csoportra osztottuk: a hemodinamikai mérések esetében kontroll csoport (n=15) és szeptikus csoport (n=16); a hemoreológiai vizsgálatok esetében kontroll csoport (n=4), szeptikus csoport (n=5). Az állatok súlya átlagosan a kontroll csoportban 18,9 (16,7-20,4) kg, a szeptikus csoportban 18,9 (18,9-20,6) kg volt. Az átlagos testhossz a kontroll csoportban 92 (83,5-97,2) cm, a szeptikus csoportban 92 (85-98,2) cm volt.

Általános anesztéziában hajtottuk végre a kísérleteket, mely során 15 mg/ttkg Ketamint és 1 mg/ttkg Xylazint kaptak az állatok intramuszkulárisan. Az anesztézia fenntartása a fájdalmas stimulusokra bekövetkező vegetatív jelek, szívfrekvencia és vérnyomás emelkedés alapján történt, amennyiben szükséges volt, a Ketamin és Xylasin dózist ismételtük. Az anesztézia indukciója után tracheosztomiát végeztünk, melyen keresztül endotracheális tubust helyeztünk a légcsőbe. A bal oldali véna jugularis interna és a bal oldali artéria femoralis sebészi preparációja után artériás és vénás kanült vezetünk be, melyeken keresztül a későbbiek során a kísérleti vérmintákat vettük, valamint a hemodinamikai méréseket ezek segítségével kivitelezünk. Az endotracheális tubus behelyezése után nyomástámogatott gépi lélegeztetést (Airox Legendair Ventilator, PAU CedexFrance) folytattunk a kísérlet ideje alatt. A gépi lélegeztetés célja 100-130 Hgmm-es artériás parciális oxigén nyomás és 35-45 Hgmm-es artériás parciális szén-dioxid nyomás biztosítása volt. A műtőhelyiség hőmérséklete megközelítőleg 25 °C volt, a sertések alá melegítő párnát helyeztünk, mellyel az állatok 37°C-os maghőmérsékletét biztosítottuk. A vizeletürítést szuprapubikusan behelyezett cisztosztómás hólyagkatéteren keresztül biztosítottuk. Az állatok ezen kívül semmilyen terápiás beavatkozásban nem részesültek. A beadott intravénás folyadék mennyisége a szeptikus csoportban megfelelt a beadott E. coli szuszpenzió volumenének, amit a kontroll csoportban fiziológiás sóoldattal helyettesítettünk.

A szeptikus csoport állatainak intravénásan fiziológiás sóban szuszpendált *Escherichia coli* kultúrát ($2,5 \times 10^5$ /ml; ATCC 25922, Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézet) adtunk folyamatosan emelve a beadott mennyiséget. A protokollnak megfelelően az az első 30 percben 2 ml fiziológiás sóban szuszpendált baktérium kultúrát, majd a következő 30 percben 4 ml baktérium kultúrát adtunk. Ezt követően 32 ml baktérium kultúrát adtunk 120 perc alatt. Így $9,5 \times 10^6$ össz dózisu E. coli-t adtunk be 180 perc alatt. A helyi laboratóriumban végzett teszt alapján az élő baktériumok száma ennyi idő után még stabil maradt.

A szeptikus csoport állatain, tekintve a fatális infekciót, halálukig végeztük a vizsgálatokat. Mindkét csoport egyedeit 8 órán keresztül obszerváltuk, kivételt képeztek azok az esetek, amikor a kísérleti állat korábban elpusztult. A kísérlet végén az állatokat túlaltattuk.

A vizsgálat során az intravénásan adott fiziológiás sóoldaton és nyomás kontrollált lélegeztetésen kívül folyadék reszuszcitáció, gyógyszeres, vagy egyéb terápiás beavatkozás nem történt.

Hemodinamikai mérések

A hemodinamikai változókat transzpumonális termodilúciós és pulzus contour analízis technikával mértük. Ehhez PiCCO™ (PULSION Medical Systems AG, Munich, Germany) készüléket használtunk. A hemodinamikai méréshez a bal oldali véna jugularis externát és a bal oldali artéria femoralist kanüláltuk. A kanülok a hemodinamikai mérések mellett mintavételi helyként is szolgáltak. A sebészi intervenciók után az állatok egy órás stabilizációs perióduson estek át, mely után megkezdtük a kísérleti protokoll következő fázisát. A szisztémás hemodinamikai változók mérése termodilúcióval történt, melyhez 4 F vastagságú, 8 cm hosszú PiCCO® katéter (Pulsion Medical System AG, München, Németország) használatával történt. A termodilúció során 10 ml hideg só oldatot ($T < 8^{\circ}\text{C}$) fecskendeztünk be a centrális vénás kanülon keresztül óránként, ezzel a pulzus kontúr analízist is rendszeresen kalibráltuk. A szívfrekvenciát (HR), az artériás középnyomást (MAP) invazívan monitoroztuk az artéria femoralis katéteren keresztül. Az indexek képzéséhez a sertés testfelszín meghatározásához a Meeh formulát használtuk:

$\text{BSA (body surface area)} = 8,58 \times \text{BW (body weight)}$

A PiCCO paraméterek közül a cardiac index, stroke volumen variáció (SVV), globális végdiasztolés térfogat, globális ejekciós frakció, extravaszkuláris tüdővíz index és szisztémás vaszkuláris rezisztencia index került rögzítésre.

Adatgyűjtés

Az első mérést a szepszis indukciója előtt, az úgynevezett nyugalmi fázisban (resting state – RS) végeztük. Ezt követően a mérések az E. coli szuszpenzió vagy a fiziológias sóoldat injektálását követően 60 percenként történtek az állat haláláig. A mért adatokat T60-tól T360-ig rögzítettük. A T60 időpontban 2+4 ml E. coli szuszpenzió vagy sóoldat injektálása fejeződött be. A T120 illetve 180 időpontban 2x16 ml E. coli szuszpenzió injektálását, azaz a tervezett 38 ml E. coli oldat szepszis indukciós protokollt befejeztük.

Statisztikai analízis

A statisztikai analízis során az SPSS 19,0-et (SPSS Chicago, IL) használtuk. A folyamatos változók normál eloszlásának verifikálásához Kolgomorow-Smirnov tesztet alkalmaztunk. A paraméterek nagy része nem mutatott normál eloszlást, az adatokat medián és interquartilis tartományban prezentáltuk, majd a megfelelő non-parametrikus teszttel (Mann-Whitney Rank Sum Test) összehasonlítottuk a csoportokat. A csoporton belüli, a különböző paramétereken a beavatkozás hatására történt változások analízise repetitív ANOVA mérésekkel történt. A változók közötti korreláció számításához Spearman korrelációt használtunk. Szignifikáns eltérésként a $p < 0,05$ értéket határoztuk meg.

Hemoreológiai mérések

A hemoreológiai mérésekhez összesen 9 sertést vontunk be a vizsgálatba, kontroll csoport ($n=4$) és szepsztikus csoport ($n=5$) esetszámmal. A kísérleti állatok antikoaguláns kezelésben nem részesültek. A centrális vénás kanül és az artéria femorális kanül behelyezése után a két kanülből párhuzamosan vérmintát vettünk. Ez a minta (a továbbiakban alapminta) szolgált az alapméréshez. Közvetlenül $\text{K}_3\text{-EDTA}$ (1,5 mg/ml) tartalmú kémcsőbe történt a mintavétel, a

későbbiek során ebből végeztük az összes laboratóriumi vizsgálatot. Kivételt képzett a szedimentációs mérésekhez használt vénás vérminta, ahol 0,109 M nátrium-citrátot használtunk antikoagulálás céljából. A további artériás és vénás vérmintavétel a szepszis indukciója után 2, 4, 6 és 8 órával történt. A laboratóriumi mintavételek időpontjában a maghőmérsékletet (centrális vénás T [$^{\circ}\text{C}$]), az artériás középnyomást (MAP [Hgmm]), szívfrekvenciát (HR [1/perc], és az oxigén szaturációt (Sat [%]) is rögzítettük.

In vitro study: Az élő baktérium jelenlétének hatása a vér reológiai tulajdonságaira

Két állatból vettünk alapmintát a vizsgálathoz. A mintákat két szubmintára osztottuk, melyekhez a szepszis indukcióhoz használt E. coli szuszpenzió 50 illetve 100% dózisát adtuk, az in vivo vizsgálatnak megfelelően 60 m/ttkg keringő vérvolumennel kalkulálva. Az E. coli hozzáadását követően 15-20 perc múlva, valamint 120 perces szobahőmérsékleten történő inkubációt követően mikroeológiai vizsgálatokat - vörösvérsejt deformabilitás és aggregáció, ozmotikus gradiens ektacitometria- vizsgálatot végeztünk.

Laboratóriumi vizsgálatok (in vivo)

Hematológiai tulajdonságok

A hematológiai paraméterek meghatározásához Sismax F-800 félautomata mikrosejt számlálót (TOA Medical Electronics Co., Japan) használtunk. A fehérvérsejtszámot (WBC [$\times 10^3/\mu\text{l}$]), vörösvérsejt számot (RBC [$\times 10^6/\mu\text{l}$]), a hematokritet (Htc [%]), az átlagos korpuszkuláris térfogatot (MCV [fl]), az átlagos hemoglobin tartalmat (MHC [pg/l]) és a trombocita számot hasonlítottuk össze.

Eritrocita szedimentációs ráta és leukocita anti-szedimentációs ráta

A nátrium-citrát alvadésgátolt vénás vérmintákat tartalmazó kémcsöveket vertikális pozícióba helyezve gravitációs szedimentációt végeztünk. 60 percet követően a szabályos eritrocita szedimentációs rátát regisztráltuk. A leukocita anti-szedimentációs ráta (LAR) meghatározásához a véroszlop felső és alsó részét óvatosan szeparáltuk, és mindkét mintában megmértük a fehérvérsejt számot. A LAR-t a Bogár-formula alapján kalkuláltuk.

$$\text{LAR} = 100 \times (\text{WBC}_{\text{felső}} - \text{WBC}_{\text{alsó}}) / (\text{WBC}_{\text{felső}} + \text{WBC}_{\text{alsó}})$$

Vér és plazma viszkozitás

Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel (Hemorex Ltd. Hungary) történtek a mérések a mintavételt követő 60 percen belül 37°C -on. A plazmát 800g fordulatszámon centrifugáltuk 10 percig. A teljes vér viszkozitás (WBV [mPas]) értékeket 90 s^{-1} nyíróerőn hasonlítottuk össze egymással, melyet a Mátrai formulának megfelelően korrigáltuk 40%-os hematokrit értékre.

$$\text{Mátrai formula: } (\text{WBV}_{40\%}/\text{PV})^{40\%/\text{Htc}}, \text{ ahol}$$

WBV_{40%}: 40%-os hematokritra korrigált teljes vér viszkozitás

PV: plazmaviszkozitás

Htc: a minta aktuális hematokrit értéke

Vörösvérsejt deformabilitás

LoRRca MaxSis Osmoscan-nel (Mechatronics BV, Hollandia) történt a deformabilitás meghatározása. 5 µl térfogatú vérmintát tettünk 1 ml izotóniás polyvinyl-pyrrolidone (PVP) oldathoz (360 KDa PVP normál phosphate puffertelt sóoldat; viszkozitás=27mPas, ozmolalitás=290-300 mOsm/kg, pH=7,3). 0,3-30 Pa közötti nyíró feszültség (SS) módban a lézer diffrakciós mintázat változásának megfelelően határoztuk meg az elongációs indexet (EI). Az elongációs index egyenlő a $(L-W)/(L+W)$ hányadossal, ahol a L megfelel a hosszúságnak, a W a szélességnek a diffraktogrammon. Minél nagyobb a vörösvérsejt deformabilitása, annál nagyobb az EI értéke. A mérések 37 °C-on történtek. Lineweaver-Burk analízist végeztünk az EI-SS görbék összehasonlításával a maximális elongációs index (EI_{max}) és a fél EI_{max} -nál lévő nyíró feszültség ($SS_{1/2}$ [Pa]: $1/EI = SS_{1/2}/EI_{max} \times 1/SS + 1/EI_{max}$) kalkulálásához. A későbbiekben kiszámítottuk az $EI_{max}/SS_{1/2}$ arányt is. (210) Az ozmotikus gradiens ektacitometria, vagy osmoscan vizsgálathoz 250 µl vért kevertünk óvatosan 5 ml PVP oldathoz. Konstans 30 Pa nyírófeszültségen az elongációs index értékeket folyamatosan határoztuk meg az ozmolalitás fokozatos 0-ról 500 mosmol/kg-ig történő emelése mellett. Az eszköz által analizált paraméterek mellett megmértük a minimális elongációs indexeket alacsony ozmotikus környezetben (minimal EI), a maximális elongációs index értékeket (maximal EI), az ezekhez tartozó ozmolalitás értékeket (minO és maxO, mint „optimális” ozmolalitás), és meghatároztuk az egyedi elongációs index- ozmolalitás görbe alatti területet (AUC). A továbbiakban olyan paramétereket is meghatároztuk, amelyek segítségével a minEI és maxEI közötti fázist jellemeztünk ozmolalitás függvényében: deltaEI a maxEI és min EI közötti különbség; deltaO, az ozmolalitás különbség a maxEI és minEI értékhez tartozó ozmolalítások között; valamint a deltaEI/deltaO arányt.(211)

Vörösvérsejt aggregáció

A Myrenne MA-1 eritrocyta aggregometert (Myrenne GmbH, Németország)használtuk az aggregációs indexek meghatározásához, melynek működése a fényáteresztő képességen alapul: M (0 s⁻¹ nyíró arányon) és M1 (3 s⁻¹ nyíróarányon) 5 vagy 10 másodperccel a diszaggregáció után. Az indexek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) növekednek a fokozott vörösvérsejt aggregációval. A LoRRca műszer syllectometriás méréstechnikáját szintén alkalmaztuk a következő vörösvérsejt aggregációs paraméterek meghatározásához: amplitudó (Amp [au]); aggregációs index (AI [%]); aggregációs félidő ($t_{1/2}$ [s]). (212).

Statisztikai analízis

A kapott adatokat átlag és standard deviációnak megfelelően interpretáltuk. Az eredmények normál eloszlásának megfelelően a csoportok közötti (kontrol versus szeptikus) összehasonlítást Student-t vagy Mann-Whitney RS teszt alapján végeztük. A csoporton belül nyert adatok összehasonlítása az alapértékekkel one-way ANOVA teszttel (Dunn vagy Bonferroni módszer) történt. A p esetében az eredményt 0,05 alatti értéknél tekintettük statisztikai értelemben szignifikánsnak.

Eredmények

Hemodinamikai mérések

A 16 szeptikus állatból kettő a szepszis indukció kísérleti protokoll megkezdését követően, két állat 2 óra, öt sertés 3 óra, három 4 óra múlva, egy 6 óra múlva pusztult el. A szeptikus és kontroll csoport hemodinamikai paraméterei az E coli szuszpenzió injektálása előtt statisztikailag hasonlóak voltak. (1. táblázat) A kontroll sertésekben a hemodinamikai változók relatív stabilak voltak a vizsgálati periódusban. Az artériás középnyomás érték a hatodik órában csökkent, míg a szisztémás vaszkuláris rezisztencia index az ötödik órától emelkedett. A szeptikus csoportban a szeptikus sokk a 176. percben (IQR:60-263) alakult ki

az E. coli szuszpenzió injektálásának kezdetétől. Az artériás középnyomás értékei az idő függvényében fokozatosan csökkentek, míg a pulzus frekvencia növekedett az E. coli injektálását követően.

Az áramlási paraméterek változását vizsgálva a cardiac index csökkenése volt tapasztalható. A szisztémás vaszkuláris rezisztencia index átmeneti növekedést mutatott a harmadik órában, de visszatért a kiindulási értékre a későbbi vizsgálati periódusban. A pulzus kontúr analízise során a stroke volumen variancia szignifikáns emelkedést mutatott a globális végdiasztolés volumen index (térfogat paraméter) nem szignifikáns csökkenése mellett. Az extravaszkuláris tüdővíz index növekvő tendenciát mutatott, míg a globális ejekciós frakció a vizsgálat során csökkent.

Hemoreológiai vizsgálatok eredményei

A hemoreológiai mérésekben résztvevő sertés alcsoport hemodinamikai és mortalitási jellemzői

A hemoreológiai mérésekhez összesen kilenc állat mintáiból nyert adatokat elemeztük. A szeptikus csoportban (n=5) lévő valamennyi kísérleti állat esetében fulmináns szepszis volt megfigyelhető és 3-7 órán belül elpusztultak (2 állat a 3-4. órában, 3 állat a 6-7. órában). A szeptikus csoport esetében a szívfrekvencia emelkedett, az artériás középnyomás csökkent. A szívfrekvencia/MAP arány szignifikáns csökkenést mutatott mind a kontrol csoporttal, mind pedig a szeptikus csoporton belül a kiindulási értékekkel összehasonlítva. Az E. coli oldat injektálásának kezdetétől eltelt 6 óra múlva a p érték < 0,001 a szeptikus csoporton belüli, míg p = 0,004 a kontrol csoporttal történt statisztikai analízis során. A kontroll csoport egyedeinél a kísérlet ideje alatt stabil hemodinamikai paramétereket mértünk.

Hematológiai paraméterek

A totál leukocita szám a szeptikus csoportban mind az artériás, mind a vénás mintában folyamatosan csökkenő tendenciát mutatott. A 4. és 6. órában szignifikánsan alacsonyabb volt mint a kiindulási értékhez, mind a kontrol csoporthoz viszonyítva (p < 0,001). A kontrol csoport esetében egy konstans emelkedés volt megfigyelhető a kísérleti periódus végére. A monocyta-granulocita % mindkét csoportban enyhe emelkedést mutatott, de ez nem érte el a szignifikáns különbséget.

A vörösvérsejtszám csaknem konstans maradt, de a kísérlet 6. órájában megemelkedett a hematokrit értékkel párhuzamosan a szeptikus csoportban. A csoportok között szignifikáns különbség volt kimutatható a vörösvérsejtszám emelkedésben a kísérlet 6. órájában az artériás és a vénás mintában is. Az MCV értékek minimálisan magasabbak voltak a szeptikus csoportban a kontrol csoporttal összehasonlítva.

A trombocita szám dominánsan csökkent a szeptikus állatokban, szignifikáns különbség alakult ki az E. coli szuszpenzió injektálás megkezdésének 6. órájában a csoportok között és a szeptikus csoporton belül is a kiindulási értékhez képest.

Eritrocita szedimentációs ráta és leukocita anti-szedimentációs ráta

Az eritrocita szedimentációs ráta (ESR) állandó maradt a kontroll csoport állataiban a kísérlet végéig. A szeptikus állatok esetében lépcsőzetes emelkedést mutatott a 4. óráig, majd

csökkenni kezdett. A leukocyta anti-szedimentációs ráta minden 2. órában végzett analízis során 15-20%-os csökkenést mutatott. A csökkenés mértéke szignifikáns különbséget mutatott a kontroll csoporthoz képest is; a 2. órában $p=0,031$, a 4. órában $p=0,05$, a 6. órában $p=0,049$ értékkel.

A vér és plazma viszkozitás

A teljes vér viszkozitás (WBV) közepesen csökkent a kontroll csoport állataiban a kísérleti időszak alatt, de eközben a plazma viszkozitása lényegesen nem változott. A 40%-os hematokritra korrigált WBV értékekben lényegi eltérés sem a kontroll, sem a szeptikus állatok esetében nem volt. A szeptikus csoportban a teljes vér viszkozitás a 4. órában kezdett emelkedni, a plazma viszkozitása viszont folyamatos csökkenést mutatott.

Vörösvérsejt deformabilitás

A vörösvérsejt deformabilitás romló tendenciát mutatott a szeptikus csoport állataiban. A két óránként levett artériás és vénás vérmintákban az $SS_{1/2}$ fokozatosan nőtt, míg az $EI_{max}SS_{1/2}$ arány fokozatosan csökkent. Ugyanakkor ez a változás nem volt szignifikáns. Az artériás és vénás vérminták összehasonlítása során a deformabilitásban számottevő változást nem észleltünk.

Az osmoscan által mért paramétereket vizsgálva a minEI értékek folyamatos növekedést mutattak a szeptikus állatokban, kifejezettebben az artériás vérmintákban. A kísérlet 6. órájában a kontroll csoporttal összevetve a p érték 0,047 volt. Az AUC nagyobb eltéréseket mutatott. Már a szepszis indukció után két órával csökkenni kezdett, majd a későbbiekben is folytatta ezt a tendenciát. A deltaEI értékek fokozatosan csökkentek, főleg a szeptikus állatok artériás vérmintáiban, míg al deltaO lépcsőzetes emelkedést mutatott a megfigyelési periódus 6. órájáig. A deltaEI/deltaO arány markánsabb eltérést mutatott, fokozatosan csökkent, kifejezettebben az artériás mintákban.

Vörösvérsejt aggregáció

A szeptikus csoportban a vörösvérsejt aggregációs index (AI%) csaknem konstans maradt a szepszis indukciót követő 4. óráig, majd csökkenni kezdett. A 6. órában vett minták vizsgálata során a kiindulási értékekkel és a kontroll csoport azonos idejű értékeivel összevetve a csökkenés mértéke szignifikáns volt. A p érték $< 0,001$ a csoporton belüli, $p = 0,003$ a kontrollhoz viszonyított artériás minták és $p=0,11$ a csoporton belüli és $p=0,02$ a kontroll vénás minták esetében. Ez a változás a vénás minták esetében volt kifejezettebb. Az amplitudó értékek markáns arterio-venozus különbséget mutattak mind a szeptikus, mind a kontroll csoportban. A csökkenés kifejezettebb volt a vénás vérmintákban, a szignifikancia szintet már a szepszis indukciót követő 2. órában elérte (2. óra: $p=0,001$ vs. kiindulási vénás minta; 4. óra: $p<0,001$ vs. kiindulási vénás minta; 6. óra: $p=0,02$ vs. kiindulási artériás minta és $p=0,043$ vs. kontroll csoport artériás minta; 6. óra: $p<0,001$ vs. kiindulási vénás minta és $p=0,029$ vs. kontroll csoport vénás minta). A $t_{1/2}$ idő megnyúlt, valamint emelkedett a 6. órában a szeptikus sertésekben csoporton belül ($p<0,001$ vs. kiindulási minta) és a kontroll csoporthoz ($P=0,003$ vs. kontrol csoport) viszonyítva a vénás minták ($p=0,02$ vs. kiindulási minta; $p=0,002$ vs. kontroll csoport) és az artériás minták esetében is.

A Myrenne agglomerációval mért paraméterek esetében szintén egy csökkenő tendencia volt megfigyelhető a szeptikus állatok esetében a 4. és 6. órában. A különbség szignifikánsnak bizonyult a 6. órában a '5 sec M' (artériás minta: $p<0,001$ vs. kiindulási minta és kontroll csoport; vénás minta: $p=0,001$ vs. kiindulási minta és $p=0,002$ kontroll csoport; arterio-

venózus különbség: $p=0,003$), '5 sec M1¹ (artériás minta: $p=0,027$ vs. kiindulási minta; vénás minta: $p<0,001$ vs. kiindulási minta és $p=0,023$ vs. kontroll csoport), '10 sec M' (artériás minta: $p=0,022$ vs. kiindulási minta, és $p=0,028$ vs. kontroll csoport; vénás minta: $p<0,001$ vs. kiindulási minta és kontroll csoport) index értékeinek esetében. A '10 sec M1' esetében csak a vénás mintáknál találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,027$ vs. kiindulási érték; arterio-venózus különbség: $p=0,00053$)

Az in vitro vizsgálat eredményei

A fél dózis E.coli szuszpenzió 5-6%-os csökkenést okozott a vörösvérsejt számban, míg a teljes dózis esetén ez 13-15%-os volt. A két órás inkubációs időt követően az értékek enyhén emelkedést mutattak. A vörösvérsejtek eloszlási szélessége (RDW-CV%) csak a keverés után változott, az inkubációs periódust követően fél dózis baktérium után 4-5%, a teljes dózis után 9-10% növekedés volt látható. Az MCV értékének a változása nem haladta meg a 2-4%-ot.

Az aggregációs paraméterek fél dózis E. Coli szuszpenzió után enyhén csökkentek, míg a teljes dózis után valamennyi aggregációs paraméter romlani kezdett: az aggregációs index % és a Myrenne index értékek markánsan csökkentek, mely kifejezettebb lett a két órás inkubációs időt követően. Ugyanakkor a vörösvérsejt deformabilitás közepesen romlott.

Megbeszélés

A szepszis továbbra is egy heterogén, nehezen differenciálható klinikai kórkép, melynek mortalitása a javuló terápiás lehetőségek ellenére is igen magas. Egy 2016-ban készült tanulmány globálisan próbálta a szepszis incidenciáját és mortalitását megbecsülni az utolsó 10 év adatai alapján. A feldolgozott adatok szerint évente világszerte 31,5 millió septicus, és 19,4 millió súlyos septicus beteg kezelése várható, mely 5,3 millió esetben halálos kimenetelű. Egy fontos mérföldkő lehet a hatékony gyógyszeres terápia fejlesztésében szepszis esetén egy megfelelő állatmodell létrehozása, mely a humán szepszis lefolyását és patomechanizmusát tökéletesen utánozza. Sajnos a legtöbb jelenleg erre a célra alkalmazott állatmodell félrevezető megállapításokat eredményez. Ennek egyik fontos oka, hogy a szepszis során a trauma vagy infekció hatására létrejövő génexpressziók jelentősen eltérnek a leggyakrabban alkalmazott kísérleti faj, az egér esetében, a humán génexpressziótól. Egy másik fontos tényező, hogy számos, a kísérleteknél alkalmazott állatfaj, egér, vagy pávián, rezisztens a bakteriális lipopoliszacharidokra, míg a humán szervezet ezekre kifejezetten szenzitív. Jelen vizsgálatunk során bakterémia modell által hoztunk létre gram negatív szepszist Hungahib sertésekben. A sertés modell jól használható a humán szepszis kutatásban, összehasonlítva a rágcsálókkal anatómiai és fiziológiai sajátosságai megközelítik a humán jellemzőket. A sertések mérete lehetővé teszi a humán klinikumban használt eszközök és monitorok használatát, és a megfelelő vérvolumenük miatt alkalmasak az ismételt mintavételekre és összehasonlító analízisekre, anélkül, hogy ez jelentősen befolyásolná a hemodinamikai paramétereket és a minták minőségét. Nem elhanyagolható, hogy a sertések szenzitivitása a lipopoliszacharidokra hasonló a humán érzékenységhöz, összevetve pl. az egerek rezisztenciájával. A vizsgálat során a szepszis korai hemodinamikai és hemoreológiai

konzekvenciáit vizsgáltuk anélkül, hogy bármilyen terápiás beavatkozást végeztünk volna, azaz tulajdonképpen a spontán szepszis kórlefolyást kívántuk tanulmányozni. A szepszis indukciójához $2,5 \times 10^5$ csíraszámú E. coli szuszpenziót alkalmaztunk, $9,5 \times 10^6$ összdózisban. Számtalan szeptikus állatmodell létezik, mely során különböző technikát alkalmaznak a szepszis indukciójára. Az általunk használt bakterémia modell folyamatosan emelkedő koncentrációjú élő E. coli szuszpenzió intravénás injektálásával indukál szepszist. Hasonló metódust használtak Thorlesen és Castellheim munkacsoportjai is. Castellheim alacsony (4×10^9 baktérium összdózis) és magas (16×10^9 baktérium összdózis) dózisú élő E. coli szuszpenziót injektált vénásan és intrapulmonálisan emelkedő koncentrációban viszonylag rövid időperiódus alatt sertésekbe, mely modell segítségével gram-negatív szepszist imitáltak. Hemodinamikailag a szeptikus csoportot markáns pulmonáris artériás nyomásemelkedés és szisztémás vérnyomásesés jellemezte. A hiperakutan kialakult pulmonális hipertenzió ideje szoros összefüggésben állt az E. coli infúzió kezdetével és a súlyossága közvetlenül összefüggött az adagolás rátájával. A szepszis kialakulását a hemodinamikai változók mellett az interleukin (IL)-10, IL-12, a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF) és a thrombin–antithrombin komplex (TAT) koncentrációjának emelkedése is megerősítette. Az általunk végzett vizsgálat során a korai fulmináns szepszis hemoreológiai és hemodinamikai hatásainak vizsgálatára fektettük a hangsúlyt. Sertésekben intravénás E. coli-val indukált szepszis modellen jelen ismereteink alapján nem vizsgálták eddig a korai hemoreológia eltéréseit, illetve hemodinamikai változásokat PiCCO monitor használatával.

A cardiac output monitorozás bevált módszer a klinikumban a kritikus állapotú betegek hemodinamikai monitorozására és a folyadék, vazopresszor és inotrop kezelés optimalizálására. Sertés szepszis modell hemodinamikai eltéréseinek vizsgálatára Schuerholz és munkacsoportja már sikeresen alkalmazta a folyamatos pulzus kontur cardiac output (PiCCO) monitorozást, de vizsgálatuk célja az eszköz pontos működéséhez szükséges kalibráció gyakoriságának meghatározása volt. A szepszis indukcióhoz coecotomia során nyert autológ széket jutattak vissza a hasüregbe, a szepszis kialakulásának bizonyítéka a pozitív hemokultúra volt. Barett és munkatársai polivalens immunglobulin hatását vizsgálta szeptikus sertés modellen E. coli intravénás infúzióját követően, melynek során artériás középnyomás és szisztémás vaszkuláris rezisztencia index csökkenést, valamint szívfrekvencia emelkedést figyeltek meg. Pulmonális artériás katétert (PAC) alkalmazott a hemodinamikai monitorozásra Pranskunas és munkacsoportja, szintén intravénás E. coli infúzióval létrehozott szepszis modellen. Méréseik során a cardiac index a felére csökkent, a szisztémás vaszkuláris rezisztencia megduplázódott a szepszis indukcióját követően. Chvojka és munkacsoportja peritonitis indukálta sertés szepszis modellt használták a kísérletük során. Méréseiket a peritonitis indukciója után 12, 18 és 22 óra múlva végezték. A hemodinamikai monitorozáshoz szintén pulmonális artériás katétert (PAC) használták. Szignifikáns eltérést a hemodinamikai paraméterek mérése kapcsán az obszerváció 12. órájában figyeltek meg, mely csökkent artériás középnyomás, cardiac output és szisztémás vaszkuláris rezisztencia, valamint emelkedett pulmonális artériás középnyomás és pulmonális éknyomás formájában jelentkezett. A hemodinamikai eltérések mellett pH csökkenést, IL-6 és TNF-alfa emelkedést is tapasztaltak. Ez a peritonitis indukálta szepszis modell relatíve gyorsan vezetett szepszis kialakulásához.

Az általunk nyert eredmények jól összehasonlíthatóak az előbbi szeptikus sertés vizsgálatokkal. Vizsgálatunk során a szeptikus sokk kialakulása folyamatában az artériás középnyomás és a cardiac index csökkenését figyeltük meg, emelkedő tendenciájú pulzusszámmal. Emellett szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a stroke volumen variáció értékében a szeptikus állatok esetében. Itt kell azonban megjegyezni, hogy a kísérletünk során

nem adtunk intravénás folyadékot az állatoknak, mivel a szepszis során bekövetkező hemodinamikai változások természetes lefolyását tanulmányoztuk terápiás intervenciók nélkül. Ez a magyarázata annak, hogy a kontroll csoport állatainál szintén észleltünk egy lassú artériás középnyomás csökkenést. Ha a kontroll állatok artériás középnyomás esését a kiindulási értékkel összevetettük, ez statisztikailag szignifikánsnak bizonyult, de a MAP értékek egy viszonylag stabil, 96-103 Hgmm-es tartományban maradtak. Az állatok anesztéziáját ketamin-xylazin kombinációval végeztük. Mivel a cardiac index analízise során a kísérlet ideje alatt a kontroll csoportban statisztikailag szignifikáns eltérést nem észleltünk, így a gyógyszerek okozta kardiodepresszív hatás kizárható volt.

Korábban több tanulmány is bizonyította, hogy az élő *E. coli* baktérium intravénás infúziójával korai kardiovaszkuláris összeomlást és a kísérleti állat korai halálát lehet okozni. Tracey és munkatársai páviánok esetében vizsgálta a cachectin (tumornekrózis faktor alfa, TNF-alfa) szerepét a septicus sokkban. Ehhez a kísérletükhöz letális dózisú (LD₁₀₀) élő *E. coli* szuszpenziót infundáltak a septicus sokk indukciójához. A kontroll csoport állataiban ennek hatására hipotenzió, letális vese- és pulmonáris elégtelenség alakult ki. Ugyanezen modell esetében az állatok előkezelése TNF-alfa monoklonális antitesttel javította az állatok hemodinamikai paramétereit és a túlélést. Kis emlős állatokban az *E. coli* alacsony dózisban több órán keresztül injektálva minimális hemodinamikai eltéréseket okozott, de magasabb dózisban bifázisos választ váltott ki. A korai cardiac output emelkedést a szepszis későbbi fázisában cardiac output csökkenés követte. Szintén páviánok esetében szubletális és letális dózisú *E. coli* injektálása után Taylor és munkacsoportja figyelte meg súlyos disszeminált intravaszkuláris koagulopátia kialakulását, melyhez komplex inflammatorikus és hemosztatikus válasz társult. Ez magába foglalta a mikrovaszkulatura endotéljának és az antikoagulációs rendszernek a károsodását is. A folyamat összességében többszervi diszfunkcióhoz vezetett. Dehring és munkatársai által sertéseken végzett vizsgálat során *E. coli*, *P. aeruginosa* (Gram-negatív) és *S. aureus* (Gram-pozítív) baktériumok injektálása után hasonlították össze a kiváltott szepszis következményeit. Azt tapasztalták, hogy amíg a gram-pozítív baktérium minimális változást okozott a kiindulási állapothoz képest, az *E. coli* és *P. aeruginosa* sokkot és akut respiratorikus elégtelenséget váltott ki. Egy septicus juh modellben a nem letális dózisú *E. coli* hiperdinám kardiovaszkuláris választ provokált hipotenzióval, megnövekedett cardiac output-tal, tachikardiával. Kutyaiban mind a szubletális és a letális dózisú élő *E. coli* súlyos kardiovaszkuláris károsodást okozott hipotenzióval, nagyon alacsony cardiac output-tal, splanchnicus hipoperfúzióval, és súlyos metabolikus zavarral. Az említett korábbi szepszis modellek alapján látható, hogy az intravénásan injektált *E. coli* által kiváltott hemodinamikai választ jelentősen befolyásolja a kísérlethez használt állatfaj is.

Az egyértelmű, hogy az intravénás *E. coli* infúzió után kialakult septicus sokk karaktere eltér az egyéb septicus kísérleti modellektől. Az általunk létrehozott fulmináns septicus sokk során egy fázisú hipodinám keringési paraméterek voltak megfigyelhetőek. Más szepszis modellek bifázisos válasszal jellemezhetőek, mely során először egy hiperdinám keringés alakul ki megnövekedett cardiac index-szel és cardiac output-tal, alacsony artériás középnyomással és szisztémás vaszkuláris rezisztencia index-szel. A későbbi, úgynevezett hipodinám fázisban pedig alacsony cardiac output és szisztémás vaszkuláris rezisztencia figyelhető meg.

Úgy tűnik, hogy az *E. coli* által kiváltott gyulladásos válasz közvetlenül a miokardium kontraktilitását befolyásolja. A cardiac index és a globális ejekciós frakció csökkenéséhez vezet a folyamat során, mely a hipodinám keringés vezető oka lehet. A hipodinám keringési válasz hatására kísérletünk során megfigyelhető volt egy azonnali mikrocirkulációs károsodás is, már a baktérium infúzió korai szakaszában. Ugyanakkor a cerebrális perfúzió intakt

maradt. Az is megfigyelhető volt, hogy a romló hemodinamikai státusz miatt a laktát szint emelkedni kezdett, melyet a magvas vörösvérsejtek számának emelkedése követett, mely egyértelmű szöveti hipoxiát jelzett. Ebben a formában az intravénás E. coli infúzió egy fulmináns hipodinám szepszist váltott ki sertés modellünkben, mely szöveti hipoperfúzióhoz és hipoxiához vezetett. Wester és munkatársai inaktivált N. meningitidist használtak sertésekben szepszis indukciójához. A nyelv és a bőr mikrocirkulációjának vizsgálata esetében a szepszis indukció után 200 perccel alakultak ki a szepszis egyértelmű jelei. Ez az inkubációs idő jól összevethető a saját kísérletünkben tapasztalttal, mely során a fulmináns szepszis jelei az élő baktérium infúzió kezdetétől számított 2-4. órára datálhatók.

A szeptikus kardiomiopátia kialakulása jelenleg még nem teljesen tisztázott, annak ellenére, hogy 40 éve ismert probléma. Számos tanulmány alapján a szepszis során kialakult szeptikus kardiomiopátia akár 2-3-szoros mortalitás növekedést is okozhat. A feltételezett mechanizmusok az inflammatorikus citokinek közvetlen miokardiumra kifejtett hatása, miokardium ödéma, megnövekedett oxidatív stressz, és az adrenerg receptorok csökkent expressziója, melyek szisztolés és diasztolés diszfunkcióhoz, valamint üregrendszeri dilatációhoz vezetnek. Az általunk végzett kísérlet során erre utalhat a csökkenő tendenciájú stroke volumen index mellett a cardiac index és a globális ejekciós frakció csökkenése is.

A hemodinamikai paraméterek mellett kísérletünk célja a hemoreológiai paraméterek változásának vizsgálata is volt a korai fulmináns szepszis folyamán. Számos tanulmány közölt megállapításokat az elmúlt évtizedekben a szepszis mikrocirkulációra és reológiai paraméterekre kifejtett hatásairól. Ezek közül a legtöbb a mikoreológiai állapot romlásáról számol be, úgy, mint csökkent vörösvérsejt deformabilitás, fokozott vörösvérsejt aggregáció. A szepszis során a vörösvérsejt deformabilitást sok tényező befolyásolja. A 2,3-difoszfoglicerát a belső viszkozitást és a membrán viszkoelaszticitását növeli. A nitrogén-monoxid megváltoztatja a sejt kalcium homeosztázisát, megnövelve az intracelluláris szabad Ca^{2+} ionok mennyiségét. A szíalsav mennyisége szepszis során csökken a vörösvérsejt membránjában, mely által megváltozik a sejt alakja, romlik a deformabilitás és növekszik a vörösvérsejt aggregáció. A fehérvérsejtek szabad oxigén gyököket, peroxidázokat, proteázokat szabadítanak fel, melyek megváltoztatják a membrán struktúrát, ezáltal rontva a deformabilitást, és fokozva az aggregációt.

Kísérletes szepszis vizsgálata során Baskurt és munkatársai szeptikus és nem szeptikus patkányok vörösvérsejtek edotoxinnal történt inkubálása után demonstrálták, hogy a mikrohemoreológiai jellegzetességek, mint amilyen a vörösvérsejt deformabilitás vagy vörösvérsejt aggregáció, vizsgálata során a hőmérséklet, melyen a méréseket végzik, befolyásolja a kapott eredményeket. 37°C-on ektacitometrival végzett mérés során szignifikáns csökkenést figyeltek meg az elongációs index esetében. (36) Singh és Stolz egészséges önkéntesek vörösvérsejtjeit vizsgálva az elongációs index szignifikáns csökkenését igazolta a hőmérséklet 37°C-ról 5 °C-ra változtatása során. Piagnerelli és munkatársai szeptikus és egészséges vörösvérsejtekkel végzett flowcytometriás vizsgálatot. Megállapították, hogy a szeptikus vörösvérsejtek alakja kevésbé bikonkáv, inkább szferikus karakterű, de a minta hőmérséklete a vörösvérsejtek alakját nem befolyásolta .

Több vizsgálat is történt az egészséges és szeptikus vörösvérsejtek mikoreológiai paramétereinek összehasonlítására. Reggiori és munkatársai szeptikus betegek és egészséges önkéntesek vörösvérsejtjeit vizsgálták. A vörösvérsejt deformabilitása szignifikánsan rosszabb volt a szeptikus betegek esetében különböző nyírófeszültségen vizsgálva. Az aggregációs index nőtt, a $t_{1/2}$ rövidült a szeptikus betegcsoportban. Az elongációs index nagyságát csak a szepszis és a hematológiai társbetegségek befolyásolták. Piagnerelli és munkacsoportja több kutatási eredményt is publikált, mely a szepszis vörösvérsejtre gyakorolt

mikroreológiai hatásaival foglalkozik. Kritikus állapotú, intenzív osztályon kezelt betegek esetében a vörösvérsejt membrán proteinek arányának megváltozását írta le egészséges önkéntesek vörösvérsejtjeihez képest, de nem talált különbséget a septicus és nem septicus betegek vörösvérsejt membrán szkeletális fehérje összetételében. Szintén Piagnerelli és munkacsoportja vizsgálta a membrán szialsav és glikoforin A tartalmát septicus betegek és egészséges önkéntesek bevonásával. A szialsav tartalmat nagy teljesítményű folyadék kromatográfiával, a glikoforin A tartalmat antiglikoforinnal határozták meg áramlási citometriával. Emellett értékelték a vörösvérsejt alakokat szferikális index alkalmazásával. A septicus vörösvérsejtek alakja inkább szferikus, mint biconkáv volt, a szferikális index szignifikánsan csökkent szepszisben. Kizárólag a septicus vörösvérsejteknek csökkent a szfericitás kapacitása hipoozmoláris környezetben. A septicus vörösvérsejtek membránjában szignifikánsan csökkent a szialsav tartalom, melynek hátterében az emelkedett neuraminidáz aktivitás állhat. Emellett a membrán glikoforin A tartalma magasabb volt.

Számos humán szepszis vizsgálat történt a vér hemoreológiai paramétereinek változása és a kór állapot súlyossága, kimenetele közötti kapcsolat feltárására. Donadello és munkacsoportja 2015-ben megjelent tanulmányában egy prospektív study keretében septicus és nem septicus betegek lézer-aszisztált optikai rotációs sejtanalizátorral mért vörösvérsejt reológiai paramétereit hasonlította össze az intenzív osztályos felvétel 1. és 3. napján. A vörösvérsejt deformabilitás kifejezésére nyíró feszültség alapú elongációs indexet használtak, mely mellett az aggregációs indexet is meghatározták. A vizsgált betegcsoportban a septicus betegek mortalitása 31% volt. A vörösvérsejt deformabilitás már az intenzív osztályos felvétel idején rosszabb volt a septicus betegek esetében, a vizsgálat ideje alatt a nem túlélő septicus betegek esetén ez tovább romlott. A nem septicus betegcsoportban ez nem volt megfigyelhető. Az aggregációs index értékei a septicus betegek esetében magasabbak voltak, de ennek prognosztikai értéke nem igazolódott. Az ellátási idővel párhuzamosan csökkenő deformabilitás egyértelműen a septicus betegek rossz prognózisát jelezte előre. Moutzouri és munkacsoportja is a vörösvérsejt deformabilitás prognosztikai jelentőségéről számolt be szepszisben egy 2007-ben megjelent tanulmányában. Nem csak a prognózis előrejelzésében, hanem a szepszis súlyosságának monitorozására is hasznos volt a klinikai gyakorlatban. Nozokomiális septicus betegeket válogattak be a study-ba a diagnózist követő 24 órán belül. A vörösvérsejt deformabilitás csökkenése egyértelmű volt a betegcsoportban, melynek mértéke a kór kép súlyosságát is kifejezte. A deformabilitás romlásának mértékét rigiditási index formájában adták meg. Az IR szignifikánsan magasabb volt mindegyik betegcsoportban, szepszis esetén 51%-kal, súlyos szepszis esetén 229%-kal, septicus sokk esetén 1285%-kal, akut respirációs distressz szindróma esetén 923%-kal volt magasabb az egészséges kontroll csoport IR értékeihez képest. A vörösvérsejt rigiditási index szoros korrelációt mutatott az egyszerűsített akut fiziológiai pontrendszerrel (SAPS II) és a becsült mortalitással is.

A leukociták nem csak a szepszis patofiziológiájában játszanak fontos szerepet, hanem jelentős hatással vannak a mikrocirkulációra is. A fehérvérsejtek marginációját erősen befolyásolja az eritrociták axiális migrációja. Jól ismert tény, hogy a vörösvérsejt aggregáció fokozza a fehérvérsejtek marginációját az endotél mentén. (Kirschenbaun és munkacsoportja szepszis során nem csak a vörösvérsejt deformabilitás csökkenését és a vörösvérsejt aggregáció növekedését figyelte meg, hanem fokozott neutrofil-trombocita interakciót és csökkent leukocita deformabilitást is. Szintén hasonló eredményre jutott Yodice és munkacsoportja, megnövekedett fehérvérsejt aggregációt és csökkent neutrofil sejt deformabilitást írtak le súlyos septicus és septicus sokkos betegek esetében. (46)

Természetesen mikoreológiai eltérések nem csak szepszishez asszociáltan fordulnak elő. Számos tanulmány közölt hemoreológiai eltéréseket májbetegségekkel összefüggésben. Alkoholos máj cirrózisos betegek esetében csökkent teljes vér viszkozitást és plazma viszkozitást írtak le, csak úgy mint alacsonyabb hematokrit és fibrinogén koncentrációt. Hepatitis B-s betegek esetében szignifikánsan magasabb teljes vér viszkozitásról és vörösvérsejt aggregációs indexről számoltak be egyes közlemények. Egyes szerzők véleménye szerint a diabetes mellitus során szövődményként észlelt rossz szöveti perfúzió elsődlegesen a betegség során kialakult csökkent vörösvérsejt deformabilitásnak köszönhető.

Saját vizsgálatunkban a szeptikus állat csoportban folyamatosan csökkenő vörösvérsejt deformabilitást találtunk a kísérleti periódus folyamán. Az osmoscan paraméterek esetében ez szintén észlelhető volt. Az osmoscan görbe sejt deformabilitáshoz és membrán stabilitáshoz tartozó része, ami megfelel a min EI és max EI közötti területnek az idetartozó ozmotikus értékekkel együtt mutatta a legmarkánsabb eltérést. A két pont közötti különbség egy fokozatosan romló tendenciát mutatott. Ez nem csak a csökkent deformabilitást, hanem valószínűleg a megváltozott ozmotikus mikrokörnyezet sejtkárosító hatását is tükrözheti.

A korábbi tanulmányoktól eltérően saját vizsgálatunkban csökkenő tendenciájú aggregációs paramétereket figyeltünk meg. A kapott értékek alapján az aggregációs folyamat sebessége és intenzitása is alacsonyabb lett az élő E. coli szuszpenzió infúziót követő hatodik órában, habár a vörösvérsejt deformabilitás romlott. Ennek az ellentmondásos eredménynek az lehet a magyarázata, hogy az általunk végzett vizsgálat párhuzamosan zajlott a fulmináns szepszis korai fázisában a szeptikus sokk kialakulásával. Emellett nem zárható ki a véráramba emelkedő koncentrációban közvetlenül bekerülő élő baktériumoknak hatása az aggregációra kifejtett hatása sem. Ezért teszteltük az élő E. coli szuszpenzió hatását normál vérmintán is. Két normál vérmintához élő E. coli szuszpenziót kevertünk a szeptikus sertések véráramába bejuttatott teljes baktérium koncentrációnak megfelelő dózisban. Ezt a sertések kalkulált teljes vértérfogata alapján határoztuk meg. Az in vitro vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy a vörösvérsejt deformabilitás és aggregáció az in vivo vizsgálatnak megfelelően változott, mely a két órás inkubációs periódus során továbbra is megfigyelhető volt. Fontos azonban megjegyezni, hogy az általunk használt E. coli törzs hemolizint tartalmazott, mely béta hemolízist vált ki. Az in vivo vizsgálat során a vizsgálati periódusban nem észleltünk változást a vörösvérsejt számban és az MCV-ben. Az in vitro vizsgálatban viszont mind a vörösvérsejt szám, mind az MCV csökkeni kezdett az élő baktériumszuszpenzió vérmintába keverése után. Nagyon jól ismert tény, hogy az E coli hemolizin károsítja a vörösvérsejt membránt azáltal, hogy gyűrű alakú heptaméter komplexekkel pórusokat képez a membránban. Ennek hatására a vörösvérsejtek az ozmózis miatt visszafordíthatatlanul megduzzadnak, és ez bizonyos idő után sejtlyishez vezet. A komplemeket jelenléte szintén szerepet játszik a vörösvérsejt károsodásban. Keshari és munkatársai által a C5 hasítás inhibitorának, egy makrociklikus peptidnek, a hatását vizsgálták pávián állatmodellen E. coli indukálta szepszis során. Megfigyelték, hogy a kontroll csoporttal összehasonlítva a C5 hasadás inhibitorral kezelt csoportban az első 24 óra során a vörösvérsej konzumpció és hematokrit csökkenése csak minimális volt. A kezelés felfüggesztése után az enyhe csökkenés folytatódott, de a hemolízis látható jelei nélkül. A vörösvérsejt károsodás okaként az endotoxinok közvetlen hatását is meg kell említeni. Pöschl és munkatársai Gram negatív kórokozó kiváltotta szepszis esetében, valamint egészséges önkéntesekből nyert vörösvérsejtek lipid A-val vagy lipopoliszahariddal történő inkubációja után vizsgálták a vörösvérsejt hydroxymyrist-sav tartalmát és a vörösvérsejt deformabilitást. A vörösvérsejt deformabilitás csökkent a Gram negatív szeptikus betegek esetében, valamint a mosott vörösvérsejtek lipid A-val és a teljes vér lipopoliszahariddal történő inkubálása után. A vörösvérsejt deformabilitás csökkenésének

mértéke a membrán hydroxymyrist-sav tartalmának emelkedésével szorosan összefüggött, ami arra utalhat, hogy az endotoxin kötődése a membránhoz közvetlenül a sejt mechanikai tulajdonságait befolyásolja. Todd és munkatársai megfigyelték, hogy szeptikus betegek intracelluláris kalcium-ion szintje megemelkedik. Reprodukálható volt az eredmény *E. coli* endotoxin és teljes vér inkubációja során. In vitro ugyanebben a vizsgálatban igazolták, hogy a megemelkedett intracelluláris Ca^{2+} szintet nem lehetett kiküszöbölni verapamil használatával, de gátolható volt ATP előkezeléssel. Ebből arra következtettek, hogy egy energiahányos állapot tehető feleőssé a megváltozott intracelluláris homeosztázisért. Ruef és munkacsoportja egészséges önkéntesek vörösvérsejtjeit inkubált *E. coli* Lipid A endotoxinnal. Azt tapasztalták, hogy ennek hatására megnövekedett a citoszol Ca^{2+} koncentrációja, mellyel párhuzamosan romlott a vörösvérsejtek deformabilitása. A Lipid A hatás felfüggeszthető volt verapamil és a protein kináz inhibitor staurosporine-nal.

A nitrogén-monoxid szerepét szintén régóta vizsgálják a szeptikus hemorreológiai eltérések hátterében. A szepszis során létrejövő hemoreológiai változások hátterében állhat a csökkent vörösvérsejt és leukocita deformabilitás és vörösvérsejt aggregáció, a koagulációs mechanizmusok zavara, valamint az indukálható nitrogén-monoxid szintetáz által termelt nitrogén-monoxid okozta hipotenzió. A NO-nak nagy valószínűséggel multifunkcionális szerepe lehet a mikrovaszkulatura károsodásában, megváltoztatja a vörösvérsejt deformabilitást, de emellett modulálja a szignál transzdukciós útvonalakat is a vörösvérsejtben. Bateman és munkacsoportja patkányokon végzett kísérletük során cecalis ligáció és punkció modellel hozott létre patkányokban peritonitist és akut normotenzív szepszist. Ennek során demonstrálták, hogy a vázizomzatban szignifikánsan növekedett a „stopped flow capillary” denzitás 3-6 óra között a fekulens peritonitisz indukcióját követően. Ugyanebben a periódusban megnövekedett a szisztémás NO koncentráció, mely felhalmozódott a vörösvérsejtekben. Emellett csökkent a vörösvérsejt deformabilitás, és kialakult egy csökkent deformabilitású vörösvérsejt populáció. Egy in vivo iNOS gátló, az aminoguanidin segítségével gátolták az NO termelést. Megfigyelték, hogy ennek hatására a NO koncentráció az alapértéken maradt, és megakadályozta mind a vörösvérsejt deformabilitás, mind a funkcionális kapilláris denzitás csökkenést. Eredményeik azt sugallják, hogy a szepszis során kialakuló funkcionális kapilláris denzitás csökkenés a NO mediálta eritrocita deformabilitás károsodásának következménye. Az általunk megfigyelt vörösvérsejt aggregáció csökkenés ellentmondásos a világirodalmi adatokhoz képest. A vörösvérsejt aggregáció egy fő meghatározó faktora a vér viszkozitásának, leginkább alacsony nyírófeszültségen. A vörösvérsejt aggregáció által leginkább érintett a posztkapilláris venulák területe, ahol az érkaliber már elég nagy, a nyíró feszültség pedig elég alacsony az aggregáció kialakulásához. A kapillárisok területén az áramlás meghatározóbb faktora a vörösvérsejt deformabilitása. Különböző állatkísérletek bizonyították, hogy a vörösvérsejt aggregáció szepszis és szeptikus sokk során gátolja a véráramlást a mikrocirkuláció területén. (64) Az általunk vizsgált fulmináns szepszis modell esetében a legtöbb korábbi vizsgálattal ellentétben csökkenő eritrocita aggregációt figyeltünk meg. A gyulladásos megbetegedések, így a szepszis is, akut fázis reakcióval jellemezhető, mely során nagy mennyiségű C reaktív protein, fibrinogén, immunglobulin és alfa-2 makroglobulin termelődik. A fibrinogén és egyéb nagy molekulású proteinek növekvő koncentrációja a vörösvérsejt aggregáció fokozódásához vezetnek. Az általunk vizsgált fulmináns szepszis modell esetében a legtöbb korábbi vizsgálattal ellentétben csökkenő eritrocita aggregációt figyeltünk meg. Ugyanezen kísérlet alvizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a bőr mikrocirkuláció romlása egy nagyon korai fázisban, már a hemodinamikai paraméterek változása előtt bekövetkezett. Ennek magyarázata lehet a fibrinogén konzumpció, a megnövekedett NO koncentráció hatása, a baktérium endotoxinok direkt hatása a vörösvérsejtekre, a felszíni glikokalix szerekezetének

megváltozása. Ez az eredmény azt sugallhatja, hogy a fulmináns szepszis esetében a reológiai változások eltérhetnek a lassan, fokozatosan kialakuló szepszis folyamat során kialakuló reológiai változásoktól.

Összefoglalás

A szepszis és szeptikus sokk napjainkban is magas mortalitással és nagy kórházi költséggel járó szindróma. Patomechanizmusa továbbra sem tisztázott. Bár a klinikumban számos új terápia került bevezetésre, a morbiditási és mortalitási mutatók továbbra sem javultak jelentősen. Az összetett patomechanizmus, a heterogén betegpopuláció, a pontos diagnosztikus markerek hiánya, valamint az etikai megszorítások nehézségeket állítanak a szepszis kutatás útjába. Emiatt egy tökéletes szeptikus állatmodell kifejlesztése mérföldkő lenne a szepszis patomechanizmusának és terápiájának kutatásában. A jelenleg alkalmazott állatmodellek számos hiányossággal bírnak, nem standardizáltak, emiatt a kutatási eredmények sokszor félrevezetőek lehetnek.

Munkánk egy összetett tudományos kísérlet részét képezte, melynek célja *E. coli* indukálta szepszis során a hemodinamikai, hemosztazeológiai, hemoreológiai és cerebrovaszkuláris komponensek változásának vizsgálata volt sertés modellen. Elsődlegesen arra a kérdésre kerestük a választ, hogy az intravénásan adott *E. coli* szuszpenzió indukálta korai fulmináns szepszis során milyen szisztémás hemodinamikai változások figyelhetőek meg. A fulmináns szepszis modellezéséhez élő *E. coli* szuszpenziót alkalmaztunk intravénásan, folyamatosan emelve a beadott mennyiséget. Az első 30 percben 2 ml fiziológiás sóban szuszpendált baktérium kultúrát, majd a következő 30 percben 4 ml baktérium kultúrát adtunk. Ezt követően 32 ml baktérium kultúrát adtunk 120 perc alatt. Így $9,5 \times 10^6$ összdózisú *E. coli*-t adtunk be 180 perc alatt. A hemodinamikai paraméterek mérése PiCCO monitor segítségével történt. Kísérletünk során a szeptikus sokk kialakulása folyamatában az artériás középnyomás és a cardiac index csökkenését figyeltük meg, emelkedő tendenciájú pulzusszámmal. Emellett szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a stroke volumen variáció értékében a szeptikus állatok esetében. A vizsgálat során az anesztézia gyógyszerein kívül az állatok egyéb gyógyszeres terápiában nem részesültek (intravénás folyadék terápiában sem), így a szepszis során bekövetkező hemodinamikai változások természetes lefolyását tudtuk megfigyelni. Az általunk létrehozott fulmináns szeptikus sokk során egy fázisú hipodinám keringési paraméterek voltak megfigyelhetőek. Feltételezéseink alapján az *E. coli* által kiváltott gyulladásos válasz közvetlenül a miokardium kontraktilitását befolyásolja. Ez a cardiac index és a globális ejekciós frakció csökkenéséhez vezet a folyamat során, mely a hipodinám keringés vezető oka lehet. A hipodinám keringési válasz hatására kísérletünk során megfigyelhető volt egy azonnali mikrocirkulációs károsodás is, már a baktérium infúzió korai szakaszában. Ez alapján elmondható, hogy az intravénás *E. coli* infúzió egy fulmináns hipodinám szepszist váltott ki sertés modellünkben, mely szöveti hipoperfúzióhoz és hipoxiához vezetett.

Vizsgálatuk további célja a hemoreológiai változások vizsgálata volt fulmináns szepszis során.

A szeptikus állat csoportban folyamatosan csökkenő vörösvérsejt deformabilitás volt megfigyelhető. Az osmoscan paraméterek vizsgálata során az osmoscan görbe sejt deformabilitáshoz és membrán stabilitáshoz tartozó része, ami megfelel a min EI és max EI közötti területnek az idetartozó ozmotikus értékekkel együtt, mutatta a legmarkánsabb eltérést. A két pont közötti különbség egy fokozatosan romló tendenciát mutatott, mely valószínűleg a megváltozott ozmotikus mikrokörnyezet sejtkárosító hatását is jelzi. A csökkenő tendenciájú aggregációs paraméterek ellentmondanak a korábbi tanulmányok megfigyelésének. Az aggregációs folyamat sebessége és intenzitása is alacsonyabb lett az élő

E. coli szuszpenzió infúziót követő hatodik órában, habár a vörösvérsejt deformabilitás romlott. Ennek az ellentmondásos eredménynek az lehet a magyarázata, hogy az általunk végzett vizsgálat párhuzamosan zajlott a fulmináns szepszis korai fázisában a szeptikus sokk kialakulásával. Nem tudtuk kizárni a véráramba kerülő élő baktériumok aggregációra kifejtett hatását, emiatt az élő E. coli szuszpenziót normál vérmintákkal is teszteltük. Az in vitro vizsgálat során a vörösvérsejt deformabilitás és aggregáció az in vivo vizsgálatnak megfelelően változott, mely a két órás inkubációs periódus során továbbra is megfigyelhető volt. Az általunk alkalmazott E. coli szepszis modellt véleményünk szerint jól alkalmazható a hipodinám szepszis hemodinamikai és hemorhológiai hatásainak vizsgálatára.

Saját eredmények, önálló megállapítások

1. A nemzetközi irodalomban az első között tanulmányoztuk E. coli indukálta fulmináns szepszisben a kórfolyamat spontán, kezelés nélküli lezajlása során jellemző hemodinamikai és hemoreológiai paramétereket.
2. Megállapítottuk, hogy a folyamat során a cardiac index csökken, a szisztémás vaszkuláris rezisztencia és az intravaszkuláris tüdővíz index emelkedik, a stroke volumen variáció csökken. Ennek alapján a kísérletes összeállításunk a hipodinám szeptikus folyamatok modellezésére alkalmas.
3. Megállapítottuk, hogy a baktériumok beadását követően a fulmináns szepszis modellben az erithrocyták deformabilitása és aggregációja a szepszis első óráiban csökkent. A direkt bakteriális hatást in vitro tesztekkel is meg lehetett erősíteni.
4. Tekintettel arra, hogy vizsgálatainkban a szepszis spontán lefolyását vizsgáltuk, mindenféle terápiás beavatkozás nélkül, vizsgálataink alapját képezhetik a hipodinám szepszis tanulmányozását célzó további experimentális vizsgálatoknak, és különösen azoknak, amelyek terápiás beavatkozásokat kívánnak tesztelni.

Köszönetnyilvánítások

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Fülesdi Bélának, támogatásáért és munkámhoz nyújtott segítségéért.

Hálás köszönettel tartozom Prof. Dr. Németh Norbertnek, aki végig segítette munkámat. Tapasztalata, ötletei és tudományos munkája hozzájárult a közlemények megszületéséhez.

Köszönettel tartozom Dr. Hajdu Endrének a vizsgálatokban nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért.

Külön köszönetemet fejezem ki a Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi dolgozójának, hogy lehetővé tették és segítették a tanulmányhoz szükséges vizsgálatok végrehajtását.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak, barátaimnak és kollégáimnak a türelmüket, a támogatásukat, és a sok biztatást, amit kaptam tőlük.



Nyilvántartási szám: DEENK/319/2021.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Berhész Mariann

Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Berhész, M.**, Németh, N., Pető, K., Deák, Á., Hajdu, E., Molnár, Á., Árkosy, P., Szabó, J., Fülesdi, B.: Hemodynamic consequences of intravenously given E. coli suspension: observations in a fulminant sepsis model in pigs, a descriptive case-control study.
Eur. J. Med. Res. 24 (1), 1-6, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s40001-019-0372-y>
IF: 1.826
2. Németh, N., **Berhész, M.**, Kiss, F., Hajdu, E., Deák, Á., Molnár, Á., Szabó, J., Fülesdi, B.: Early hemorheological changes in a porcine model of intravenously given E. coli induced fulminant sepsis.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 61 (3), 479-496, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-141914>
IF: 1.679

További közlemények

3. László, I., Molnár, C., Koszta, G., Végh, T., Fábán, Á., **Berhész, M.**, Véghné Juhász, M., Fülesdi, B.: A COVID-19-betegek kórházon belüli újraélesztésének speciális szempontjai.
Orv. hetil. 161 (17), 710-712, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31816>
IF: 0.497 (2019)
4. Végh, T., László, I., Véghné Juhász, M., **Berhész, M.**, Fábán, Á., Koszta, G., Molnár, C., Fülesdi, B.: A COVID-19-fertőzött betegek anesztéziájának és perioperatív ellátásának gyakorlati szempontjai.
Orv. hetil. 161 (17), 692-695, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31809>
IF: 0.497 (2019)





5. **Berhés, M.**, Fábián,  ., László, I., V gh, T., Molnár, C., Fülesdi, B., Koszta, G.: Emelt szintű szervtámogató és életfenntartó kezelések kritikus állapotú COVID-19-fertőzött betegek n.
Orv. hetil. 161 (17), 704-709, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31813>
IF: 0.497 (2019)
6. F bi n,  ., László, I., Véghné Juhász, M., **Berh s, M.**, V gh, T., Koszta, G., Molnár, C., Fülesdi, B.: Farmakoter pi s lehet s gek SARS-CoV-2-fert z s/COVID-19-betegs g esetén.
Orv. hetil. 161 (17), 685-688, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31812>
IF: 0.497 (2019)
7. V gh, T., László, I., Véghné Juhász, M., **Berh s, M.**, F bi n,  ., Koszta, G., Molnár, C., Fülesdi, B.: Kritikus  llapot , l gz st mogat st ig nyl  COVID-19-fert z tt beteg  llat s nak gyakorlati szempontjai.
Orv. hetil. 161 (17), 678-684, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31810>
IF: 0.497 (2019)
8. László, I., Molnár, C., Koszta, G., V gh, T., F bi n,  ., **Berh s, M.**, Véghné Juhász, M., Fülesdi, B.: L g tbiztos t s koronavirus-fert z tt betegek n.
Orv. hetil. 161 (17), 696-703, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/650.2020.31811>
IF: 0.497 (2019)
9. Szil gyi, B., Fejes, Z., P liska, S., P csi, M., Czimmerer, Z., Patsalos, A., Fenyvesi, F., Ruszny k,  ., Nagy, G., Kerekes, G., **Berh s, M.**, Sz cs, I., Kunapuli, S. P., Kappelmayer, J., Nagy, B. J.: Reduced miR-26b Expression in Megakaryocytes and Platelets Contributes to Elevated Level of Platelet Activation Status in Sepsis.
Int. J. Mol. Sci. 21 (3), 1-22, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21030866>
IF: 4.556 (2019)
10. Balog, K., Csiszk , A., Krasny nszky, N., Farkas, M., **Berh s, M.**, László, I., Palatka, K., Damjanovich, L., S py, P., Szentkereszty, Z.: Kiterjedt, demark lt pancreas necrosis seb si kezelése transg stricus necrectomi val = Open transgastric necrosectomy for extended walled-off pancreas necrosis.
Magyar Seb. 72 (1), 8-12, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/1046.72.2019.1.2>
11. Csiszk , A., Balog, K., God , Z., Juhász, G., Pet , K., De k,  ., **Berh s, M.**, Németh, N., Bodn r, Z., Szentkereszty, Z.: Pressure Distribution during Negative Pressure Wound Therapy of Experimental Abdominal Compartment Syndrome in a Porcine Model.
Sensors. 18 (3), 1-11, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/s18030897>
IF: 3.031





12. Molnár, L., Németh, N., **Berhész, M.**, Hajdu, E., Papp, L., Molnár, Á., Szabó, J., Deák, Á., Fülesdi, B.: Assessment of cerebral circulation in a porcine model of intravenously given *E. coli* induced fulminant sepsis.
BMC Anesthesiol. 17 (98), 1-9, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/s12871-017-0389-3>
IF: 1.788
13. Tóth, J., Bekéné Debreceni, I., Deák, Á., Pető, K., **Berhész, M.**, Hajdu, E., Szabó, J., Németh, N., Fülesdi, B., Kappelmayer, J.: Characteristics of thrombin generation in a fulminant in a porcine sepsis model.
Thromb. Res. 158, 25-34, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2017.07.030>
IF: 2.779
14. Tóth, J., Bekéné Debreceni, I., **Berhész, M.**, Hajdu, E., Deák, Á., Pető, K., Szabó, J., Németh, N., Fülesdi, B., Kappelmayer, J.: Red blood cell and platelet parameters are sepsis predictors in an *Escherichia coli* induced lethal porcine model.
Clin. Hemorheol. Microcirc. 66 (3), 249-259, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3233/CH-170271>
IF: 1.914
15. Nemes, R., **Berhész, M.**, Sárkány, P.: Carotis-endarterektómia miatt kialakuló stroke.
In: Anesztéziás szövődmények megelőzése és kezelése. Szerk.: Bogár L, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 373-379, 2016.
16. Nemes, B. Á., Kanyári, Z., Zádori, G., Zsom, L., **Berhész, M.**, Hamar, M., Kóbor, K., Péter, A.: Horseshoe kidney transplantation.
Inter. Med. Appl. Science. 7 (2), 85-89, 2015.
17. Kiss, F., Molnár, L., Hajdu, E., Deák, Á., Molnár, Á., **Berhész, M.**, Szabó, J., Németh, N., Fülesdi, B.: Skin microcirculatory changes reflect early the circulatory deterioration in a fulminant sepsis model in the pig.
Acta Cir. Bras. 30 (7), 470-477, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-865020150070000004>
IF: 0.58





18. Nemes, R., Molnár, L., Fülepi, Z., Fekete, K., **Berhész, M.**, Fülesdi, B.: Critical illness associated neuromuscular disorders: keep them in mind.
Ideggyógy. Szle. 67 (1-2), 1-12, 2014.
IF: 0.386

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 21,521

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
3,505**

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, 2021.05.19.

